

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



WIPO | PCT



(10) Numéro de publication internationale
WO 2014/076263 A2

(43) Date de la publication internationale
22 mai 2014 (22.05.2014)

(51) Classification internationale des brevets :
C05F 11/08 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2013/073999

(22) Date de dépôt international :
15 novembre 2013 (15.11.2013)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
12/60889 15 novembre 2012 (15.11.2012) FR

(71) Déposant : AGRAUXINE [FR/FR]; 2 rue Henri Becquerel, F-49070 Beaucouzé (FR).

(72) Inventeurs : COUTANT, Antoine; Agrauxine, 2 rue Henri Becquerel, F-49070 Beaucouzé (FR). REVEILAUD, Maud-Cécile; Agrauxine, 2 rue Henri Becquerel, F-49070 Beaucouzé (FR). BLAL, Bachar; Agrauxine, 2 rue Henri Becquerel, F-49070 Beaucouzé (FR).

(74) Mandataire : FLESSELLES, Bruno; BF IP, 4 rue Ribera, F-75016 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasiatique (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport (règle 48.2.g))



WO 2014/076263 A2

(54) Title : COMPOSITION FOR DIP TREATMENT OF PLANT ROOTS

(54) Titre : COMPOSITION POUR PRALINAGE DE RACINES DE PLANTES

(57) Abstract : The invention relates to a composition for dip treatment of plant roots comprising a substance of interest and a branched polysaccharide, in particular xanthan gum.

(57) Abrégé : L'invention se rapporte à une composition pour pralinage de racines de plantes comprenant une substance d'intérêt et un polysaccharide ramifié, en particulier la gomme xanthane.

COMPOSITION POUR PRALINAGE DE RACINES DE PLANTES

L'invention se rapporte au domaine des fertilisants, et notamment des produits destinés à améliorer, stimuler la nutrition, le développement et la
5 croissance des plantes.

Le pralinage consiste à enduire les racines d'un rosier, d'un arbre ou d'un arbuste, ou de toute autre plante, d'un mélange qui aidera à la reprise lors de la plantation. Ainsi, le pralinage favorise la cicatrisation des parties coupées et aide
10 rosiers et arbustes et autres plantes à former de nouvelles racines et radicelles plus rapidement.

On peut préparer soit même son pralin, en utilisant une mixture liquide traditionnellement constituée de terre de jardin, d'eau et de bouse de vache, pour enrober les racines de la plante.

15 Toutefois, les pralins commerciaux peuvent contenir d'autres composés destinés à favoriser une reprise encore plus rapide. On peut ainsi ajouter des hormones de bouturage, mais également des champignons mycorrhiziens.

Une mycorhize est le résultat de l'association symbiotique entre des
20 champignons et les racines des plantes. Il s'agit d'une symbiose entre la plante et le champignon. Les filaments externes du mycélium se combinent aux racines des plantes et constituent ainsi un véritable prolongement du système racinaire qui va explorer le sol dans la périphérie de la racine. Le réseau mycélien dans le sol peut ainsi atteindre plusieurs millions de km/hectare, multipliant la zone de prospection
25 des racines par 20 à 25. Le mycélium n'est pas cloisonné, fluidifiant ainsi les transferts d'eau et éléments minéraux.

Cette association est généralement de type symbiotique, le champignon contribuant à recycler la nécromasse de son hôte, au profit de leurs deux
30 descendances.

Les endomycorhizes sont la forme la plus répandue. On peut notamment citer les endomycorhizes à arbuscules ou arbusculaires (AM). Ainsi, les champignons mycorrhiziens arbusculaires colonisent environ 80 % des plantes vasculaires terrestres, c'est-à-dire plus de 400 000 espèces, bien qu'il n'existe que
35 moins de 200 espèces de champignons endomycorhiziens. Ainsi, étant peu

spécifique dans leur relation de symbiose, chaque espèce possède un grand potentiel d'adaptabilité et une large diversité génétique.

D'un point de vue cellulaire, les endomycorhizes arbusculaires traversent la paroi cellulosique mais ne pénètrent pas la membrane plasmique de la cellule végétale, se contentant de provoquer une invagination de la membrane de celle-ci. Cela a pour effet d'accroître la surface de contact entre l'hyphe et la cellule de la plante et ainsi faciliter l'échange de métabolites entre les deux partenaires.

Les endomycorhizes arbusculaires sont très largement des champignons de la division des Gloméromycètes ayant perdu la reproduction sexuée. Les hyphes s'étendent dans le parenchyme cortical de la racine, formant des vésicules contenant des réserves, et des structures ramifiées, les arbuscules. Ils se reproduisent donc uniquement asexuellement. Cependant les hyphes d'individus différents peuvent fusionner, ce qui rend possible un échange génétique et une forme de parasexualité.

15

La mycorhization des plantes par les champignons mycorhiziens permet d'améliorer plusieurs processus physiologiques des plantes notamment, la nutrition minérale et hydrique, la régulation hormonale, la stimulation des mécanismes de défenses. Ces effets aboutissent à une plus grande résistance des plantes au stress du rempotage ou de la plantation permettant ainsi d'obtenir un meilleur taux de reprise des plantes lors de cette étape cruciale dans l'implantation de certaines cultures (viticulture, arboriculture, cultures ornementales...).

Parmi les champignons endomycorhiziens, on peut citer le genre *Glomus* sp et plus précisément la souche *Glomus spp* codée LPA Val1, principe actif du produit SolRize® développé par la Demanderesse, et ayant obtenu une homologation en France (n° 1020004). Solrize® permet de mycorhizer les plantes et a pour effet :

- ✓ d'optimiser leur reprise ;
- ✓ d'homogénéiser la plantation ;
- ✓ d'améliorer leur résistance aux stress (abiotiques et biotiques) ;
- ✓ de favoriser leur enracinement ;
- ✓ d'améliorer leur nutrition ;
- ✓ de diminuer l'apport d'intrants.

30

Le produit Solrize® se présente sous forme de granulé et contient le champignon endomycorhizien *Glomus sp* à une concentration minimale de 10

35

propagules par gramme. Le produit commercial Solrize®, peut être utilisé en pralin. Dans ce cas il est commercialisé sous le nom Solrize® Pralin par la Demanderesse. Un sac de Solrize® Pralin contient 3,5kg de Solrize® et 1 sachet de 1kg de pralin. Le pralin est principalement constitué d'argile et d'un agent

5 épaississant. Le produit fini est obtenu en ajoutant de l'eau à ces deux éléments, et en mélangeant le tout de façon afin d'obtenir une pâte homogène La formulation de Solrize® Pralin est bien adaptée pour mycorhizer (donc traiter) des plants à racines nues, juste au moment de leur plantation. Cela concerne notamment les plants de vigne, plants d'arbres fruitier, les arbustes d'ornements

10 etc... La formulation de la préparation Solrize® Pralin est particulièrement adaptée pour le pralinage de plants que l'on manipule peu, voire pas du tout, avant ou au moment de la plantation dans le trou. En effet, le Solrize® Pralin permet une bonne adhérence du produit sur les racines des plants mais, l'argile utilisée dans sa formulation, sèche assez rapidement. Ce séchage entraîne une perte d'adhérence

15 du produit aux racines du plant ayant pour conséquence une perte de substance active appliquée aux racines, notamment si l'on manipule trop les plants ou si le délai entre pralinage et plantation est important. Ce risque de perte de substance active sur les racines peut donc entraîner une variabilité de la dose de produit Solrize par plant, voire une perte de l'expression des effets revendiqués du produit

20 Solrize dû notamment à des doses de produit par plant insuffisantes.

Le Solrize® Pralin permet d'avoir d'excellents résultats pour la reprise des plantes. Cependant, dans un souci permanent d'optimisation du temps de travail, de plus en plus de plantations se font par les pépiniéristes fournisseurs des plants. Dans ce cas, les plantations sont mécanisées, et les plants sont parfois préparés la

25 veille et regroupés dans des conteneurs. Ce procédé permet un rendement à l'heure (nombre de plant plantés/heure) plus élevé mais la mécanisation entraîne une manipulation accrue des plants. Face à cette mécanisation de la plantation, la Préparation Solrize® Pralin n'est pas nécessairement la plus adaptée.

La Demanderesse a donc recherché à développer une nouvelle formulation

30 de pralinage, qui soit adapté à ce nouveau contexte de plantation, c'est-à-dire qui permette la préparation de plants « pralinés » plusieurs heures avant la plantation, et qui permette une manipulation des plantes ainsi pralinés.

US 2007/163173 décrit un polymère d'amidon greffé et réticulé, pour

35 réaliser un gel pour tremper les racines de plantes. L'amidon greffé et réticulé ne peut probablement pas être qualifié de polyoside ramifié.

WO 2004/005219 celui-ci décrit une composition pour l'inoculation de rhizobium lors de la germination et la croissance de plantes. Toutefois, cette composition ne contient pas de polyoside ramifié et est destinée à enrober les semences (voir page 12, dernier paragraphe) alors que la composition selon
5 l'invention est destinée au pralinage, c'est-à-dire à enrober les racines.

US 5,344,471 décrit des compositions de pralinage pour apporter un microorganisme mycorhizien aux racines de plantes. De nombreuses compositions putatives (méthylcellulose, carboxyméthylcellulose, l'hydroxypropylméthylcellulose...) sont listées ainsi que de nombreux microorganismes.

10 US 4,975,105 D4 divulgue une composition pour le pralinage des plantes comprenant un polymère super absorbant tel que de l'amidon réticulé et un champignon mycorhizien.

US 6,258,749 divulgue formulation pouvant être utilisée pour le pralinage des plantes comprenant un ou plusieurs polyacylglucosides et une substance
15 d'intérêt agronomique telle que des nutriments (fer, manganèse).

Aucun de ces documents ne décrit ni ne suggère le problème technique que cherche à résoudre la Demanderesse dans le cadre de la présente invention. c'est-à-dire la possibilité de préparer des compositions de pralinage bien avant l'utilisation et/ou de préparer des plantes pralinées et les conserver plusieurs
20 heures ou plusieurs jours avant plantation. Par ailleurs, les compositions sont préparées par solubilisation d'un polymère dans un système aqueux, puis ajout de l'agent d'intérêt (endomycorhize), ce qui nécessite deux étapes d'intervention et de mélange (le polymère au système liquide puis le système polymérique avec l'agent d'intérêt).

25

Dans un premier aspect, l'invention se rapporte à une composition pour pralinage / enrobage de racines comprenant un polyoside ramifié, ainsi qu'une substance d'intérêt que l'on souhaite apporter à la plante. Un autre objet de l'invention est l'utilisation d'un polyoside ramifié pour la préparation d'une
30 composition destinée à recevoir un principe actif ou une substance d'intérêt et à être utilisée pour le pralinage / enrobage des racines de plantes. Ledit principe actif peut être tout microorganisme ou toute autre substance destinée à être apportée à une plante que l'on souhaite planter, afin notamment d'améliorer la reprise de la croissance, de permettre de lutter contre des pathogènes ou maladies, ou
35 d'améliorer la production de biomasse des plantes. Il peut aussi s'agir d'une combinaison de principes actifs.

Cette composition est également appelée Mycogel®.

Dans un mode de réalisation particulier, ladite composition se présente sous la forme d'un gel, ce qui permet notamment une bonne adhésion aux racines de plantes.

5 Une méthode d'apport d'une substance d'intérêt aux racines d'une plante, comprenant les étapes de (i) intégrer ladite substance d'intérêt dans une composition comprenant un polyside ramifié afin d'obtenir une composition de pralinage (ou préparer une composition de pralinage contenant ladite substance d'intérêt et un polyside ramifié) et (ii) appliquer cette composition de pralinage aux
10 racines de ladite plante (notamment par trempage des racine dans ladite composition de pralinage), est également un objet de l'invention. L'application de cette composition de pralinage aux racines de la plante pourra donc mener à l'enrobage desdites racines, permettant ainsi l'apport de la substance d'intérêt à la plante.

15 Une substance d'intérêt est une substance qui est utilisée dans le domaine agronomique pour son application sur des plantes ou végétaux, notamment afin d'améliorer la santé, la croissance, et/ou le développement de biomasse de ces plantes ou végétaux.

Ladite substance d'intérêt (principe actif) est notamment choisie parmi des
20 microorganismes en particulier fongiques (champignons endomycorhizien ou exomycorhizien, *hyphomycète*, *ascomycètes dont Trichoderma spp*, *Actinomycète*, *Deuteromycetes*), des bactéries (notamment *Bacillus et Lactobacillus spp*, *Paenibacillus spp*, *Azospirillum spp*, *Pseudomonas spp*,) ou bien des substances naturelles de type oligosaccharides, peptides, glycolipides, extraits de plantes ou
25 d'algues, huiles essentielles.

L'invention se rapporte également à une composition de granulométrie inférieure ou égale à 5mm, qui comprend :

- des particules de polyside ramifié, d'un diamètre supérieur à 70
30 microns, de préférence supérieur à 100 microns, de façon plus préférée supérieur à 150 microns, et inférieur à 250 microns, de façon plus préférée inférieur à 200 microns
- un principe actif d'intérêt se présentant sous forme « sèche » (telle qu'un microorganisme ou substance naturelle séché ou lyophilisé, ou
35 des spores ou propagules pour les microorganismes fongiques)

- éventuellement des particules d'une matrice neutre (telle que de l'argile) stabilisant le principe actif.

De préférence, cette composition présente une A_w (activité d'eau) inférieure ou égale à 0,95. Cette composition est donc solide (par opposition à une composition liquide, en suspension dans un liquide, pâteuse ou gélifiée), et est
5 préférentiellement particulaire. La taille des particules dans cette composition est variable selon les composants. Ainsi, la spores de champignons sont généralement plus petites que les particules du polyoside ramifié, qui sont elles-mêmes plus petites que les particules de matrice neutre. En revanche, on
10 recherche une certaine homogénéité pour la taille de chacun des composants.

Normalement, l'activité de l'eau est mesurée sur de petits échantillons enfermés hermétiquement dans un compartiment de mesure muni d'un élément sensible d'humidité. Lors de la mesure successive de plusieurs échantillons, l'élément sensible traverse un cycle d'humidité complet à chaque mesure. Cette
15 opération ne doit ni influencer l'exactitude de la mesure, ni provoquer une hystérésis du signal de sortie. Enfin, les additifs volatiles ne doivent pas influencer l'élément sensible. Les éléments sensibles d'humidité Hygromer® et Hygrolyt® de Rotronic (Suisse), ou LabSwift-aw® de Novasina (Suisse) répondent à ces critères.

20 Cette mesure de l'activité de l'eau est donc commune et bien connue dans l'art.

Cette composition permet d'obtenir la composition de pralinage selon l'invention par ajout d'une quantité adaptée d'eau.

25 En particulier, cette composition contient entre 6 et 15 g de polyoside ramifié si l'on veut ajouter un litre d'eau.

La quantité de principe actif est déterminée en fonction de la nature du principe actif. Pour un champignon endomycorhizien, on utilise entre 3000 et 4000 propagules pour 1 litre d'eau. Pour un Trichoderma, on utilise entre 0.05 et 0.2 g/L
30 de spores, de préférence entre 0.08 et 0.12 g/L (10^8 à 10^9 CFUs par gramme).

De préférence, dans ce mode de réalisation, le polyoside ramifié est la gomme xanthane.

De préférence, le principe actif est un champignon endomycorhizien, tel que listé ci-dessous, notamment du genre *Glomus* sp, appartenant au groupe des
35 glomérormycètes. On stabilise préférentiellement les propagules avec de l'argile ou tout autre support neutre.

Dans un autre mode de réalisation, le principe actif est un champignon du genre *Trichoderma*.

Dans un autre mode de réalisation, le principe actif est un mélange de *Trichoderma* et de *Glomus*.

5

L'invention se rapporte en particulier à l'utilisation d'un polyside ramifié, et en particulier de la gomme xanthane pour la préparation d'une composition contenant également un champignon endomycorhizien (ou une autre substance d'intérêt), et destinée au pralinage/enrobage racinaire. La composition ainsi
10 obtenue est, soit la composition particulière, soit la composition directement utilisable pour pralinage (composition particulière à laquelle on a ajouté la quantité d'eau nécessaire). Les méthodes de préparation d'une composition, comprenant le mélange d'un polyside ramifié, et en particulier de la gomme xanthane et d'une substance d'intérêt (en particulier un champignon endomycorhizien), avec ou sans
15 ajout ultérieur d'eau, sont également objet de l'invention.

L'invention se rapporte ainsi à l'utilisation d'un polyside ramifié pour la préparation d'une composition destinée à apporter une substance d'intérêt aux racines d'une plante par pralinage. Dans un mode de réalisation particulier, ladite composition a été préparée quelques jours (la veille, 2 ou 3 jours, voire jusqu'à 7
20 jours ou un mois) avant application sur la plante.

D'une façon générale, on souhaite que la composition destinée au pralinage puisse permettre une bonne dispersion de la substance d'intérêt, et que l'on puisse imprégner les racines aisément (notamment par trempage, ce qui
25 signifie que l'on peut rendre la composition liquide, notamment en la travaillant mécaniquement) et que cette composition persiste (se solidifie) sur les racines de la plante cible après application sur celles-ci. Il s'agit donc préférentiellement d'une composition gélifiée à température ambiante, mais qui se liquéfie lors qu'elle est travaillée. Ceci permet ainsi la conservation et la manipulation des plantes après
30 application de la composition sur les racines.

L'utilisation d'un polyside ramifié (et notamment de xanthane) permet ainsi d'obtenir un gel qui se liquéfie quand il est travaillé (par cisaillement) et dans lequel le champignon (ou tout autre substance d'intérêt, formulée) est préalablement mélangé (dans le gel) de façon homogène, pour ensuite tremper les plants à
35 racines nues par botte (de 25 ou 50 plants) directement dans un grand bac et cela depuis le hangar avant plantation. Ce gel durcit après trempage des plants pour

une meilleure fixation et limitation des pertes à la manipulation (transports...). Il est préféré que l'efficacité de mycorhization (ou de la substance d'intérêt) doit être maintenue, voire accentuée. Enfin, cette composition « gélose à base de polyside ramifié » présente une aptitude au vieillissement et à la conservation pour une
5 utilisation étalée sur 2 à 3 jours. Ce polyside ramifié a ainsi des propriétés gélifiantes préférentiellement quand il est mis en contact d'eau.

L'invention se rapporte ainsi à une composition pour pralinage comprenant un champignon endomycorhizien (ou une autre substance d'intérêt) et un
10 polyside ramifié. Cette composition se présente préférentiellement sous forme d'un gel dont la viscosité diminue lorsqu'on le mélange. Ainsi, la viscosité du gel est diminuée sous l'effet de forces de cisaillement.

L'invention se rapporte également à l'utilisation d'un champignon endomycorhizien (ou d'une autre substance d'intérêt) et d'un polyside ramifié
15 pour la préparation d'une composition destinée au pralinage des racines d'une plante.

La Demanderesse a en effet montré que l'on peut utiliser un polyside ramifié pour la préparation d'une composition destinée à apporter un champignon endomycorhizien (ou toute autre substance d'intérêt) à une plante, en particulier à
20 ses racines. La préparation de cette composition (gel) peut être réalisée le jour même ou bien quelques jours (la veille, 2, 3, voire jusqu'à 7 jours) avant la date d'utilisation (application sur la plante) de ce dernier et peut être ainsi conservée. Le délai d'utilisation optimale du gel varie de 2 à 7 jours en fonction de la température de conservation de la préparation réalisée.

25

Le polyside ramifié est biodégradable, c'est-à-dire qu'il peut être dégradé par les microorganismes du sol sans laisser de résidus toxiques. Ce polyside ne va donc pas présenter de toxicité pour l'environnement ou pour les êtres vivants : On peut notamment utiliser tout polyside ayant reçu une autorisation de mise sur
30 le marché en tant qu'additif alimentaire.

De préférence, ce polyside ramifié n'est pas le galactomannane. En particulier, ce polyside ramifié est tel qu'il comprend plusieurs unités d'oses sur ses ramifications, notamment 3 unités osiques.

Dans un mode de réalisation préféré, le polyside ramifié est constitué
35 d'une combinaison glucose, mannose, acide glucuronique et acide pyruvique. En

particulier, il s'agit de la gomme xanthane (CAS : 11138-66-2; EINECS : 234-394-2), de formule brute $C_{35}H_{49}O_{29}$.

Cette gomme xanthane se présente, de préférence, sous une forme pulvérulente. Dans un mode de réalisation particulier, au moins 80 % des
5 particules présentes dans cette poudre ont une taille comprise entre 150 et 200 microns. Dans un autre mode de réalisation, les particules ont une taille inférieure à 177 microns. En effet, on préfère utiliser une gomme xanthane de 80 MESH.

La notion de MESH est utilisée pour définir la finesse des abrasifs. En anglais, MESH signifie « MAILLE » et la valeur associée exprime le nombre de
10 mailles par pouce. Ainsi, l'unité Mesh exprime le nombre de mailles d'un tamis par pouce (1 pouce ou inch= 2,54 cm). En conséquence, plus il y a de mailles, plus le chiffre Mesh est élevé, et plus le tamis sera fin. Ainsi, la taille des plus grosses particules susceptibles de passer au travers du tamis sera alors plus petite.

Ainsi, des particules de 80 Mesh ont une taille maximale de 177 microns.
15 Dans le cadre de la présente invention, on pourrait aussi utiliser des particules de 70 Mesh (taille maximale de 210 microns), ou des particules de 100 Mesh (taille maximale de 149 microns). La composition selon l'invention est préparée par mélange du champignon endomycorhizien avec le polyoside ramifié, puis ajout d'eau dans ce mélange. L'eau peut être de l'eau froide ou de l'eau tiède.

20 La taille des particules de gomme xanthane peut s'avérer importante pour la mise en œuvre de l'invention. En effet, une granulométrie fine (200 mesh) permettra d'avoir une hydratation plus rapide de la gomme, mais avec des risques de grumeaux. Un produit plus gros permet d'avoir une meilleure dispersion et d'éviter la formation de grumeaux, notamment dans les conditions de travail aux
25 champs ou en atelier (conditions de faible agitation). C'est la raison pour laquelle on préfère utiliser les particules de tailles mentionnées ci-dessus (entre 150 et 200 microns environ, bien que l'on puisse utiliser des particules de 210 microns). En résumé, la taille des particules est préférentiellement inférieure à 250 micros, de préférence inférieure à 70 mesh, ou 200 microns, et supérieure à 100 mesh (ou
30 150 microns).

Si l'on formule avec de gros appareils, on peut aller jusqu'à utiliser des particules de 200 mesh (74 microns).

La taille des particules est ainsi supérieure à 70 microns de façon plus préférée 100 microns, de façon plus préférée 150 microns.

35 Dans un mode de réalisation préféré, cette composition ne comprend que ledit champignon endomycorhizien, ledit polyoside ramifié ainsi que de l'eau (et

éventuellement un support neutre stabilisant le champignon, tel que l'argile). Dans un autre mode de réalisation, la composition ne contient que la substance d'intérêt, ledit polyoside ramifié ainsi que de l'eau (et éventuellement un support neutre stabilisant le champignon, tel que l'argile). Ainsi, dans ces modes de réalisation, la
5 composition ne contient qu'un seul composé ayant un activité sur la plante.

Dans un autre mode de réalisation, on peut ajouter d'autres composés à cette composition, tels que des hormones de bouturage ou, bien évidemment, d'autres micro-organismes ou substances bénéfiques pouvant avoir des effets complémentaires du Solrize® (*Trichoderma spp*, *Bacillus* et *Lactobacillus spp*,
10 *Paenibacillus spp*, *Azospirillum spp*, *Pseudomonas spp*, *hyphomycète*, *ascomycètes*, *actinomycète*, *deuteromycetes*, oligosaccharides, peptides, glycolipides, extraits de plantes ou d'algues, huiles essentielles...).

Tout type de champignon (endomycorhizien ou ectomycorhizien) peut être utilisé dans le cadre de la présente invention. On préfère toutefois utiliser un
15 champignon endomycorhizien arbusculaire, et en particulier un champignon du genre *Glomus sp* et appartenant au groupe des glomérromycètes et en particulier la souche de *Glomus sp* LPA Val1, principe actif du produit Solrize® développé par la demanderesse, ayant obtenu une homologation en France (n° 1020004). Solrize® se présente sous forme d'argile contenant des spores et mycelium de *Glomus sp*
20 associés aux particules d'argiles et à des fragments racinaires de plantes.

L'homme du métier est à même de déterminer les quantités de chacun des produits à apporter pour réaliser la composition selon l'invention, sachant que l'on souhaite apporter entre 3 et 10g d'inoculum mycorhizien par plant praliné (soit
25 entre 30 et 100 propagules) selon la taille du système racinaire.

Dans le cas de l'utilisation d'une autre substance d'intérêt, l'homme du métier déterminera la quantité à apporter à la plante, ce qui permettra d'identifier la concentration à utiliser en fonction de la quantité moyenne de produit qui se retrouvera sur les racines de cette plante.

30 Par ailleurs, l'homme du métier est à même de déterminer la quantité de polyoside à ajouter dans la composition pour obtenir la viscosité et le comportement mécanique approprié.

Dans un mode de réalisation particulier, la composition comprend entre 3000 et 4000 propagules du dit champignon endomycorhizen, entre 7 et 15 g de
35 ladite gomme xanthane, pour 1 litre d'eau. Cette quantité de gomme xanthane est la quantité préférée pour l'ensemble des applications envisagées dans la

demande. On peut aussi utiliser entre 6 et 10 g de gomme xanthane pour 1 litre d'eau. On utilise ainsi au moins 6 g, de préférence au moins 7 g de gomme xanthane pour 1 litre d'eau, et au plus 15 g, de préférence au plus 12g de gomme xanthane pour 1 litre d'eau.

5

Ainsi qu'on l'a vu plus haut, l'invention se rapporte également à l'utilisation d'une composition telle que décrite plus haut pour réaliser un pralinage, ou en tant que biofertilisant.

Ce pralinage ou cette utilisation en tant que biofertilisant peut être effectué
10 sur tout type de plante susceptible de former une endomycorhize. Elle est notamment réalisée sur toute culture pouvant faire l'objet de plantation. On envisage ainsi une utilisation dans les domaines de l'arboriculture fruitière, la viticulture, les arbres et arbustes d'ornement, la foresterie, les cultures légumières.

On peut citer les cultures maraîchères, telles que melon, tomate, fraise,
15 aubergine, poivrons, courgettes, salade, haricots, les arbres fruitiers tel que pommiers, poiriers, pruniers, cerisiers, etc..., toutes plantes horticoles ou cultures florales (y compris les rosiers). On peut aussi citer une utilisation pour les arbres (Noyer, Frêne, platane, peuplier, sorbier,...) ou les arbustes (laurier, buis, millepertuis, lilas, buddleia, ...).

20 Il a notamment été montré que cette composition peut être utilisée sur les plants de vigne issus de pépinière traditionnelle.

L'invention se rapporte également à une méthode de plantation d'une plante, comprenant l'étape de planter une plante dans un substrat permettant la croissance de la plante, caractérisée en ce que les racines de la plantes sont
25 enrobées par une composition selon l'invention. Ledit substrat peut être de la terre, du terreau ou tout autre substrat adapté à la plante en question. Il peut aussi contenir des éléments tels que la tourbe ou l'argile.

Dans un mode de réalisation préféré, l'enrobage des racines de la plante a été réalisée plus de 12 heures, de façon plus préférée plus de 24 heures, de façon
30 plus préférée plus de deux jours, voire plus d'une, ou même deux semaines avant l'étape de plantation de la plante, notamment pour les plants de vigne. Les plantes sont conservées directement dans la composition de pralinage selon l'invention, ou plongées dans la composition et retirées de celle-ci, la composition durcissant alors en adhérant sur les racines des plantes qui sont alors conservées jusqu'à la
35 plantation.

Les exemples montrent notamment que l'on peut conserver les pieds de vigne dans la composition selon l'invention, plus de trois semaines et au moins un mois.

5 EXEMPLES

Exemple 1 : test de plusieurs produits

On a testé les produits suivants :

- Guar 25 : composé principalement de galactomannane (polymère linéaire composé d'une chaîne de monomères de mannose ((1,4)-beta-D-mannopyranose) auxquelles sont ramifiés par un pont 1-6 une unité de galactose).
- Xanthan 80 (Danisco®, gomme xanthane 80 mesh) : polyside ramifié comprenant 4 unités osiques dans les ramifications
- LBG 246 (Gomme Caroube) : propriétés épaississantes dues à la de galactomannane
- FD 175 (Alginate) : polymère linéaire formé de deux monomères liés ensemble : le mannuronate et le guluronate

On a testé le pouvoir gélifiant de ces produits.

Nom	Dose testé 1%	Dose testé 0.2%	Conclusion
LBG 46 Caroube	Aspect très liquide, avec peu de grumeaux	Aspect très liquide, avec peu de grumeaux	Gomme très liquide
Alginate FD 175	Aspect plutôt visqueux mais beaucoup de grumeaux	Aspect plutôt visqueux mais beaucoup de grumeaux	Gomme plutôt à tendance visqueuse et gélifiante
Guar type 250	Aspect liquide avec quelques grumeaux	Aspect liquide avec grumeaux	Gomme très liquide
Xanthan 80	Aspect très visqueux, quelques grumeaux	Aspect moins visqueux, moins de grumeaux (base de départ)	Gomme visqueuse et gélifiante

20

D'un point de vue texture (collant), le Xanthan et l'Alginate paraissent plus collants que la Guar et la Caroube et seraient donc les mieux à même de répondre

aux attentes des pépiniéristes, notamment en ce qui concerne la capacité à se présenter sous forme liquide pour mélanger la substance d'intérêt et appliquer le produit sur les racines, et à se solidifier ultérieurement (sur les racines), ce qui permet une manipulation des plantes pralinées (le cahier des charges).

5

A la vue de ces résultats, seuls l'alginate et la gomme xanthane paraissent utilisables dans l'application envisagée.

On peut toutefois noter qu'il a semblé difficile de dissoudre ces gommes dans l'eau même à faible dose. Les résultats sont les mêmes avec de l'eau

10

Exemple 2 : amélioration de la solubilité

On a testé différents dispersants pour tenter de résoudre le problème de dissolution des gommes dans l'eau.

15

Nom agent collant	Aspect	Conclusion
LBG 46 Caroube	Pas homogène, huile remonte, très liquide	Gel trop liquide
Alginate FD 175	Pas homogène, huile remonte, liquide	Gel trop liquide
Guar type 250	Mélange homogène, liquide, légèrement épais mais pas beaucoup	Gel se rapprochant du cahier des charges attendu
Xanthan 80	Mélange très homogène, aspect gélatineux	Gel correspondant au cahier des charges attendu

Protocole appliqué : 5g de dispersant + 0.5g d'agent collant+ 97mL d'eau

D'autres essais ont montré que la gomme xanthane est le produit permettant d'obtenir une composition présentant les meilleures propriétés de viscosité attendues.

20

En particulier, un test a été réalisé, et qui a consisté à tremper un plant de vigne dans toutes les solutions préparées afin d'évaluer l'adhérence des gels autour des racines.

Les résultats sont les plus prometteurs pour le Xanthan.

25

Exemple 3 : Détermination d'une mise en œuvre aisée de la composition

La réalisation de la composition consiste à mélanger le produit Solrize® Standard avec de la poudre de l'agent collant sélectionné, (en l'occurrence le Xanthane dans cet exemple) puis d'ajouter de l'eau afin d'obtenir un produit homogène et collant. Ce principe est simple à mettre en œuvre pour l'utilisateur.

Il convient que la préparation de cette nouvelle formulation soit aussi simple que celle du produit Solrize Pralin : l'agent collant est directement mélangé au Solrize® puis l'eau est ajoutée ensuite.

Les essais réalisés sur les différents produits montrent que seul le Xanthan permet d'obtenir une composition remplissant les critères recherchés pour le produit (mélange aisé, bonne adhérence de la préparation aux racines et plants).

En effet, les essais avec l'alginate donnent un produit qui durcit avec le temps. Les essais avec la Guar ou la Caroube donnent des compositions trop liquides.

Exemple 4 : Préparation de différentes compositions

Composition de la préparation testée	Quantité de Solrize® (g/Plant de vigne)	J+1	J+2	J+3	J+7
175 g Solrize® +12 g Xanthan +850 mL H ₂ O	5.83g Solrize®/plant	Produit homogène colle bien aux racines	Dur sur le dessus mais après mélange, idem J+1, donc satisfaisant	Idem J+2	Commence à durcir, quelques grumeaux après mélange
175 g Solrize® +18 g Xanthan +850 mL H ₂ O	5.2g Solrize®/plant	Produit homogène colle bien aux racines	Dur sur le dessus mais après mélange, idem J+1, donc satisfaisant	Commence à durcir, quelques grumeaux après mélange	A durci, quelques grumeaux après mélange
175 g Solrize® +24 g Xanthan +850 mL H ₂ O	4.8g Solrize®/plant	Produit homogène colle bien aux racines	Dur sur le dessus mais après mélange, idem J+1, donc satisfaisant	Commence à bien durcir, quelques grumeaux après mélange	A durci, difficile à mélanger sans faire de grumeaux
175 g Solrize® +30 g Xanthan +850 mL H ₂ O	4g Solrize®/plant	Produit homogène colle bien	Dur sur le dessus mais après	Commence à bien durcir,	A durci, difficile à mélanger

		aux racines	mélange, idem J+1, donc satisfaisant	quelques grumeaux après mélange	sans faire de grumeaux
--	--	-------------	--------------------------------------	---------------------------------	------------------------

Les produits ont été évalués à température ambiante, et un contrôle manuel de l'adhérence aux racines d'un plant de vigne, utilisés comme modèle, a été effectué.

- 5 On constate que les compositions peuvent être conservées pendant au moins deux jours, voire pendant plus longtemps.

On a réalisé d'autres compositions comprenant :

360 g de Solrize®, 850 ml à 1.5l d'eau et diverses quantités de gomme

- 10 Xanthan 80.

On observe que les meilleurs résultats sont obtenus lorsque l'on ajoute entre 7 et 15 g de Xanthan 80.

On a constaté que la composition comprenant 360 g de Solrhize®, 1 litre d'eau et 10 g de Xanthan 80, semble présenter les propriétés les plus favorables.

- 15

Exemple 5 : test d'application de la composition sélectionnée sur des plants de vigne

On teste donc une composition comprenant 360 g de Solrhize®, 1000 ml d'eau et 10 g de Xanthan 80.

Nombre de plants de vigne pouvant être pralinés	Quantité de gel+Solrize® (g/Plant de vigne)	Quantité de gel (g/Plant de vigne)	Quantité de Solrize® (g/Plant de vigne)
120	11 à 13 g/plants	6 à 8 g/plants	3 g/plant

- 20

On a mesuré le pH de la composition au cours du temps :

pH gel = 7.15 (J+1)

pH gel + Solrize® = 7.01 (J+1)

pH gel + Solrize® = 7.70 (J+2)

- 25 pH gel + Solrize® = 7.00 (J+3)

pH gel + Solrize® = 6.90 (J+4)

pH gel + Solrize® = 6.90 (J+5)

La conservation du produit à température ambiante n'entraîne pas d'odeur avant J+4 alors que le Solrize® Pralin émet des odeurs dès 24h après réalisation.

À 4°C, la conservation peut atteindre 7 jours après préparation sans que d'odeur particulière ne soit constatée. L'odeur reflète une évolution du produit
5 pouvant entraîner une altération de ses propriétés.

Par ailleurs, une analyse économique a permis de calculer que le coût de revient des compositions selon l'invention est significativement moins important que le coût de revient du Solrize® Pralin.

La composition reste donc particulièrement stable au cours du temps une
10 fois préparé, permettant ainsi une certaine souplesse dans son utilisation.

Exemple 6 : test de mycorhization des plantes

Procédure

Des plants de haricot, de vigne, de sorgho et de chrysanthème ont été
15 pralinés à l'aide d'une préparation test réalisée sur la base des résultats obtenus au cours des essais décrits précédemment.

- ✓ Formulation de pralinage testée : 360 g Solrize® + 10 g Xanthan 80 + 1L H₂O.
- ✓ Rempotage / plantation : réalisation dans des contenant (pot) de
20 4L ;
- ✓ Modalités :
 - Témoin (non pralinés) : 5 plantes (pots) par espèce, soit 20 pots ;
 - « Solrize Gel » : 10 plantes par espèce pralinées à l'aide de la
25 préparation testée décrite ci-dessus, soit 40 pots ;
- ✓ Support de culture : Terreau Prorize de la société Aquiland (33000 Landiras France).
- ✓ Durée de la culture : 6 semaines.

30 Résultats

Après 6 semaines de cultures (délai suffisant pour avoir des racines mycorhizées, apparition des points d'infection entre Glomus et les racines de plantes), les racines de toutes les plantes ont été prélevées pour contrôler la mise en place de la mycorhization. Les 5 plantes témoins (non traitées avec la
35 composition) étaient négatifs (non mycorhizés), permettant de valider l'essai.

L'ensemble des 40 plants traités (pralinés) avec la composition ont montré une présence de la mycorhization.

Ces résultats permettent de démontrer que la composition selon l'invention permet une mycorhization des plants.

5

D'autres essais, notamment au vignoble en conditions réelle de plantation, ont été conduits sur des plants de vigne et ont permis de valider l'intérêt technique d'une telle formulation de pralinage « Gel » ainsi que son efficacité en obtenant notamment des bons taux de reprise et une meilleure qualité de plants, significativement différente de la modalité témoin non pralinée.

10

Exemple 7 : test de compatibilité avec des spores de *Trichoderma*

Préparation du Mycogel® :

- Solrize®Pro (Agrauxine) : 360g
- Gomme Xanthan: 10g
- Eau : 1L

15

Trichoderma :

- Spores pures de *Trichoderma* : 0,1g/l (10^8 à 10^9 CFU / g)

20

Contrôle microbiologique :

Détermination des CFU *Trichoderma*/g sur Milieu PDA (*Potato dextrose agar*) et Détermination des CFU Bactérie/g sur Milieu PCA (*Plate Count Agar*).

Le Mycogel et les spores de *Trichoderma* sont mélangés puis stocké à température ambiante et à 4°C pendant une semaine.

25

Un prélèvement est réalisé pour les deux modalités (température ambiante et à 4°C) et le contrôle microbiologique est réalisé.

Le prélèvement est mélangé dans du Tryptone sel pendant 30 minutes puis des dilutions successives sont réalisées. La lecture des boîtes est réalisée après 72 Heures d'incubation.

30

Paramètres mesurés :

- CFU *Trichoderma* par g
- CFU Contaminant par g

35

Résultats

Modalités	Mélange Mycogel + spore Trichoderma à Température ambiante	Mélange Mycogel + spore Trichoderma à 4°C
CFU Trichoderma viable/g	1.67×10^7 CFU/g	1.02×10^7 CFU/g
CFU Bactérie viable/g	3.01×10^5 CFU/g	1.97×10^5 CFU/g

Conclusion :

Le mélange Mycogel® et *Trichoderma* est compatible. De plus, on n'observe pas de différence en termes de survie quelle que soit la température de conservation du gel.

Exemple 8 : Test de conservation du Mycogel®

Mise en place du protocole

- Plant hôte : Vigne
- 10 Contenant : seau 3l
- Solrize® Standard : Lot N°33
- Dose Mycogel® : Traiter 120 plants de vigne
 - Solrize®Pro : 360g
 - Gomme Xanthan: 10g
 - 15 • Eau : 1L

Paramètres mesurés : 2 fois/mois

- Suivi de l'odeur émanant des seaux.
- Mesure du pH

20

Résultats

Le Mycogel® formulé peut se conserver sans problèmes pendant 1 mois à 4°C. Au delà une odeur liée à la fermentation du Mycogel se dégage, bien que l'on n'observe quasiment pas de variation de pH..

25

Ces résultats montrent que les viticulteurs peuvent tremper le pied de vigne dans le Mycogel® et les conserver à 4°C quelques semaines avant la plantation.

Il est en revanche déconseillé de stocker les pieds de vignes dans le Mycogel® pendant 6 mois avant la plantation.

30

La conservation du gel seul (sans Solrize®) a donné le même type de résultats : Le gel peut se conserver pendant 1 mois à 4°C, et une odeur liée à la

fermentation du gel se dégage au-delà. Sur les six mois de conservation, on observe quasiment pas de variation de pH.

Pourcentage de mycorhization

- 5 Toutes les modalités à +6 mois, +4mois et +2mois pour les vignes à 4°C et fraîche ont été repotées en pot de 1L avec du substrat Faliénor® puis placées en serre. En raison du maintien du pH, on soupçonne que la mycorhization restera possible et de qualité. Les essais sont en cours.

10 **Exemple 9 : conservation de plantes pralinées avant plantation**

On a aussi testé le taux de mycorhization pour des plants conservés dans le Mycogel® à 4°C pendant un mois.

- Dix pieds de vigne ont été trempés dans le Mycogel puis placés à 4°C.
15 Après quatre semaines, les pieds de vigne ont été retirés de la chambre froide à 4°C et repotés en pot de 1L avec du substrat Faliénor® puis placé en serre.

Après 9 semaines de culture, seul le pourcentage de mycorhization est observé sur les 10 pieds de vigne.

Nombre de plant de vigne	Taux de mycorhization en %	Moyenne du taux de mycorhization en %
1	25%	21.2% Structures internes peu développées (présence de mycélium externe, vésicule)
2	30%	
3	20%	
4	15%	
5	ND	
6	25%	
7	15%	
8	10%	
9	22%	
10	29%	

- 20 On note que le taux de mycorhization est de 21.2% pour la vigne. La conservation des pieds de vigne dans le Mycogel à 4°C pendant 1 mois n'affecte pas son efficacité et donc la mycorhization de la vigne.

Revendications

1. Composition destinée au pralinage d'une plante, comprenant un polyoside ramifié, ainsi qu'une substance d'intérêt.
5
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que ladite substance d'intérêt est un champignon endomycorhizien.
3. Composition selon la revendication 2, caractérisée en ce que ledit
10 champignon endomycorhizien est un gloméromycète.
4. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que ladite substance d'intérêt est un microorganisme antifongique.
- 15 5. Composition selon la revendication 4, caractérisée en ce que ledit microorganisme antifongique est un *Trichoderma*.
6. Composition selon l'une des revendications 2 à 3, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre un microorganisme antifongique,.
20
7. Composition selon la revendication 6, caractérisée en ce que ledit microorganisme antifongique est un *Trichoderma*.
8. Composition selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que
25 ledit polyoside ramifié est constitué d'une combinaison glucose, mannose, acide glucuronique et acide pyruvique.
9. Composition selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisée en ce que ledit polyoside ramifié est la gomme xanthane.
30
10. Composition selon la revendication 9, caractérisée en ce que ladite gomme xanthane se présente sous une forme pulvérulente, de particules ayant une taille inférieure à 177 microns.
- 35 11. Composition selon l'une des revendications 1 à 5 et 8 à 10, caractérisée en ce qu'elle ne comprend que ladite substance d'intérêt, ledit polyoside ramifié ainsi que de l'eau.

- 5 12. Composition selon l'une des revendications 2 à 3 et 6 à 11, caractérisée en ce qu'elle comprend entre 3000 et 4000 propagules dudit champignon endomycorhizien pour 1 litre d'eau.
- 10 13. Composition selon l'une des revendications 9 à 12, caractérisée en ce qu'elle comprend entre 6 et 15 g de ladite gomme xanthane, pour 1 litre d'eau.
14. Composition selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisée en ce qu'elle se présente sous la forme d'un gel.
- 15 15. Composition particulière qui comprend :
- a) des particules de polyoside ramifié, d'un diamètre supérieur à 70 microns, et inférieur à 250 microns
 - b) un principe actif d'intérêt se présentant sous forme « sèche »
 - c) éventuellement une matrice neutre stabilisant le principe actif.
- 20 16. Composition selon la revendication 15, caractérisée en ce que ledit polyoside ramifié est la gomme xanthane.
- 25 17. Composition selon l'une des revendications 15 ou 16, caractérisée en ce que ledit principe actif d'intérêt est un champignon endomycorhizien, se présentant sous la forme de propagules, éventuellement stabilisé par de l'argile.
- 30 18. Composition selon l'une des revendications 15 ou 16, caractérisée en ce que ledit principe actif d'intérêt est un *Trichoderma*, se présentant sous la forme de spores.
- 35 19. Composition selon l'une des revendications 15 ou 16, caractérisée en ce que ledit principe actif d'intérêt est un mélange de *Trichoderma*, se présentant sous la forme de spores et de champignon endomycorhizien, se présentant sous la forme de propagules.

20. Méthode de préparation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 14, comprenant une étape d'ajout d'eau dans une composition selon l'une des revendications 15 à 19.
- 5 21. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 14 pour réaliser un pralinage sur les racines d'une plante.
22. Utilisation d'un polyoside ramifié pour la préparation d'une composition destinée à apporter une substance d'intérêt aux racines d'une plante par pralinage.
- 10
23. Méthode pour apporter une substance d'intérêt aux racines d'une plante, comprenant les étapes de (i) préparer une composition de pralinage contenant ladite substance d'intérêt et un polyoside ramifié et (ii) appliquer cette composition de pralinage aux racines de ladite plante.
- 15
24. Méthode selon la revendication 23, caractérisée en ce que ladite composition a été préparée quelques jours avant application sur la plante.
- 20
25. Méthode de plantation d'une plante, comprenant l'étape de planter une plante dans un substrat permettant la croissance de la plante, caractérisée en ce que les racines de la plantes sont enrobées par une composition selon l'une des revendications 1 à 14.
- 25
26. Méthode selon la revendication 24, caractérisée en ce que l'enrobage des racines de la plante a été réalisé plus de 12 heures avant l'étape de plantation de la plante.