



Code 03206

REDUCTION DE L'UTILISATION DU CUIVRE
DANS LE CONTROLE DU MILDIOU DE LA VIGNE
EN VITICULTURE BIOLOGIQUE

Camille Acedo, Marc Chovelon

Année 2017

Problématique

1.1. Objectifs de l'étude

Cette étude vise à évaluer l'efficacité d'alternatives naturelles au cuivre dans la lutte contre le mildiou de la vigne, à savoir deux plantes (la bourdaine et la rhubarbe) permettant la production d'éliciteurs. On cherche à déceler un effet synergique dans l'association cuivre et extrait de plantes, qui permettrait ainsi de diminuer les doses de cuivre apportées. De plus, on veut déterminer si la combinaison des deux plantes, au mode d'action similaire, peut être plus efficace contre l'agent pathogène. Enfin, tester plusieurs quantités de plantes, en fonction de la durée et du mode d'extraction, devrait permettre de trouver la combinaison optimale pour la meilleure efficacité des molécules élicitrices contre le mildiou.



Figure 1 : Plants de Grenache blanc et Muscat de Hambourg en place pour l'essai (photo personnelle)



Figure 2 : Schéma du dispositif expérimental sous ombrière avant l'essai

1.2. Question de recherche

Les éléments de contexte soulèvent la question de recherche suivante :

Dans le cadre de la recherche d'alternatives à l'utilisation du cuivre en viticulture biologique, quelle est l'efficacité d'extraits de bourdaine et rhubarbe, deux plantes produisant des éliciteurs naturels, face aux attaques de mildiou chez la vigne ?

1.3. Hypothèses de travail

Les hypothèses suivantes peuvent être formulées dans le cadre de l'étude, dans la continuité des résultats des années précédentes :

H1 : L'adjonction d'extraits de plantes au pouvoir éliciteur à une faible dose de cuivre peut améliorer l'efficacité du cuivre grâce à une action synergique.

H2 : L'association de bourdaine et de rhubarbe est plus efficace que l'application d'un des deux extraits de plantes.

H3 : L'application d'extraits de plantes issus de décoction est plus efficace que ceux issus de macération.

H4 : En diminuant la quantité de plantes et en augmentant le temps de préparation, l'efficacité des extraits de plantes est renforcée.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Deux cépages ont été choisis pour cette étude : le Grenache blanc et le Muscat de Hambourg, connus pour leur sensibilité au mildiou (Chovelon & Moore, 2016). Le Grenache blanc est un raisin de cuve et le Muscat de Hambourg est un raisin de table.

Ils sont cultivés sous ombrière afin d'obtenir des conditions favorables au développement du mildiou, ce qui n'est pas toujours le cas en plein champ à cause du Mistral, qui empêche les zoospores de rester sur les plantes et de donc de germer. Chaque plant est en pot individuel de quatre litres, contenant du terreau enrichi avec de l'engrais azoté. Il est tuteuré et irrigué par un goutteur, puis seulement arrosé par aspersion dès que *P. viticola* est inoculé (figure 6). Tous les plants, greffés et âgés d'un an, sont sortis de pépinière cette année, ainsi il n'y a pas de risque de stress dû à un pot trop étroit pour contenir le système racinaire en croissance.

2.2. Dispositif expérimental

L'essai se déroule en conditions semi-contrôlées : 19 modalités sont testées pour chacun des deux cépages, et chaque modalité fait l'objet de trois répétitions par cépage. La disposition des 19 modalités au sein de chaque répétition est générée de manière aléatoire et indépendante des autres répétitions par le logiciel de statistiques Statbox®. De plus, chaque répétition d'une modalité comprend deux plants, définissant une unité expérimentale. Comme l'ombrière est bordée du côté Est par une haie de peupliers, la moitié des rangs subit une ombre plus importante le matin, ce qui s'est traduit par l'observation d'une attaque de mildiou plus importante les années précédentes. On a donc *a priori* un effet bloc dû à l'orientation de la serre. Dans le but d'avoir des ensembles homogènes, les trois répétitions des modalités de chaque cépage sont adjacentes dans l'ombrière (figure 7). Il n'y a pas de plants de bordure, ni entre chaque unité expérimentale, ni entre chaque répétition.

Substance active	Quantité utilisée	Mode de préparation	Durée de préparation	Code
TNT	/	/	/	TNT
Cuivre	600 g/ha	/	/	Cu 600
Cuivre	100 g/ha	/	/	Cu 100
Bourdaïne	1 g/l	macération	24h	B m1 24h
Bourdaïne + cuivre	1 g/l + 100 g/ha	macération	24h	B m1 Cu 24h
Rhubarbe	1 g/l	macération	24h	R m1 24h
Rhubarbe + cuivre	1 g/l + 100 g/ha	macération	24h	R m1 Cu 24h
Bourdaïne + rhubarbe	0,5 g/l + 0,5 g/l	macération	24h	BR m0,5+0,5 24h
Bourdaïne + rhubarbe +cuivre	0,5 g/l + 0,5 g/l + 100 g/ha	macération	24h	BR m0,5+0,5 Cu 24h
Bourdaïne	1 g/l	décoction	24h	B d1 24h
Bourdaïne + cuivre	1 g/l + 100 g/ha	décoction	24h	B d1 Cu 24h
Rhubarbe	1 g/l	décoction	24h	R d1 24h
Rhubarbe + cuivre	1 g/l + 100 g/ha	décoction	24h	R d1 Cu 24h
Bourdaïne + rhubarbe	0,5 g/l + 0,5 g/l	décoction	24h	BR d0,5+0,5 24h
Bourdaïne + rhubarbe +cuivre	0,5 g/l + 0,5 g/l + 100 g/ha	décoction	24h	BR d0,5+0,5 Cu 24h
Bourdaïne	10 g/l	macération	30 min	B m10 30 min
Rhubarbe	10 g/l	macération	30 min	R m10 30 min
Bourdaïne	1 g/l	décoction	4h	B d1 4h
Rhubarbe	1 g/l	décoction	4h	R d1 4h

Tableau 1 : Modalités de l'essai

Plusieurs facteurs sont testés : la substance active des solutions préparées, la quantité de plante et de cuivre utilisée, le mode de préparation des solutions pulvérisées (décoction ou macération), et la durée de mise en contact des plantes avec l'eau, donnant lieu aux 19 modalités, associées à leur code dans l'essai (tableau 1). Le plan du dispositif expérimental complet avec modalités est en annexe 1.

Les modalités testées font intervenir différentes quantités d'écorce de bourdaine séchée et de racine de rhubarbe séchée : 1 g/l et 10 g/l, en association ou non avec une faible dose de cuivre (100 g/ha).

Parmi les 19 modalités mises en place, on trouve deux modalités « références cuivre », qui représentent les stratégies reposant sur l'utilisation seule du cuivre utilisées par les vignerons de la région :

- 600 g/ha ou référence « haute », permettant de valider l'essai : si cette modalité ne fonctionne pas, alors l'essai a mal été conduit.
- 100 g/ha ou référence « basse », visant à évaluer l'efficacité d'une faible dose de cuivre par rapport à celle des produits alternatifs mélangés à une faible dose de cuivre.

Un Témoin Non Traité (TNT) sert de référence afin d'évaluer l'efficacité des produits testés face à un cas non traité, que ce soit au cuivre ou aux extraits de plante, et permet aussi de se rendre compte de la pression en mildiou.

2.3. Protocole d'essai

L'essai comporte deux étapes clefs, à savoir les traitements à base de cuivre et d'extraits de bourdaine et rhubarbe, et l'inoculation de *P. viticola* sur les feuilles de vigne.

2.3.1. Traitements à base d'extraits végétaux et de cuivre

Les solutions à base d'écorce de bourdaine et de racine de rhubarbe séchées sont d'abord préparées par broyage des organes en poudre fine et mélange d'une quantité précise à de l'eau de forage (sans chlore) afin d'obtenir les concentrations souhaitées (1 g/l et 10 g/l). Les végétaux proviennent des mêmes lots que l'an dernier, achetés en pharmacie. Les préparations sont laissées à macérer/décocter selon la durée requise par chaque modalité. Pour les modalités concernées, 278 µl / litre pulvérisé de Champ® Flo Ampli, une spécialité à base d'hydroxyde de cuivre concentré à 360 g Cu/l sont ajoutés (équivalent à 100 g/ha Cu). Pour la modalité à 600 g/ha de cuivre, cela correspond à 1,67 ml de produit / litre pulvérisé. De plus, 2 ml d'Héliosol®, un co-formulant terpénique, est ajouté à chaque modalité afin d'augmenter la rétention et le pouvoir mouillant des traitements. Les solutions sont ensuite filtrées à travers des tamis à mailles de 150 microns et versées dans des pulvérisateurs à main de 1 l, puis appliquées en majorité sur le cep en insistant sur la face inférieure des feuilles, afin de permettre une meilleure pénétration du produit. La quantité pulvérisée par plante correspond à environ 1 000 l/ha (équivalent à 5 sprays par plante), c'est-à-dire jusqu'au point de ruissellement. Même si cela peut paraître élevé comparé aux 100 à 180 l/ha pulvérisés habituellement en plein champ à l'aide d'un pulvérisateur pneumatique (Heinzlé, 2007), le but ici est d'optimiser l'efficacité du traitement. Chaque traitement n'est appliqué qu'une seule fois, avant l'inoculation de l'oomycète, car on cherche à évaluer l'efficacité de l'effet préventif des produits éliciteurs sur le mildiou.

2.3.2. Inoculation de *P. viticola*

Les spores de l'oomycète *P. viticola*, responsable du mildiou, sont prélevées sur des feuilles présentant les symptômes de la maladie provenant de vignobles partenaires du GRAB en agriculture biologique ou en biodynamie situés dans le Vaucluse, et déposées dans de l'eau de forage maximum une heure avant l'inoculation aux plants de vigne afin d'éviter tout éclatement des spores. Les feuilles contaminées ont auparavant été mises dans des sachets congélation fermés sur papier absorbant humide durant deux semaines, pour que la sporulation de l'oomycète ait lieu et qu'on obtienne plus de zoospores à prélever pour préparer l'inoculum (protocole en annexe 2). Afin d'estimer la concentration en spores dans la solution inoculée, un comptage grâce à une cellule de Malassez est réalisé. Le prélèvement contient environ 500 000 spores/ml. Le mélange est alors inoculé sur la face inférieure des feuilles à raison de 6 ml d'inoculum par plant à l'aide d'un pulvérisateur manuel de 1 l, 4 jours après l'application des extraits de plante et cuivre. Des conditions hygrométriques favorables au développement du champignon sont mises en place : 5 minutes d'aspersion des plants toutes les 30 minutes.

2.4. Variables mesurées

Dix jours après l'inoculation, les premières taches apparaissent à la surface des feuilles. Puis, tous les 2 à 3 jours, cinq feuilles par plant sont observées de façon aléatoire, soit 10 feuilles par modalité au sein de chaque répétition. On note la proportion de « taches d'huile » sur chaque feuille en termes de pourcentage d'occupation. C'est le premier symptôme à apparaître sur la face supérieure des feuilles suite à l'infection par le champignon.

Deux indicateurs sont représentatifs de la contamination des plants de vigne par *P. viticola* :

- La fréquence d'attaque : c'est le rapport du nombre de feuilles contaminées observées sur le nombre total de feuilles observées.
- L'intensité d'attaque : c'est le pourcentage de surface moyenne contaminée, estimée à l'œil nu par la surface de feuille attaquée par rapport à la surface totale pour chaque feuille touchée.

A partir de ces deux indicateurs qualitatifs, on peut évaluer l'efficacité des produits testés grâce à une variable quantitative : il s'agit de l'aire située sous la courbe d'attaque du mildiou, également dénommée AUDPC (Area Under Disease Progression Curve). Elle est construite à partir des valeurs de fréquence et d'intensité d'attaque pour chaque modalité testée. On calcule d'abord la moyenne des valeurs correspondant aux deux premières dates, multipliée par le nombre de jours entre les deux dates, puis on recommence l'opération entre la deuxième et la troisième date, et ainsi de suite. Enfin, toutes les moyennes pondérées sont additionnées, ce qui donne l'AUDPC. Plus elle est grande et plus l'attaque est importante et donc le produit peu efficace. L'AUDPC est donc valable à la fois pour la fréquence et l'intensité d'attaque du mildiou.

2.5. Traitements statistiques

Afin d'analyser les données obtenues et de vérifier leur significativité, plusieurs tests statistiques sont effectués avec le logiciel R sous la console R Studio.

L'Anova à 1 facteur permet de regarder s'il existe des différences significatives entre les moyennes des AUDPC des fréquences/intensités en fonction des modalités. On peut aussi effectuer une Anova à 2 facteurs pour comparer les deux cépages entre eux. Ce test paramétrique d'analyse de variance est réalisé sous réserve de réunir les conditions de

normalité de la distribution (vérifiée grâce à un test de Shapiro Wilk), d'homoscédasticité des variances (vérifiée grâce à un test de Bartlett), et d'indépendance des échantillons.

Un test de Tukey à un seuil de 5 % est ensuite réalisé après l'Anova si des différences significatives ont été mises en évidence, ce test permettant de regrouper des modalités sur la base de leur moyenne, chaque groupe n'ayant pas de lettre en commun étant significativement différent d'un autre.

Si les conditions ne sont pas réunies, un test non paramétrique, le test de Kruskal Wallis, est effectué au seuil de 5 % afin de mettre en évidence des distributions différentes entre les modalités et de les regrouper.

Les barres d'erreurs sur les graphiques représentent les intervalles de confiance à 95 % pour chaque modalité (une erreur standard de la moyenne au-dessus de la valeur d'AUDPC et une en-dessous).

4. Résultats

Les mesures ont débuté le 10 juillet 2017 et se sont terminées le 10 août 2017, avec un total de 14 dates d'observations réparties tous les 2 à 3 jours. Un point 0 a été défini le 7 juillet 2017, avant que les premières taches ne soient observées sur les feuilles des pieds de vigne de l'ombrière. De plus, le choix de l'AUDPC comme variable de sortie permet d'intégrer l'ensemble des mesures effectuées au cours de l'essai, car celle-ci est calculée à partir des observations des 14 dates : on accède donc à l'AUDPC finale, obtenue à la fin de l'essai.

4.1. Réponse des deux cépages étudiés

L'analyse de variance à deux facteurs, effectuée sur l'ensemble des données d'AUDPC, a montré qu'il n'y avait pas d'interaction significative entre les modalités et les cépages, ce qui permet d'étudier l'effet de chaque facteur séparément, à la fois pour l'intensité et la fréquence d'attaque du mildiou. En effet, l'effet du facteur modalité sur l'AUDPC ne diffère pas selon le cépage considéré, et l'effet du facteur cépage sur l'AUPDC ne diffère pas non plus selon la modalité considérée.

On s'intéresse d'abord à la variation de réponse qu'il peut exister entre les deux cépages, en fonction des différentes modalités mises en place dans l'essai.

Dans un souci de logique, nous commencerons par traiter les données d'AUPDC liées à la fréquence, puis celles liées à l'intensité d'attaque du mildiou. En effet, l'intensité ne peut se mesurer que sur des feuilles touchées par la maladie, donc prises en compte dans le calcul de la fréquence, cette variable représentant le pourcentage de feuilles contaminées par la maladie par rapport au nombre de feuilles observées. Si aucune feuille n'est atteinte, la fréquence sera nulle, et par conséquent l'intensité aussi.

Dans cette partie, des figures complexes sont présentées, faisant intervenir les AUPDC des 19 modalités testées. Afin de simplifier la lecture graphique de ces résultats, nous avons choisi de signaler la modalité témoin en noir, la référence cuivre « haute » en rouge, et la référence cuivre « basse » en gris. Ces codes couleurs sont par ailleurs conservés sur les autres figures de la partie Résultats.

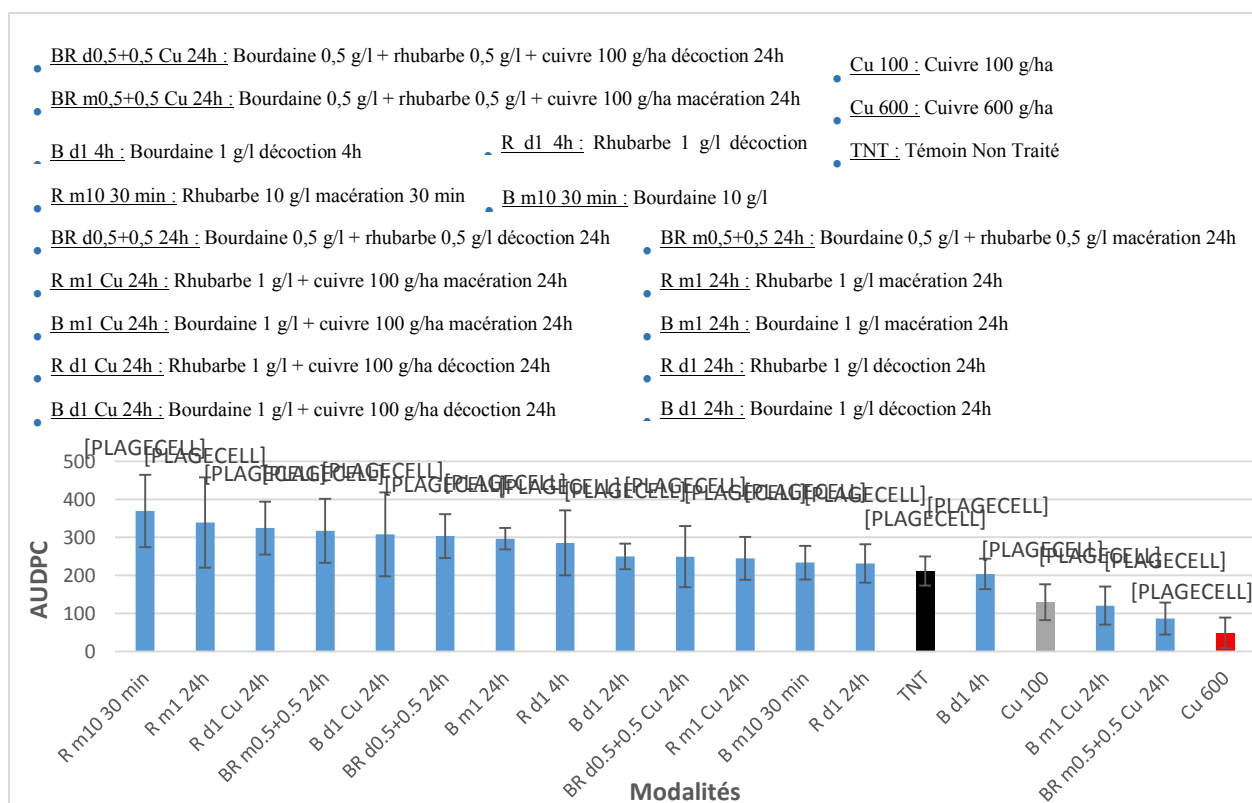


Figure 3 : AUDPC de l'intensité d'attaque moyenne du mildiou en fonction des modalités, tous cépages confondus (a,b,c,d,e : groupes homogènes selon le test de Kruskal Wallis au seuil de 5 % ; intervalles de confiance à 95%)

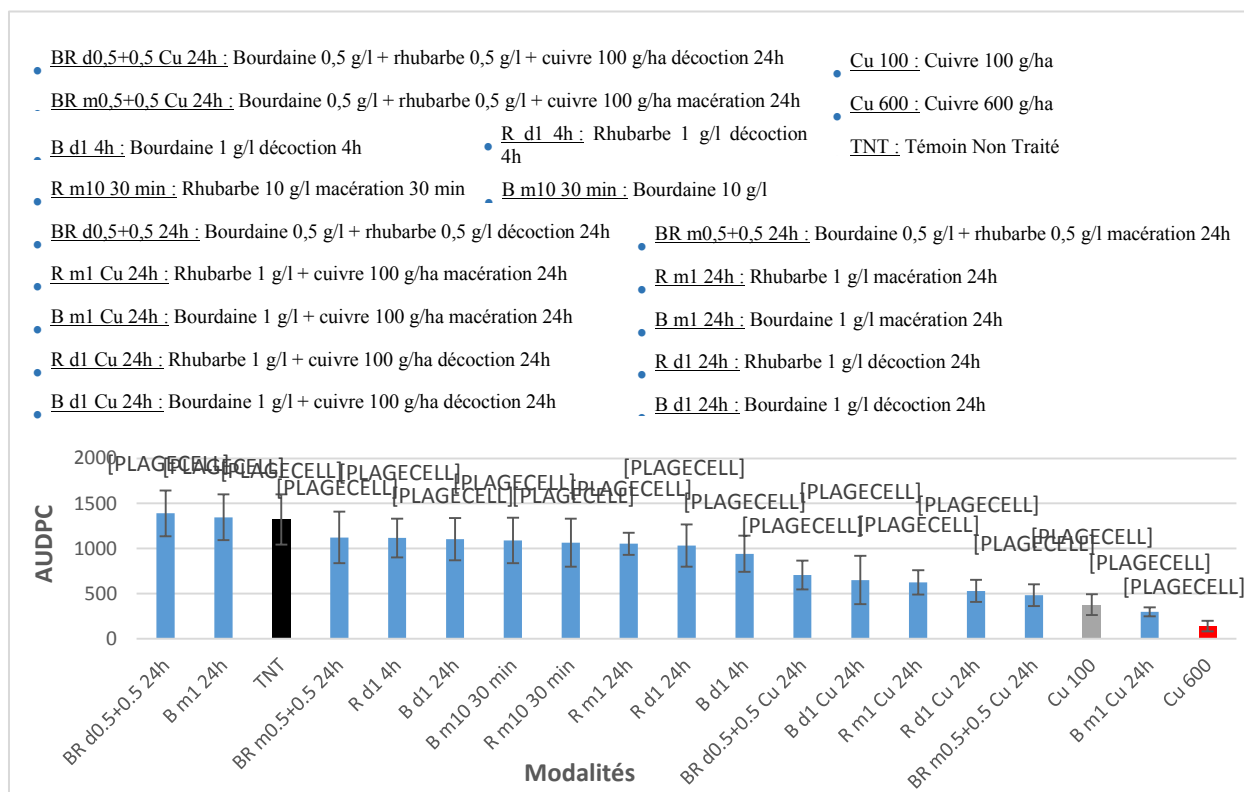


Figure 4 : AUDPC de la fréquence d'attaque moyenne du mildiou en fonction des modalités, tous cépages confondus (a,b,c,d,e : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

4.1.1. Etude de la fréquence d'attaque du mildiou

On constate que les AUDPC de la fréquence d'attaque du mildiou varient du simple au double en fonction du cépage, avec une valeur moyenne de 550 pour le Muscat et de 1176 pour le Grenache. Les AUDPC en fonction des modalités s'étalent de 228 à 1925 pour le Grenache (annexe 3) et de 55 à 987 pour le Muscat (annexe 4). L'AUDPC moyenne du Grenache étant près de deux fois plus élevée que celle du Muscat, on peut supposer que celui-ci est plus sensible au mildiou que le Muscat.

Pour le Grenache, on constate que les modalités « BR m 0,5+0,5 Cu 24h » et « B m1 Cu 24h » sont significativement plus efficaces que les modalités « TNT », « B m1 24h » et « BR d 0,5+0,5 24h », leur AUDPC respective étant comprise entre celle du cuivre à 600 g/ha et celle du cuivre à 100 g/ha.

Pour le Muscat, c'est la modalité « B m1 Cu 24h » qui semble être la plus efficace, son AUDPC d'intensité d'attaque se rapprochant de celle du cuivre à 100 g/ha. Néanmoins, aucune modalité n'est significativement différente d'une autre pour ce cépage.

4.1.2. Etude de l'intensité d'attaque du mildiou

En ce qui concerne l'intensité d'attaque du mildiou, les AUDPC de chaque modalité du Grenache blanc se situent globalement dans la même plage de valeurs que celles du Muscat de Hambourg, variant de 4 à 429 pour le Muscat (annexe 5), et de 61 à 516 pour le Grenache (annexe 6). Néanmoins, l'AUDPC moyenne du Grenache (calculée à partir des valeurs d'AUDPC de chaque modalité) est plus élevée (290) que celle du Muscat (189), ce qui suggère que le Grenache serait un cépage plus sensible au mildiou que le Muscat. En effet, plus l'AUDPC est élevée et plus l'intensité d'attaque est importante.

Pour le Grenache, la modalité « BR m 0,5+0,5 Cu 24h » est significativement plus efficace que la modalité « B d1 Cu 24h », son AUDPC étant même inférieure à celle du cuivre à 600 g/ha (Cu 600).

En revanche, pour le Muscat, c'est là encore la modalité « B m1 Cu 24h » qui peut être considérée comme la plus efficace, car possédant une AUDPC d'intensité d'attaque quasiment égale à celle du cuivre à 100 g/ha et significativement différente de celle des modalités « R m1 24h », « R m10 30 min », « BR m 0,5+0,5 24h », « B m1 24h », « R d1 Cu 24h » et « BR d 0,5+0,5 24h ».

Néanmoins, quel que soit le cépage, aucune des modalités n'est significativement différente du Témoin Non Traité (TNT).

Afin d'étudier l'effet des modalités testées et de répondre aux hypothèses initialement posées, on décide de s'intéresser à l'AUDPC globale pour chaque modalité, sans distinction de cépage, à la fois pour l'intensité d'attaque (figure 8) et pour la fréquence d'attaque (figure 9), bien que les deux cépages montrent des réponses différentes. Un nombre plus important de répétitions par modalité, au nombre de six pour les six rangs de vigne sous l'ombrière, est ainsi accessible, dans le but d'améliorer la précision de nos résultats.

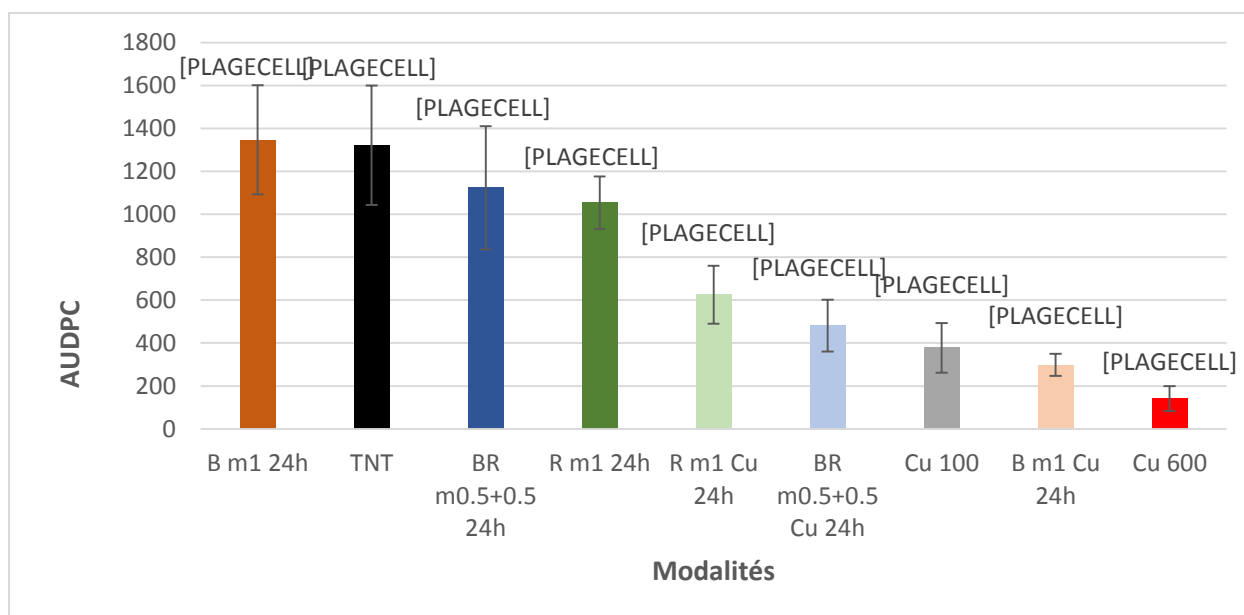


Figure 5 : AUDPC de fréquence d'attaque de mildiou pour les modalités avec et sans cuivre à faible dose, lors d'une macération, tous cépages confondus (a,b,c,d : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

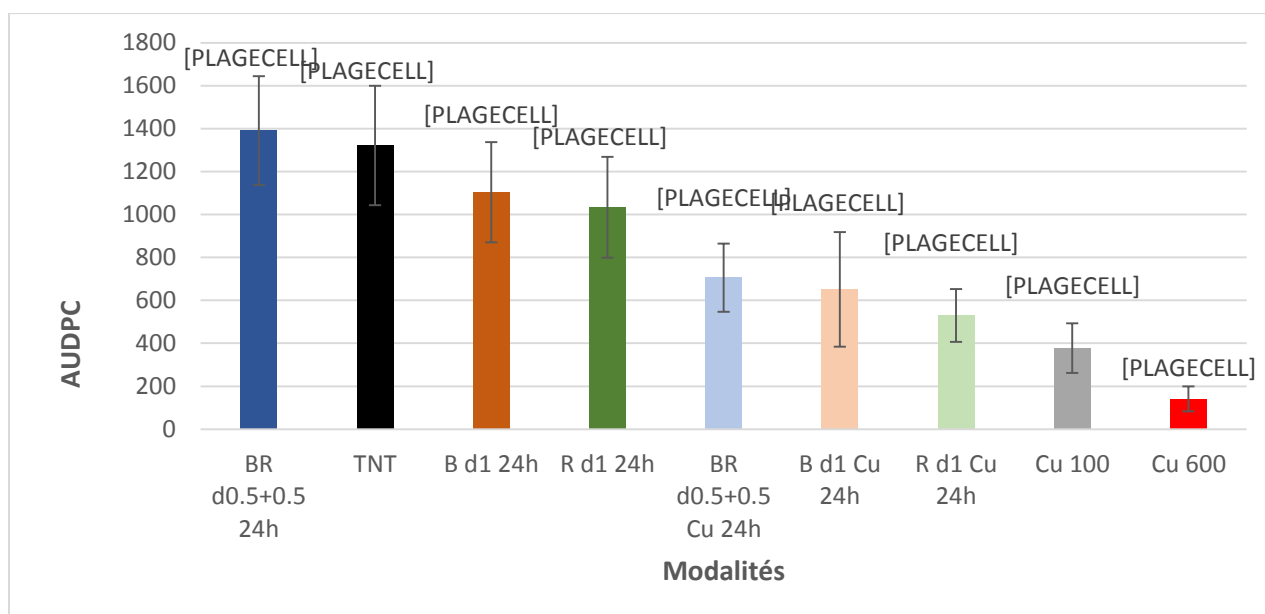


Figure 6 : AUDPC de fréquence d'attaque de mildiou pour les modalités avec et sans cuivre à faible dose, lors d'une décoction, tous cépages confondus (a,b,c,d,e : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

4.2. Effet du cuivre et synergie cuivre-plantes

Les résultats présentés dans ce point ont pour objectif de vérifier l'hypothèse H1, à savoir que l'adjonction d'extraits de plantes au pouvoir éliciteur à une faible dose de cuivre peut améliorer l'efficacité du cuivre grâce à une action synergique.

En mettant en parallèle les modalités avec cuivre à faible dose et les modalités sans cuivre sur le même graphique, on cherche tout d'abord à vérifier l'action fongicide reconnue du cuivre, pour la fréquence comme pour l'intensité d'attaque du mildiou. Ensuite, dans le but d'observer un effet synergique entre le cuivre et les extraits de plantes, il faut s'intéresser simultanément aux AUDPC des modalités de plantes additionnées de cuivre à faible dose (100 g/ha) ainsi qu'à celle du cuivre à faible dose seul.

4.2.1. Etude de la fréquence d'attaque du mildiou

En s'intéressant à l'efficacité du cuivre à faible dose, on constate que les modalités contenant des extraits de plantes additionnées de cuivre montrent une AUDPC plus faible que celles n'en contenant pas dans le cas de la macération de plantes (figure 10). Cette différence est même significative dans le cas de la bourdaine et du mélange bourdaine rhubarbe. En effet, l'AUDPC de la modalité « B m1 Cu 24h » est plus de quatre fois inférieure à celle de « B m1 24h », et celle de la modalité « BR m 0,5+0,5 Cu 24h » représente plus de la moitié de celle de « BR m 0,5+0,5 24h ». Ces modalités de plantes avec cuivre se distinguent également de façon bien significative du TNT (AUDPC à 1322).

Pour les modalités élaborées à partir de décoction (figure 11), on observe le même phénomène. Les modalités contenant du cuivre à faible dose en plus des extraits de plantes possèdent là encore une AUDPC plus basse, d'environ la moitié pour chaque couple de modalités « avec cuivre » et « sans cuivre » : une AUDPC de 706 pour « BR d 0,5+0,5 Cu 24h » contre 1391 pour « BR d 0,5+0,5 24h » par exemple. Cependant, les analyses statistiques n'ont montré aucune différence significative entre les paires de modalités avec et sans cuivre.

On s'intéresse à présent à l'effet synergique entre le cuivre et les extraits de plantes. Dans le cas de la macération de plantes, les AUDPC des modalités « B m1 Cu 24h », « R m1 Cu 24h » et « BR m 0,5+0,5 Cu 24h » montrent une AUDPC proche ou supérieure à celle du cuivre à 100 g/ha (Cu 100). L'effet synergique semble donc se confirmer uniquement pour la bourdaine, avec une AUDPC de 298 contre 377 pour la modalité Cu 100, bien que ce ne soit qu'une tendance (figure 10). En effet, les analyses n'ont montré aucune différence significative entre le cuivre à 100 g/ha et les modalités de plantes couplées à du cuivre faible dose.

En ce qui concerne la décoction (figure 11), toutes les modalités à base d'extraits de plantes et cuivre à faible dose mettent en avant une AUDPC plus importante que celle du Cu 100, bien que ces résultats ne puissent être interprétables significativement.

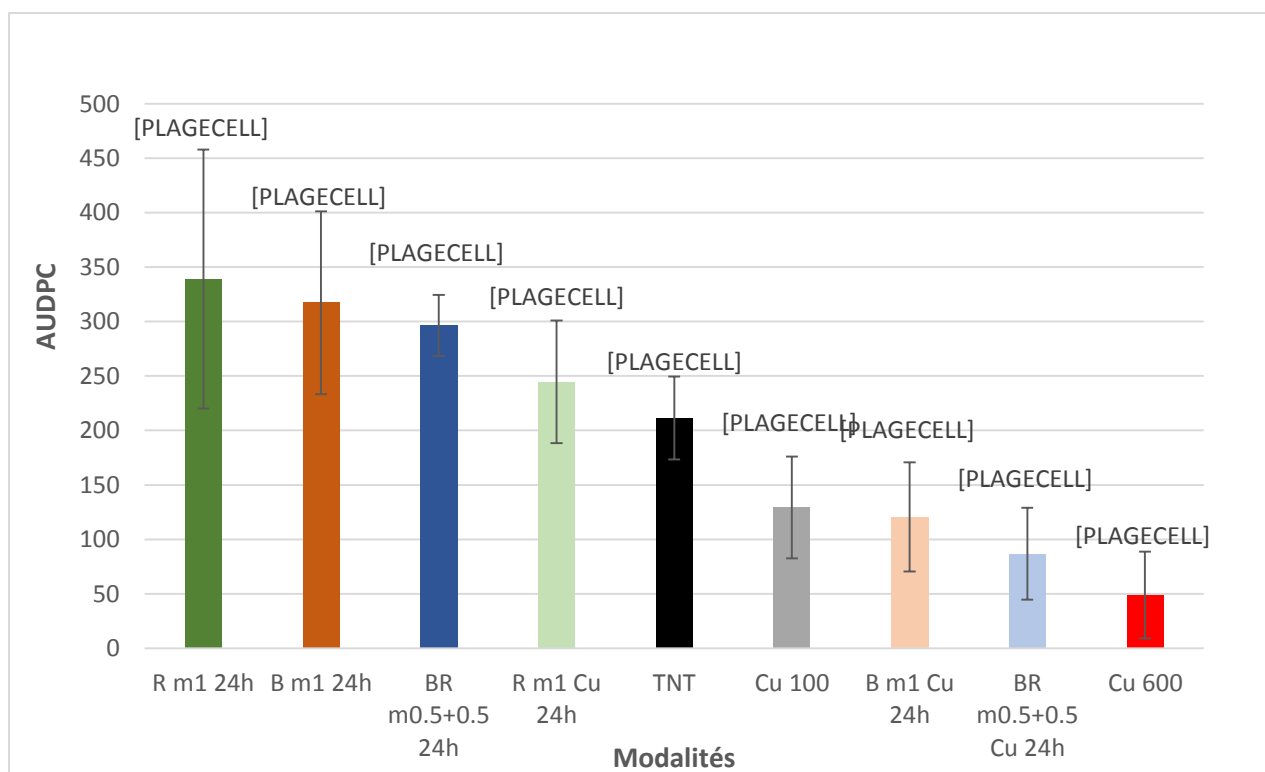


Figure 7 : AUDPC d'intensité d'attaque de mildiou pour les modalités avec et sans cuivre à faible dose, lors d'une macération, tous cépages confondus (a,b,c,d : groupes homogènes selon le test de Kruskal Wallis au seuil de 5 % ; intervalles de confiance à 95%)

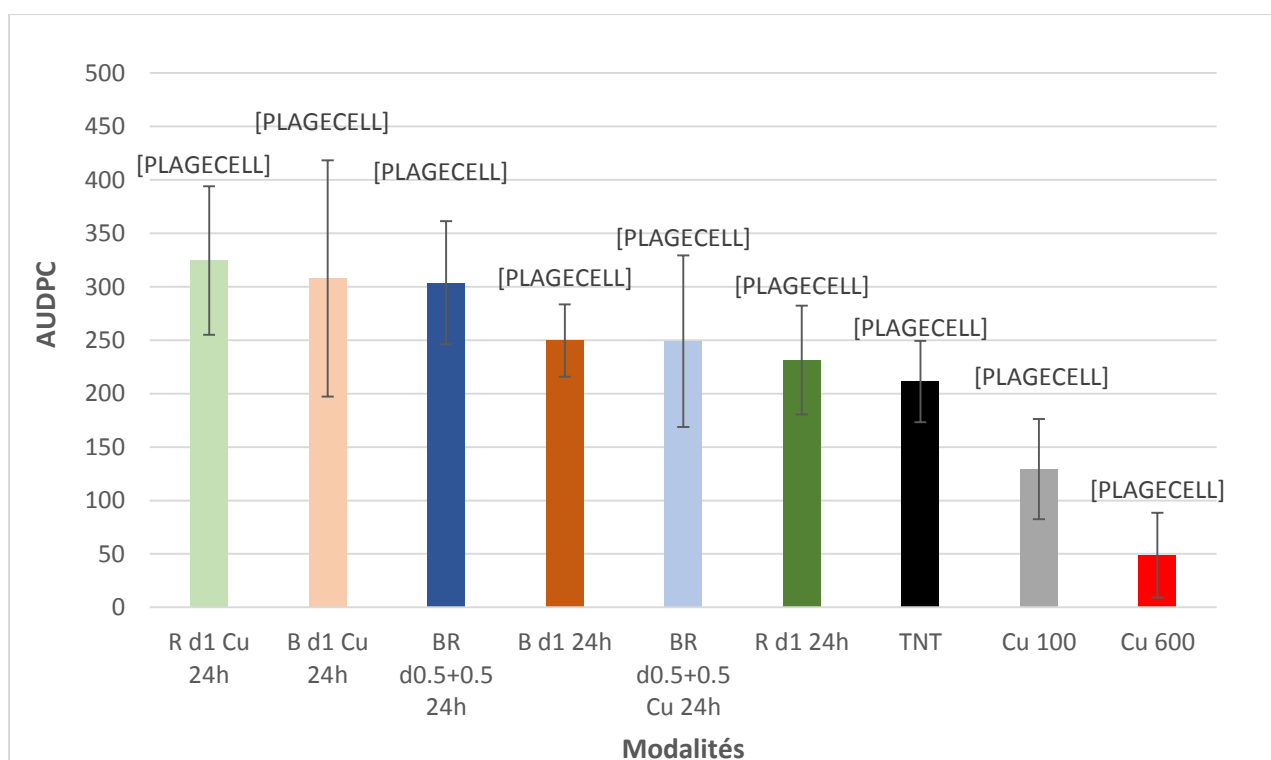


Figure 8 : AUDPC d'intensité d'attaque de mildiou pour les modalités avec et sans cuivre à faible dose, lors d'une décoction, tous cépages confondus (a,b,c : groupes homogènes selon le test de Kruskal Wallis au seuil de 5 % ; intervalles de confiance à 95%)

4.2.2. Etude de l'intensité d'attaque du mildiou

L'effet fongicide du cuivre est ici bien visible pour une macération (figure 12), les modalités avec adjonction de cuivre à faible dose aux plantes ayant une AUDPC significativement inférieure à celle des modalités sans cuivre dans deux cas sur trois (bourdaine et mélange bourdaine rhubarbe). En effet, la modalité « B m1 Cu 24h » possède une AUDPC plus de deux fois inférieure à « B m1 24h », et même plus de trois fois inférieure pour le cas du mélange bourdaine rhubarbe.

A l'inverse, cette action du cuivre ne semble pas se vérifier lors d'une décoction (figure 13). Les modalités comportant du cuivre à faible dose ont une AUDPC plus élevée que celles sans cuivre, ce qui n'est pas explicable de façon logique, le cuivre étant ajouté à la solution des extraits de plantes après la phase de chauffage et extraction. Cependant, les analyses statistiques n'ont montré aucune différence significative entre les paires de modalités avec et sans cuivre.

On s'intéresse à présent à l'effet synergique entre le cuivre et les extraits de plantes. Dans le cas de la macération de plantes, les AUDPC des modalités « B m1 Cu 24h » et « BR m 0,5+0,5 Cu 24h » montrent une AUDPC proche ou légèrement inférieure à celle du cuivre à 100 g/ha, alors que l'AUDPC de la modalité « R m1 Cu 24h » est plus élevée (figure 12). L'effet synergique semble donc se confirmer pour la bourdaine et le mélange bourdaine rhubarbe, bien que ce ne soit qu'une tendance, les résultats n'ayant montré aucune différence significative entre le cuivre à 100 g/ha et les modalités de plantes couplées à du cuivre faible dose.

En ce qui concerne la décoction (figure 13), toutes les modalités associant plantes et cuivre faible dose possèdent une AUDPC plus importante que celle du cuivre à 100 g/ha, de façon significative ou pas, ce qui rejoint les résultats anormaux de l'effet du cuivre pour le cas de la décoction.

Ainsi, l'association de bourdaine à 1 g/l et de cuivre à 100 g/ha ou d'un mélange bourdaine rhubarbe à 0,5 g/l chacune et de cuivre à 100 g/ha montrent des résultats qui paraissent aller dans le sens de H1, à la fois pour l'intensité et la fréquence d'attaque : les AUDPC d'intensité et de fréquence de ces deux modalités sont inférieures ou égales à celle du cuivre à 100 g/ha seul, bien que non significatives, et uniquement lors d'une macération.

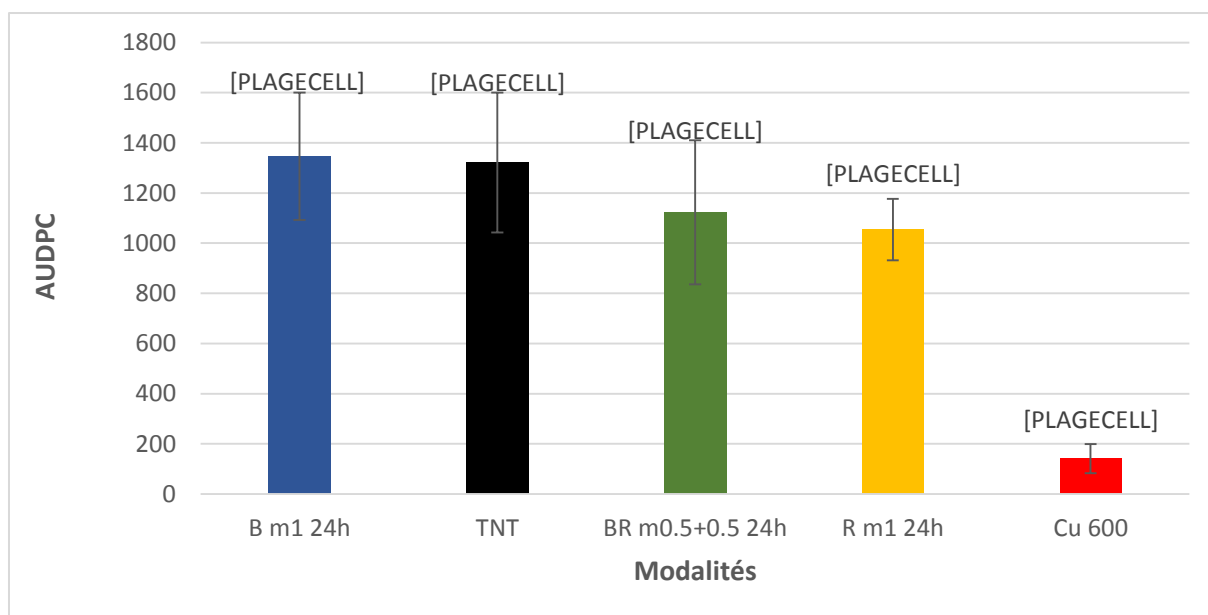


Figure 9 : AUDPC de fréquence d'attaque de mildiou pour les modalités de bourdaine et rhubarbe seules et pour la modalité mélange de plantes, lors d'une macération, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

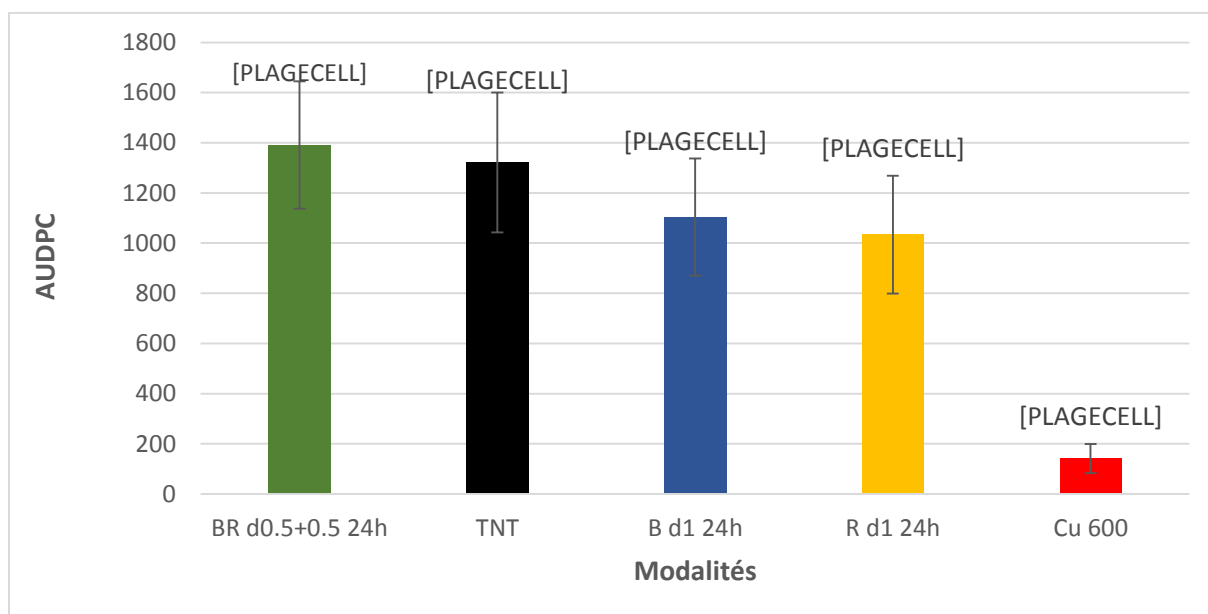


Figure 10 : AUDPC de fréquence d'attaque de mildiou pour les modalités de bourdaine et rhubarbe seules et pour la modalité mélange de plantes, lors d'une décoction, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

4.1.Comparaison effet des extraits de plantes seules et du mélange de plantes

Les résultats présentés dans ce point ont pour objectif de vérifier l'hypothèse H2, à savoir que l'association de bourdaine et de rhubarbe est plus efficace que l'application d'un des deux extraits de plantes.

4.1.1. Etude de la fréquence d'attaque du mildiou

Que ce soit dans le cas de la macération (figure 14) ou de la décoction (figure 15), l'AUDPC d'intensité d'attaque du mélange bourdaine rhubarbe (« BR m 0,5+0,5 24h ») ne peut pas significativement être distinguée de celles obtenues pour la rhubarbe seule (« R m1 24h ») ou la bourdaine seule (« B m1 24h »). En observant les tendances données par les graphiques, il semble que la valeur d'AUDPC de la modalité « BR m 0,5+0,5 24h » fluctue entre celles des deux extraits de plantes seules pour la macération, respectivement de 1054 pour « R m1 24h » et 1347 pour « B m1 24h ». Elle suggère même une efficacité inférieure du mélange de plantes par rapport aux extraits de bourdaine et rhubarbe isolés, avec la valeur maximale pour les modalités testées lors d'une décoction (1391).

De plus, l'AUDPC de chacune de ces trois modalités est significativement identique à celle de la modalité témoin (TNT), qui n'a reçu aucun traitement préventif contre le mildiou, que ce soit à base de plantes ou de cuivre. En revanche, la modalité cuivre à 600 g/ha (Cu 600) montre bien une diminution significative de l'AUDPC d'intensité d'attaque à 142, contre 1391 pour la modalité ayant la valeur la plus haute, « BR d 0,5+0,5 24h ».

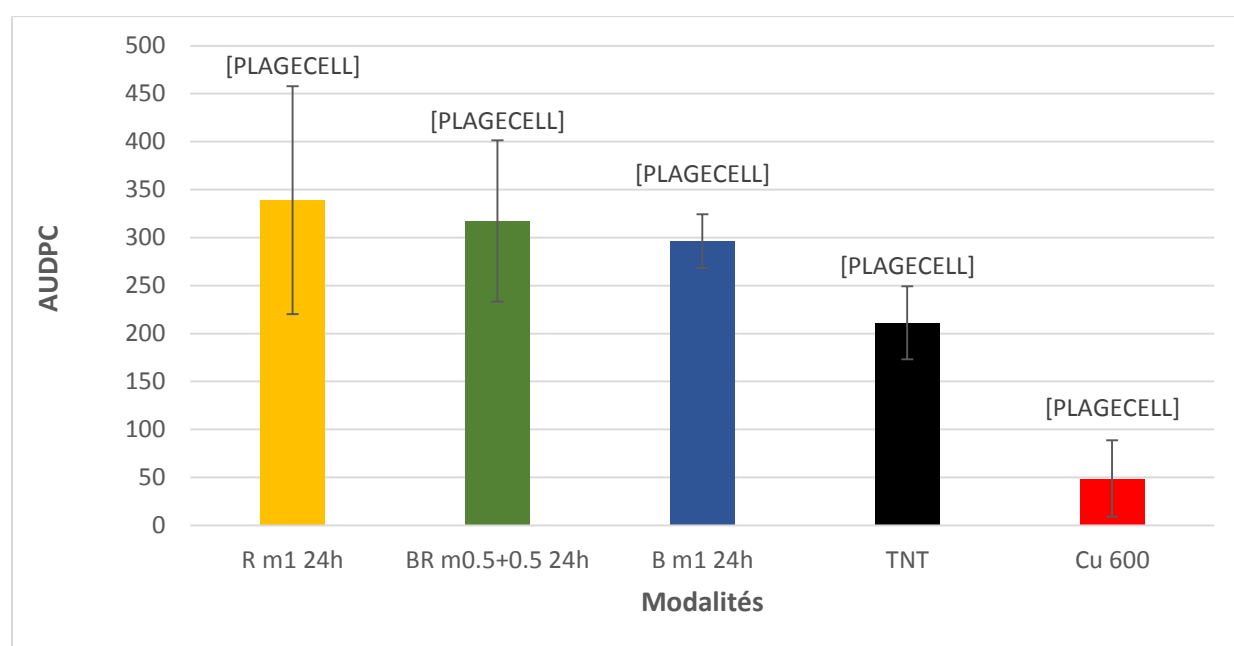


Figure 16 : AUDPC d'intensité d'attaque de mildiou pour les modalités de bourdaine et rhubarbe seules et pour la modalité mélange de plantes, lors d'une macération, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

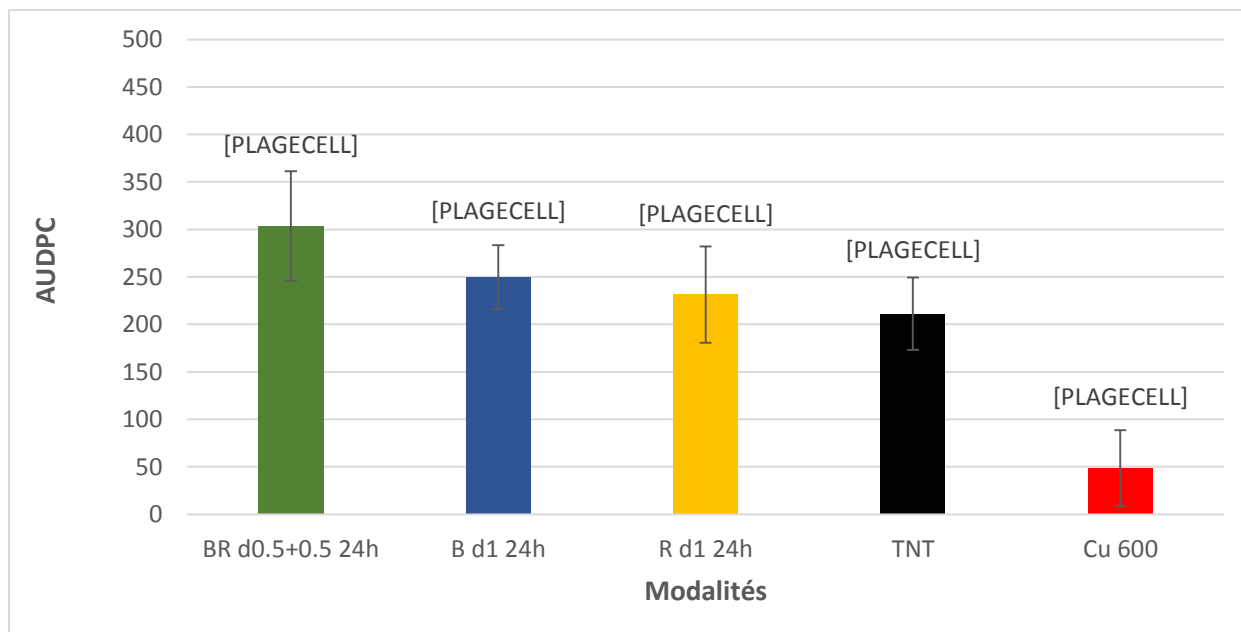


Figure 11 : AUDPC d'intensité d'attaque de mildiou pour les modalités de bourdaine et rhubarbe seules et pour la modalité mélange de plantes, lors d'une décoction, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

4.1.2. Etude de l'intensité d'attaque du mildiou

Que ce soit dans le cas de la macération (figure 16) ou de la décoction (figure 17), l'AUDPC d'intensité d'attaque du mélange bourdaine rhubarbe ne peut pas significativement être distinguée de celles obtenues pour la rhubarbe seule ou la bourdaine seule. Pour la décoction, on constate même que l'AUDPC de « BR d 0,5+0,5 24h » a tendance à être plus élevée (304) que l'AUDPC de la modalité « B d1 24h » (250) ou de la modalité « R d1 24h » (231), ce qui va à l'encontre de H2, car une AUDPC plus forte .

De plus, l'AUDPC de chacune de ces trois modalités est significativement identique à celle de la modalité témoin (TNT), qui n'a reçu aucun traitement préventif contre le mildiou, que ce soit à base de plantes ou de cuivre. En revanche, la modalité cuivre à 600 g/ha (Cu 600) montre bien une diminution significative de l'AUDPC d'intensité d'attaque à 50, contre 339 pour la modalité ayant la valeur la plus haute, « R m1 24h ».

L'association des deux plantes, bourdaine et rhubarbe, à hauteur de 0,5 g/l chacune, ne montre donc pas plus d'efficacité que l'application d'extraits de plantes seules à 1 g/l quant à la diminution de l'attaque de mildiou sur les feuilles des plants de l'essai. On a observé en moyenne autant de feuilles touchées par la maladie et avec une intensité similaire pour les trois types de préparations pulvérisées dans le but de prévenir l'apparition du mildiou et ralentir sa progression. H2 n'est donc pas vérifiée dans cet essai. Une quantité de plantes plus élevée dans le mélange, 1 g/l pour chacune, comme pour les modalités de bourdaine et rhubarbe seules, aurait peut-être donné des résultats plus probants, avec par exemple des feuilles moins sévèrement atteintes par le mildiou.

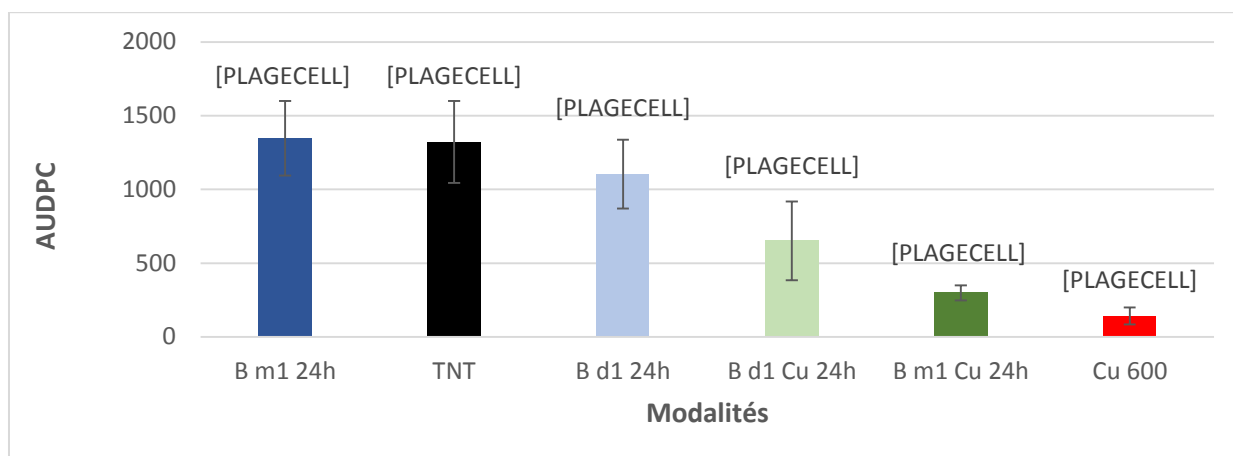


Figure 12 : AUDPC de fréquence d'attaque de mildiou pour les modalités de décoction et de macération, lors de l'application de bourdaine, tous cépages confondus (a,b,c : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

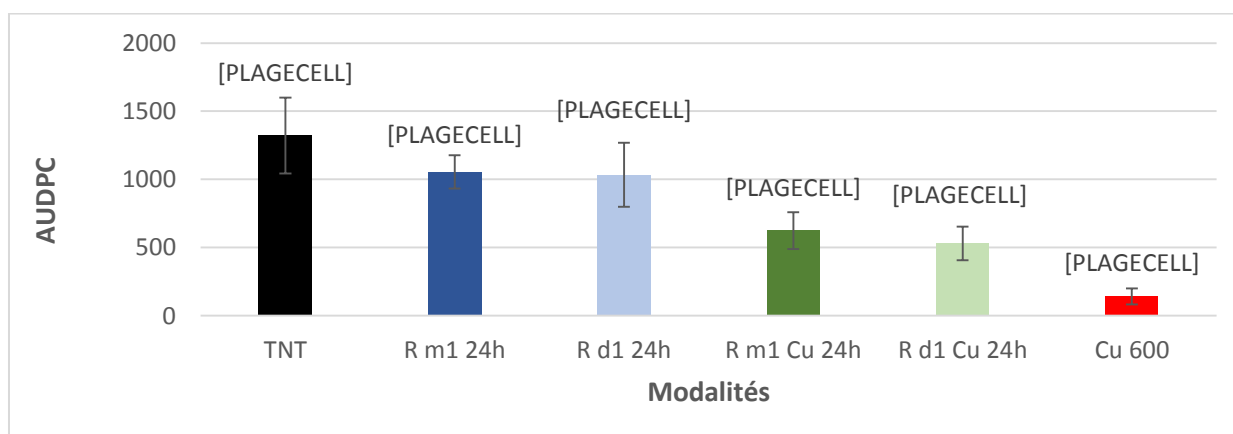


Figure 13 : AUDPC de fréquence d'attaque de mildiou pour les modalités de décoction et de macération, lors de l'application de rhubarbe, tous cépages confondus (a,b,c : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

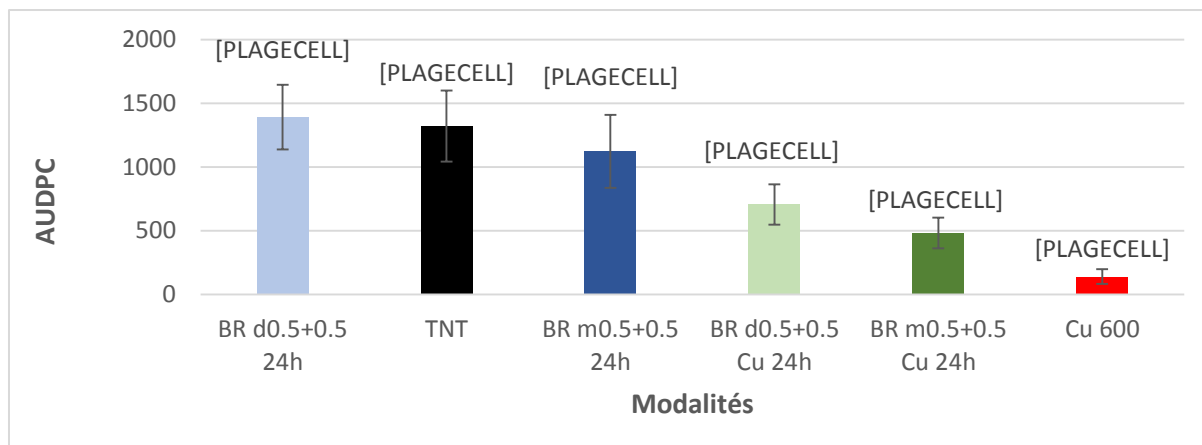


Figure 14 : AUDPC de fréquence d'attaque de mildiou pour les modalités de décoction et de macération, lors de l'application du mélange de plantes, tous cépages confondus (a,b,c : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

4.2. Comparaison effet de la décoction et de la macération

Les résultats présentés dans ce point ont pour objectif de vérifier l'hypothèse H3, à savoir que l'application de solutions de plantes issues de décoction est plus efficace que celles issues de macération, la décoction étant supposée entraîner un meilleur effet éliciteur des défenses naturelles de la vigne.

4.2.1. Etude de la fréquence d'attaque du mildiou

Les analyses statistiques sur les résultats d'AUDPC ne montrent pas de différence significative entre les modalités issues de macération et de décoction, que ce soit pour la bourdaine, la rhubarbe ou le mélange de plantes. Néanmoins, il est possible de dégager des tendances, afin de regarder si ces résultats semblent aller dans le sens de H3.

En s'intéressant aux modalités issues de décoction, on remarque que l'AUDPC semble plus faible ou similaire dans le cas de la bourdaine et la rhubarbe, mettant en évidence une meilleure efficacité relative de ce mode d'extraction dans la lutte contre le mildiou. En effet, la modalité « B d1 24h » possède une AUDPC de 1104 contre 1347 pour « B m1 24h » (figure 18). De même, la modalité « R d1 24h » montre une AUDPC légèrement inférieure à celle de « R m1 24h » avec 1033 contre 1054 (figure 19). Au contraire, le mélange de plantes met en avant un meilleur effet de la macération sur la fréquence d'attaque, avec une AUDPC de 1123 pour « BR m 0,5+0,5 24h » par rapport à la décoction (« BR d 0,5+0,5 24h »), qui possède une AUDPC de 1391 (figure 20).

En revanche, lorsqu'on considère les mêmes modalités mais additionnées de cuivre à faible dose, la tendance s'inverse globalement, bien que les différences entre couples de modalités macération/décoction soient une fois de plus non significatives : dans le cas de la bourdaine, on observe en effet une AUDPC de 298 pour « B m1 Cu 24h », donc plus faible que celle de « B d1 Cu 24h » à 651 (figure 18). Ce phénomène reste pour l'instant inexpliqué.

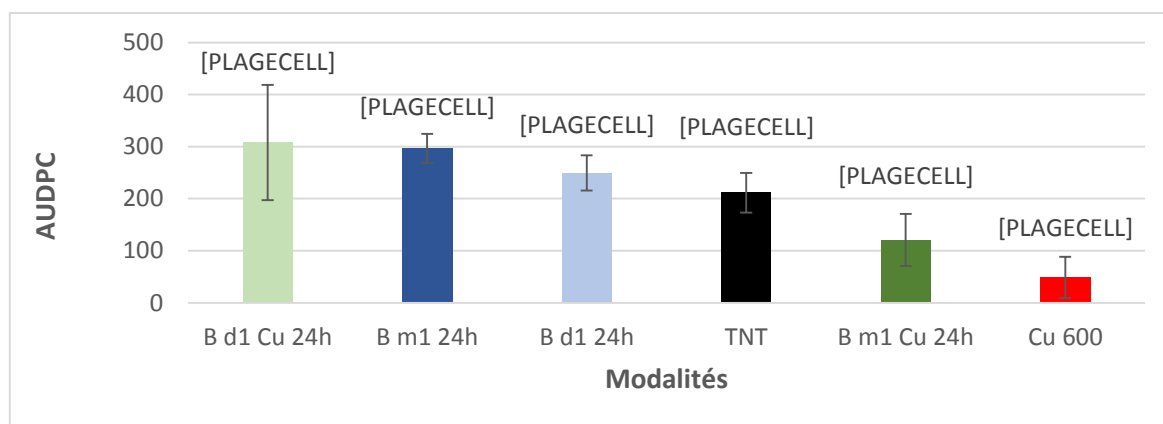


Figure 15 : AUDPC d'intensité d'attaque de mildiou pour les modalités de décoction et de macération, lors de l'application de bourdaine, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

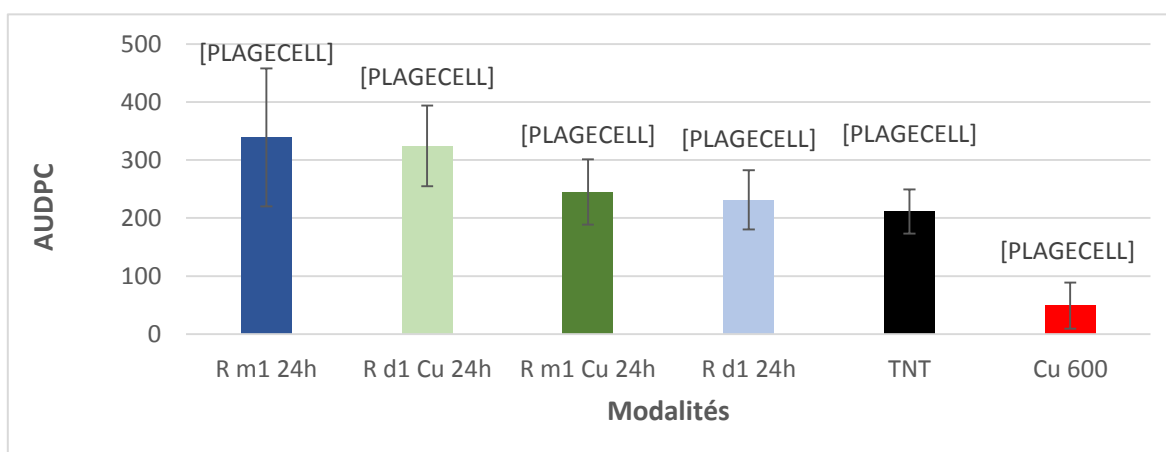


Figure 16 : AUDPC d'intensité d'attaque de mildiou pour les modalités de décoction et de macération, lors de l'application de rhubarbe, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Kruskal Wallis au seuil de 5 % ; intervalles de confiance à 95%)

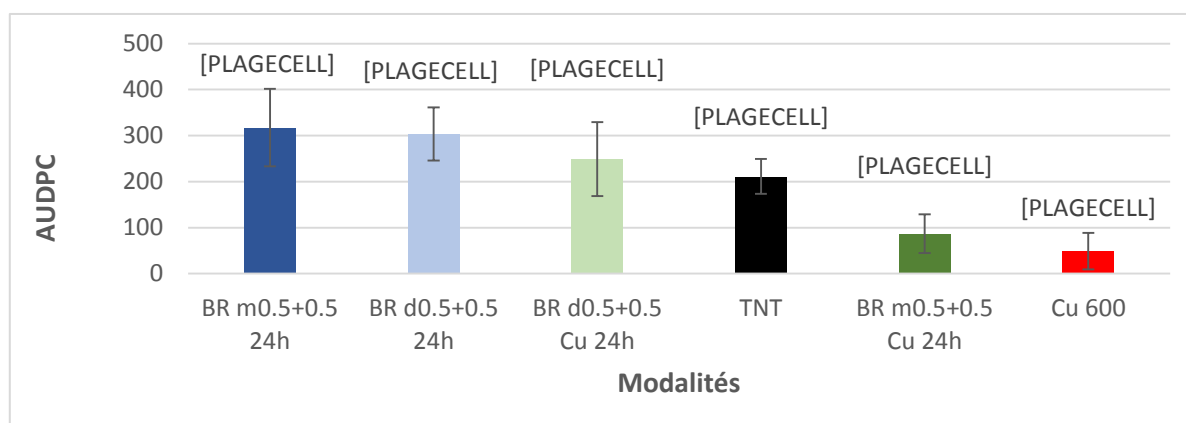


Figure 17 : AUDPC d'intensité d'attaque de mildiou pour les modalités de décoction et de macération, lors de l'application du mélange de plantes, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

4.2.2. Etude de l'intensité d'attaque du mildiou

Les analyses statistiques sur les observations ne montrent pas de différence significative entre les modalités issues de macération et de décoction, quels que soit la plante ou mélange de plantes considérés. Néanmoins, il est possible de dégager des tendances, à confirmer lors d'essais ultérieurs.

Les modalités issues de décoction semblent mettre en évidence une efficacité supérieure par rapport à l'intensité d'attaque du mildiou, avec des AUDPC en fin d'essai plus faibles que celles des modalités issues de macération. En effet, l'AUDPC de la modalité « B d1 24h » est de 250 alors que celle de la modalité « B m1 24h » est plus élevée avec 296 (figure 21). L'écart est encore plus important pour les modalités à base de rhubarbe : 231 pour « R d1 24h » contre 339 pour « R m1 24h » (figure 22). En revanche, le mode d'extraction ne paraît pas influencer sur l'intensité d'attaque du mildiou pour les modalités contenant à la fois de la bourdaine et de la rhubarbe : l'AUDPC est de 304 pour la décoction et de 317 pour la macération (figure 23).

Lorsqu'on considère les comparaisons entre les mêmes modalités mais additionnées cette fois-ci de cuivre à faible dose, la tendance s'inverse : on observe une AUDPC d'intensité d'attaque du mildiou plus faible pour les modalités issues de macération, sans qu'on puisse là encore expliquer ce phénomène.

Les modalités réalisées à partir de décoction de plantes semblent donc engendrer une baisse de l'intensité et de la fréquence d'attaque du mildiou sur les feuilles de Muscat et Grenache : celles-ci sont moins touchées et de façon moins sévère par rapport à celles ayant reçu un traitement préventif issu de macération de plantes, au moins lorsque les solutions pulvérisées contiennent soit de la bourdaine seule, soit de la rhubarbe seule, et non additionnées de cuivre. L'hypothèse H3 est donc partiellement vérifiée, bien que les résultats ne soient pas significatifs.

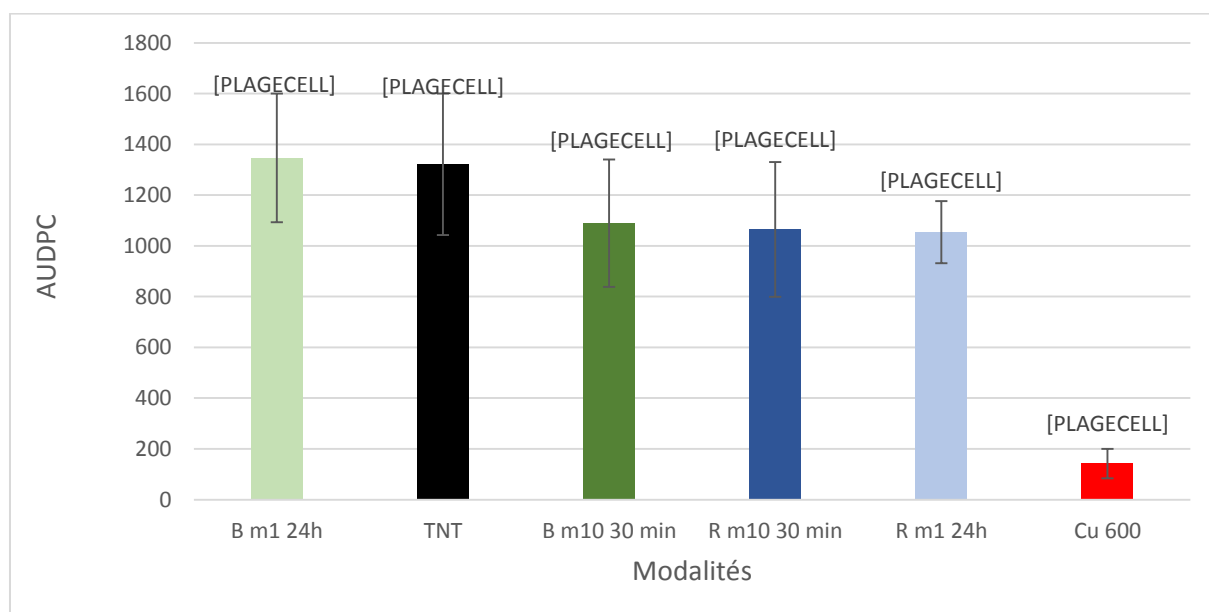


Figure 18 : AUDPC de fréquence d'attaque de mildiou pour les modalités de macération de 30 min à 10 g/l versus 24h à 1 g /l, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

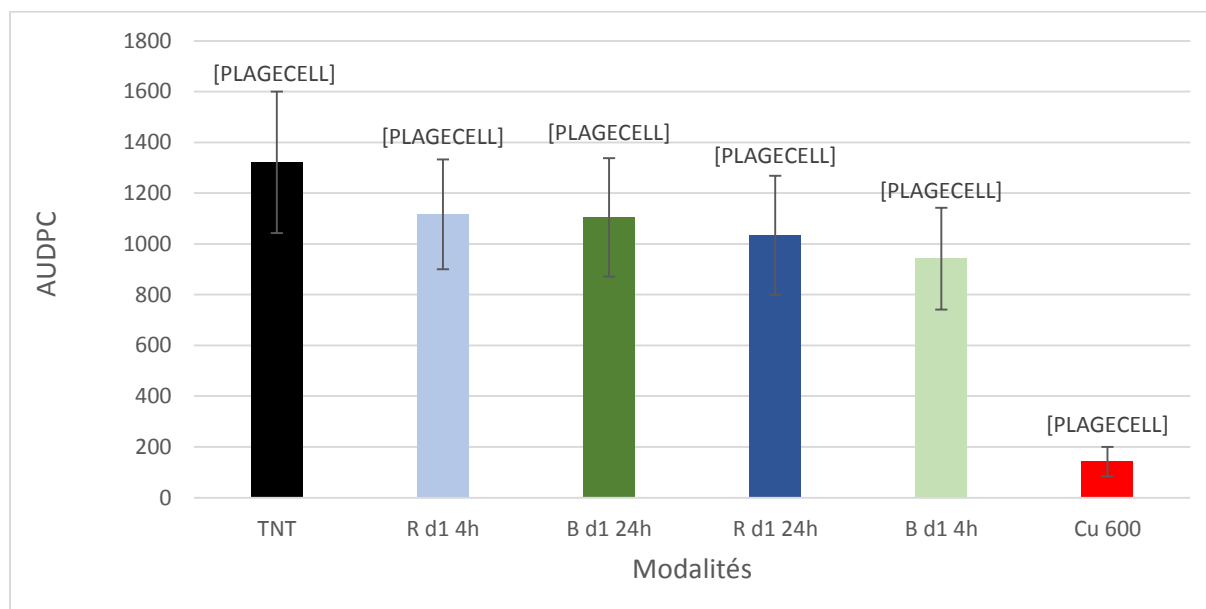


Figure 19 : AUDPC de fréquence d'attaque de mildiou pour les modalités de décoction de 4h versus 24h, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Tukey au seuil de 5 % précédé d'une Anova ; intervalles de confiance à 95%)

4.3. Relation temps de préparation et quantité de plantes utilisées

Les résultats présentés dans ce point ont pour objectif de vérifier l'hypothèse H4, à savoir que l'efficacité des extraits de plantes est renforcée si on diminue la quantité de plantes tout en augmentant le temps d'extraction des plantes.

4.3.1. Etude de la fréquence d'attaque du mildiou

Pour les solutions préparées à partir de rhubarbe, on constate une efficacité similaire de la modalité « R m1 24h » et de la modalité « R m10 30 min », avec des AUDPC respectives de 1054 et 1064 (figure 24). Les pieds de vigne ayant reçu un traitement où une petite quantité de rhubarbe a macéré (1 g/l) mais durant un temps plus long (24h) semblent donc être moins atteints, par rapport à ceux ayant reçu une quantité dix fois supérieure pendant un temps de macération plus court (30 min).

Concernant les modalités contenant de la bourdaine, on assiste au contraire à une meilleure efficacité d'une quantité de plantes importante pour un temps d'extraction réduit sur la fréquence d'attaque du mildiou : une macération de 30 minutes à 10 g/l paraît engendrer une AUDPC inférieure à celle obtenue pour la modalité de macération de 24h à 1 g/l : 1049 pour « B m10 30 min » contre 1347 pour « B m1 24h » (figure 24). Cependant, toutes les modalités sont similaires au regard des analyses statistiques, et ne diffèrent pas du TNT.

Dans le cas de l'indicateur d'observation du mildiou fréquence d'attaque, H4 ne semble pas se vérifier. Cependant, en utilisant une quantité de rhubarbe d'1 g/l au lieu de 10 g/l et en mettant en place un temps d'extraction plus long (24h au lieu de 30 min), on obtient

une efficacité environ égale entre ces deux combinaisons de temps de préparation et de quantité de plantes utilisées. Ceci constitue déjà un progrès dans la diminution des quantités de plantes nécessaires pour préparer les solutions pulvérisées en préventif sur les feuilles de vigne afin de lutter contre le mildiou.

Afin de voir si c'est bien la modulation simultanée des deux facteurs temps de préparation et quantité de plantes utilisées et non de l'un d'entre eux seulement qui a un effet sur l'intensité d'attaque du mildiou, nous avons choisi de ne faire varier que le facteur temps tout en conservant les autres facteurs identiques (figure 25).

Par manque de place sous l'ombrière pour tester plus de 19 modalités, nous avons dû travailler à partir des résultats de décoctions et non de macérations, de même qu'avec des temps de préparation différents (24h et 4h). Ce ne sont donc pas exactement les mêmes conditions que pour vérifier la relation entre temps de préparation et quantité de plantes utilisées, mais cela permet déjà d'avoir un premier aperçu. On peut ainsi se rendre compte que les mêmes tendances sont observables pour les deux plantes utilisées en décoction, par rapport aux résultats visant à vérifier H4. En effet, un temps de préparation prolongé pour la rhubarbe semble induire une fréquence d'attaque moindre : l'AUDPC de la modalité « R d1 24h » n'est que de 1033 par rapport à celle de « R d1 4h » à 1117 (figure 25). Dans le cas de la bourdaine, seul un temps de préparation de 4h paraît suffire pour freiner la fréquence d'attaque.

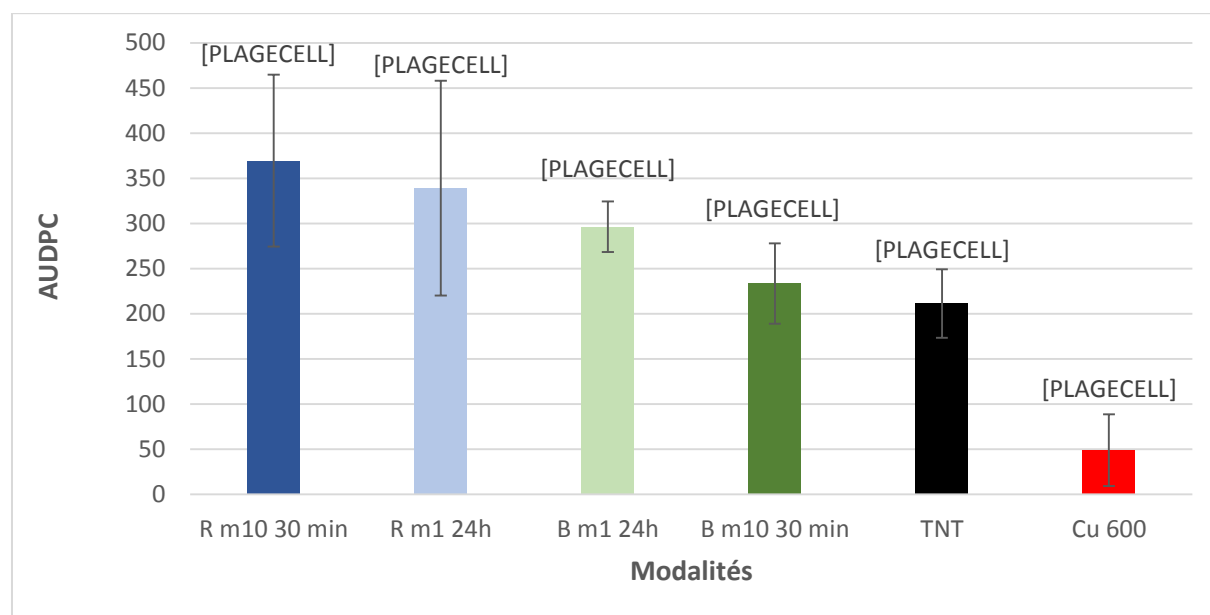


Figure 20 : AUDPC d'intensité d'attaque de mildiou pour les modalités de macération de 30 min à 10 g/l versus 24h à 1 g /l, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Kruskal Wallis au seuil de 5 % ; intervalles de confiance à 95%)

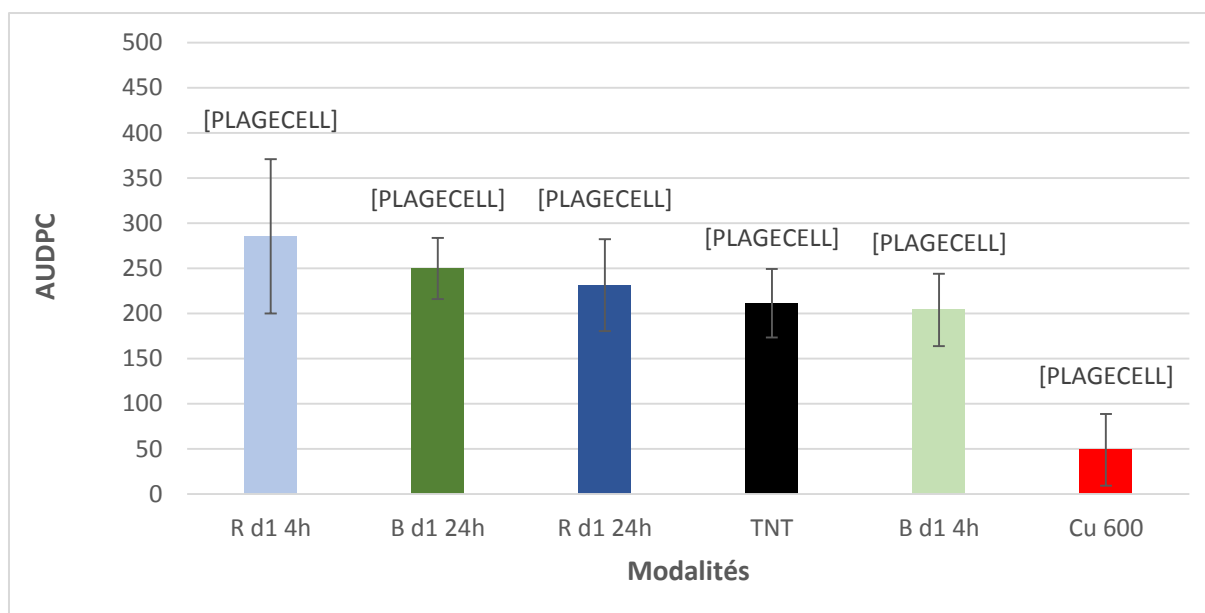


Figure 21 : AUDPC d'intensité d'attaque de mildiou pour les modalités de décoction de 4h versus 24h, tous cépages confondus (a,b : groupes homogènes selon le test de Kruskal Wallis au seuil de 5 % ; intervalles de confiance à 95%)

4.3.2. Etude de l'intensité d'attaque du mildiou

Pour les solutions préparées à partir de rhubarbe, on constate une meilleure efficacité de la modalité « R m1 24h » comparée à la modalité « R m10 30 min », avec une AUDPC plus faible (figure 26). L'intensité d'attaque du mildiou serait donc moindre sur les pieds de vigne ayant reçu un traitement où une petite quantité de rhubarbe a macéré (1 g/l) mais durant plus longtemps (24h), par rapport à une quantité dix fois supérieure pendant un temps de macération plus court (30 min).

Du côté des modalités contenant de la bourdaine, c'est l'effet inverse qui semble s'être produit : une macération de 30 minutes à 10 g/l paraît engendrer une AUDPC inférieure à celle obtenue pour la modalité de macération de 24h à 1 g/l : 233 pour « B m10 30 min » contre 296 pour « B m1 24h ». Cependant, toutes les modalités sont identiques au regard des analyses statistiques, et ne diffèrent pas du TNT.

Contrairement à la fréquence, on assiste ici à une vérification partielle de H4 sur la base de tendances : diminuer la quantité de plantes utilisées pour préparer les solutions pulvérisées sur les feuilles de Muscat et Grenache tout en augmentant leur temps d'extraction atténuerait l'intensité d'attaque du mildiou, au moins en ce qui concerne la rhubarbe.

Le même test sur l'influence du temps de préparation est mis en place pour analyser les résultats d'AUDPC d'intensité : seul le facteur temps varie tout en conservant les autres facteurs identiques (figure 27).

Par manque de place sous l'ombrière pour tester plus de 19 modalités, nous avons dû travailler à partir des résultats de décoctions et non de macérations, de même que les temps de préparation diffèrent. Ce ne sont donc pas exactement les mêmes conditions que pour vérifier la relation entre temps de préparation et quantité de plantes utilisées. Néanmoins, on observe les mêmes tendances par plante considérée que pour les résultats visant à vérifier H4, les résultats n'étant pas significatifs. En effet, la modalité « R d1 24h » met en évidence une AUDPC inférieure à celle de « R d1 4h », ce qui signifie qu'une décoction de rhubarbe de 24h limiterait plus efficacement l'intensité d'une attaque de mildiou qu'une décoction de 4h. Pour

la bourdaine, c'est plutôt la modalité « B d1 4h » qui démontre une efficacité supérieure à celle de « B d1 24h » (figure 27).

Au travers des résultats pour l'intensité et la fréquence d'attaque du mildiou, on a pu constater que le facteur temps de préparation est responsable au moins en partie des variations observées au sein des couples temps/quantité testées. Il faudrait maintenant effectuer la même comparaison mais en faisant varier le facteur quantité de plantes utilisées (1g/l ou 10 g/l), afin de voir s'il influe lui aussi sur les résultats obtenus, ce que nous n'avons pas pu mettre en place lors de cet essai, toujours par manque d'espace disponible.

5. Discussion

Cette étude, qui visait à évaluer l'efficacité d'extraits de bourdaine et de rhubarbe en tant qu'alternatives au cuivre dans la lutte contre le mildiou de la vigne, est arrivée à son terme en ne parvenant à vérifier les quatre hypothèses de départ que de façon partielle. Ceci est dû au manque de précision des résultats obtenus, qui n'a pas permis de différencier significativement beaucoup des modalités testées. Cette faible significativité peut s'expliquer par plusieurs points complémentaires.

Tout d'abord au niveau de la mise en place de l'essai, lors de la préparation des solutions de plantes, les temps d'extraction à partir des poudres de plantes n'ont pas été totalement respectés. En effet, afin d'obtenir des solutions fluides, pulvérisables facilement, il est nécessaire dans un premier temps de filtrer les décoctions ou macérations de plantes, qui contiennent encore les poudres de plantes solides en suspension. Cette opération de filtration peut prendre jusqu'à 30 minutes, rallongeant d'autant le temps de contact entre les plantes et l'eau, ce qui permet éventuellement à plus de molécules élicitrices de passer en solution.

De plus, les décoctions ont été effectuées à ébullition pendant une durée de 30 minutes sur la base de la fiche sur les modes opératoires d'extraction des végétaux de Duval Chaboussou & Chabauty de 2013, qui permettrait d'extraire plus de molécules d'intérêt. Cependant, ces molécules élicitrices sont encore trop peu étudiées, on ne sait donc pas si le fait d'en extraire en grande quantité permettrait une meilleure efficacité dans la stimulation des défenses naturelles de la vigne, ou si au contraire il y aurait un effet dose conduisant à un seuil de phytotoxicité. Ceci pourrait expliquer les résultats obtenus quant à l'effet du temps d'extraction des plantes, notamment pour la rhubarbe.

En outre, selon Jean-Baptiste Mazzitelli, de l'Université d'Avignon, même si la décoction permettrait d'extraire plus facilement et rapidement les anthraquinones (comme l'émodyne), censées être les molécules élicitrices majeures produites par la bourdaine et la rhubarbe, celles-ci sont susceptibles de subir une dénaturation à trop haute température. Il faudrait donc déterminer une température d'extraction idéale, basée sur l'analyse des propriétés de ces molécules. Au moment de la mise en place du protocole de l'essai, nous avons voulu réaliser des analyses préalables relatives aux anthraquinones extraites, afin de connaître la concentration relative de chaque molécule dans les solutions obtenues pour chaque modalité, et de tester ces extraits *in vitro* sur des inoculums de *P. viticola* cultivés sur feuilles en boîte de Pétri. Néanmoins, par manque de temps du laboratoire de chimie de l'Université d'Avignon, nous n'avons pas pu effectuer ces analyses. Il serait intéressant de parvenir à les

mettre en place suffisamment tôt lors d'essais ultérieurs, de façon à sélectionner ensuite de manière plus pertinente les modalités à tester dans l'essai.

Un autre facteur pouvant expliquer le peu de résultats significatifs concernerait le mode opératoire-même d'extraction des végétaux. En effet, dans le but de rester dans un mode de préparation relativement simple et facile à mettre en place, notamment pour les viticulteurs en conditions réelles, nous avons choisi de réaliser des extractions aqueuses. Or Aichner & Ganzera (2015) ont mis en évidence une meilleure solubilité des anthraquinones dans des solvants alcooliques comme le méthanol, ce qui suggère qu'il faudrait essayer un autre mode d'extraction, moins « doux », pour les futurs essais, comme les ultrasons ou l'extraction au CO₂ supercritique (Genovese *et al.*, 2009). Il se pose alors la question de l'acceptabilité de ces méthodes en viticulture biologique, le cahier des charges AB ne fournissant pas de réponse à ce sujet à l'heure actuelle.

Ensuite, un second point générateur d'imprécision des résultats concerne le déroulement de la campagne d'observations qui s'est étalée du 10 juillet au 10 août. Nous étions toujours deux observateurs, une personne s'occupant des notations sur 3 rangs. D'une personne à l'autre, il peut y avoir une estimation variable de la maladie, ce qui augmente le risque d'erreur vis-à-vis des moyennes d'intensité et de fréquence d'attaque par modalité par la suite.

De plus, les observations sont restées uniquement visuelles, en prenant en compte les symptômes de la maladie sur les feuilles. Il serait intéressant d'accéder à des résultats au niveau moléculaire, notamment sur la nature et la quantité de stilbènes produits en réponse à l'inoculation de *P. viticola*. Des prélèvements de feuilles de vigne sont réalisés 48h après l'inoculation, suivis d'une chromatographie en phase liquide (Pezet *et al.*, 2004a). Cependant, ce n'est pas l'objectif premier du GRAB, qui reste sur des observations très pratiques, liées à l'aspect économique de la production. Pour effectuer ces analyses plus poussées, il faudrait que le GRAB s'associe à un laboratoire de recherche, qui s'intéresserait aussi au mode d'action de la bourdaine et la rhubarbe.

L'analyse des résultats a nécessité l'utilisation de tests statistiques comme le test de Tukey ou de Kruskal Wallis, qui permettent d'accepter ou non une hypothèse nulle avec un certain risque de première espèce, ce seuil étant défini généralement à 5 %, comme dans notre essai. Toutefois, ces tests n'ont souvent pas permis de différencier de façon significative deux modalités ou plus entre elles, avec des intervalles de confiance très importants. Cette non-significativité entre deux modalités ne permet pas de conclure que les modalités ont un effet identique, mais seulement que les écarts entre les AUDPC de celles-ci sont probablement inférieurs à 5 %. Il faudrait alors refaire les tests statistiques mais en prenant en compte un seuil plus grand comme 10 %.

En se penchant sur la différence de réponse entre les deux cépages, nous avons vu que le Grenache paraissait plus sensible au mildiou que le Muscat, autant en intensité qu'en fréquence d'attaque. Etudier séparément les résultats de chaque cépage permettrait d'avoir de meilleurs résultats, sous réserve de ne pas avoir une variabilité inter-blocs trop importante pour les trois rangs de chaque cépage. Dans le but d'améliorer la précision des résultats, il serait peut-être même préférable de se concentrer sur un seul cépage, avec moins de modalités et plus de répétitions par modalité.

Enfin, en ce qui concerne les conditions climatiques, celles-ci n'ont pas été très favorables au développement du mildiou cette année, malgré une aspersion des plants toutes les 30 minutes pour conserver une hygrométrie importante nécessaire à l'implantation et la croissance de *P. viticola*. En effet, Avignon a connu plusieurs pics caniculaires au cours de l'été, avec des températures maximales extrêmes atteignant les 40,7 °C le 4 août, et dépassant presque tous les jours les 30°C, accompagné d'un Mistral pouvant souffler jusqu'à 75 km/h

(Infoclimat, 2017). Or d'après Dubos (1999), les zoospores de *P. viticola* ne peuvent plus germer au-delà de 30°C, empêchant le développement de l'oomycète. Ces conditions justifient les faibles intensités et fréquences d'attaque du mildiou quelle que soit la modalité considérée (annexes 7 et 8). Après une phase de progression, l'intensité a atteint un pic à 21 % et la fréquence à 68 %, puis elles ont diminué pour rapidement stagner entre 5 et 10 % pour l'intensité, et entre 20 et 30 % pour la fréquence. Cette stabilisation durant la seconde moitié de l'essai est probablement due au ratio stable entre le nombre de feuilles très touchées par la maladie qui tombaient et les nouvelles feuilles atteintes suite à la croissance des apex. En effet, un apport d'engrais azoté a été effectué le 26 juillet pour palier le jaunissement des feuilles, qui se recroquevillaient et commençaient à nécroser. Cette fertilisation azotée est connue pour favoriser la sensibilité des jeunes tissus à l'oomycète.

On peut supposer que les faibles intensités et fréquences d'attaque sont aussi en partie à attribuer aux conditions de culture des pieds de vigne. La culture en pots imposé par les conditions semi-contrôlées de l'essai limite les ressources en éléments nutritifs pour les pieds de vigne, le substrat n'étant peut-être pas suffisamment nutritif. *P. viticola* ne trouve ainsi pas le support suffisamment approvisionné en nutriments pour se développer.

Il faudrait poursuivre les essais en plein champ, ce qui permettrait aussi d'observer les symptômes sur grappe, témoins d'une attaque de mildiou plus grave. Grâce au phénomène de double élicitation, la stimulation des défenses naturelles de la vigne serait d'autant plus efficace que l'agent pathogène est virulent, bien que cette double-élicitation n'ait pas été validée en ce qui concerne *P. viticola*.

Conclusion

Au cours de cette étude portant sur l'efficacité de deux extraits végétaux (bourdaine et rhubarbe) en tant qu'alternative naturelle au cuivre, fongicide le plus utilisé et efficace en viticulture biologique pour lutter contre le mildiou de la vigne, des résultats mitigés ont été obtenus. Les postulats servant de bases aux hypothèses de départ, inspirés des résultats de l'essai de l'an dernier, n'ont pas été concrétisés.

Cependant, des tendances, bien que non significatives, ont pu être dégagées quant aux quatre hypothèses formulées. Le cuivre à 600 g/ha reste néanmoins de loin la modalité la plus efficace, inhibant le développement de *P. viticola* sur les feuilles de vigne.

L'association de bourdaine à hauteur de 1 g/l en macération pendant 24h et de cuivre faible dose à 100 g/ha a montré une efficacité intéressante dans la lutte contre le mildiou, avec une AUPDC finale relativement faible pour l'intensité et la fréquence, similaire à celle du cuivre appliqué à 100 g/ha ou même à celle de la référence haute de cuivre à 600 g/ha. Le mélange de bourdaine à 0,5 g/l et de rhubarbe à 0,5 g/l également associé à du cuivre en macération pendant 24h tend vers la même efficacité. En revanche, le fait de combiner de la bourdaine et de la rhubarbe n'améliore pas l'efficacité des plantes seules comme on pouvait le penser, ou du moins pas à la concentration de 0,5 g/l par plante du mélange.

On cherchait de plus à diminuer les quantités de plantes nécessaires pour préparer les solutions pulvérisées en préventif sur les feuilles de vigne, par le biais de l'augmentation du temps d'extraction des molécules élicitrices des plantes. On a pu constater qu'en utilisant une quantité de rhubarbe d'1 g/l au lieu de 10 g/l et un mettant en place un temps d'extraction plus long (24h au lieu de 30 min), on obtient une efficacité environ égale ou plus importante entre ces deux combinaisons de temps de préparation et de quantité de plantes utilisées.

En régions méridionales comme à Avignon, les attaques de mildiou spontanées en plein champ restent relativement peu virulentes et tardives, grâce aux climats sec et venteux. Afin d'obtenir des résultats plus interprétables et pertinents, il faudrait envisager de réitérer cet essai dans des régions septentrionales comme la Bourgogne ou la Loire, beaucoup plus confrontées au mildiou. Tester moins de modalités et mettre en place plus de répétitions par modalité serait aussi judicieux pour diminuer les intervalles de confiance.

De plus, il faudrait passer à un autre mode d'extraction des anthraquinones afin d'améliorer l'efficacité des extraits de plantes, par solvant alcoolique, par ultrasons ou encore par extraction au CO₂ supercritique.

Ainsi, les SDN sont une possibilité d'alternative au cuivre très prometteuse, qui génèrent beaucoup d'attente notamment de la part des viticulteurs mais aussi de tous les agriculteurs, qu'ils soient en agriculture biologique ou plus simplement en agriculture raisonnée. De nombreux produits sont en attente d'homologation en tant que SDN, car il y a peu de produits à base de SDN autorisés en tant que tels sur le marché, et il existe actuellement un flou autour de la dénomination des produits de protection des végétaux : produits de biocontrôle, SDN, biofongicides, biostimulants, NODU verts...