



Essai de lutte contre *Plasmopara viticola*

Marc Chovelon- Grab Avignon

1- OBJECTIF

L'essai mildiou répond à un double objectif : comparer l'efficacité de divers Stimulateurs de Défense Naturelle (SDN) et trouver la date optimale d'application du SDN. Il y a donc deux essais réalisés: un essai "produit" et un essai "date".

2- MATERIEL ET METHODE

2.1 Matériel végétal utilisé

L'essai est réalisé sur des plants de vigne en pots appartenant au Grab et ayant déjà été utilisés pour des expériences antérieures. Le cépage est de l'Alphonse *Lavallée*. Les plants utilisés ont été préalablement taillés, désherbés manuellement puis tuteurés.

2.2 Récupération de l'inoculum

Pour nos essais, nous avons récupéré des feuilles attaquées par le mildiou, en pleine sporulation, dans un essai du SRPV. Les faces inférieures des feuilles sont ensuite "brossées" à l'aide d'un pinceau dans un fond d'eau. L'inoculum est ainsi récupéré. Il est aussi possible de récupérer l'inoculum présent sur la face inférieure à l'aide d'un jet d'eau sous pression. Une autre méthode envisageable consiste à inoculer de jeunes plants de vigne à partir d'inoculum de *Plasmopara viticola* congelé.

3- REALISATION DE L'EXPERIENCE

3.1 Essai produit

- **Produits sélectionnés**

Les modalités de l'essai « produit » sont les suivantes :

- **Extrait de Yucca** (Plante appartenant à la famille des Agavacés, 3,75 l/ha)
- **Tisane de saule**, 5 ml d'une solution mère. (Solution mère : 500g de jeunes feuilles de saule en infusion pendant 40 min dans 10 litres d'eau à 80°C)
- **Cuivre faible dose**, Champ DP à 400 g/ha (150g de Cuivre métal / ha), spécialité à base d'hydroxyde de cuivre (37.5%) commercialisé par Nufarm s.a
- **Cuivre forte dose**, Champ DP à 1,6 kg/ha (600g de Cuivre métal / ha)
- **Témoin**
- **Chitoplant** (5 kg/ha)
- **Chitoplant + cuivre faible dose**
- **Tisane de saule + cuivre faible dose**
- **Extrait de Yucca + cuivre faible dose**

L'acide salicylique contenue dans l'extrait aqueux de saule a été dosé par HPLC avec une détection à 302 nm. Ce dosage donne une concentration de 7 ± 1 mg/litre soit 0.05 mmole/litre.

- **Dispositif expérimental**

Cette expérience a été mise en place sous ombrière selon un dispositif en bloc. Il y a 6 blocs, à l'intérieur de chaque bloc toutes les modalités sont représentées et sont randomisées. Une unité expérimentale est constituée de 2 plants de vigne. Les plants ont été mis en place selon le dispositif généré par le logiciel StatboxPro. Pour chaque bloc, les plants ont été insérés entre deux fils pour éviter les chutes de pots provoquées par le mistral.

plan d'expérience de l'essai « produit »

- **Déroulement de l'expérience**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6	Cu fort b6	Temoin b6	Salix b6	Chitoplant b6	Salix +Cu b6	Yucca b6	Cu faible b6	Chitoplant + Cu b6	Yucca + Cu b6
5	Cu faible b5	Chitoplant + Cu b5	Cu fort b5	Salix +Cu b5	Salix b5	Yucca b5	Chitoplant b5	Temoin b5	Yucca + Cu b5
4	Cu faible b4	Chitoplant + Cu b4	Salix b4	Chitoplant b4	Salix +Cu b4	Temoin b4	Yucca b4	Cu fort b4	Yucca + Cu b4
3	Temoin b3	Yucca + Cu b3	Chitoplant b3	Chitoplant + Cu b3	Salix +Cu b3	Salix b3	Yucca b3	Cu fort b3	Cu faible b3
2	Salix +Cu b2	Salix b2	Cu fort b2	Temoin b2	Chitoplant b2	Yucca b2	Cu faible b2	Chitoplant + Cu b2	Yucca + Cu b2
1	Cu faible b1	Yucca + Cu b1	Yucca b1	Cu fort b1	Chitoplant b1	Salix +Cu b1	Chitoplant + Cu b1	Salix b1	Temoin b1

Les plants ont été traités un à un jusqu'au point de ruissellement. Les plants sont traités à l'aide d'un asperseur manuel (1L). L'inoculation par des spores de *Plasmopara viticola* a été effectuée 4 jours après le traitement; l'inoculum a été récupéré sur un essai mildiou du SRPV. Après inoculation, on déclenche le système d'aspersion, préalablement réglé pour une aspersion de 5 minutes toutes les 45 minutes. Ce système permet d'assurer le développement de la maladie.

3.2 Essai date d'application

- **Modalités de l'essai**

Les modalités de l'essai « date d'application » sont les suivantes :

- **Tisane de saule** (5ml/plant), appliquée **10 jours** avant inoculation
- **Tisane de saule** (5ml/plant), appliquée **8 jours** avant inoculation
- **Tisane de saule** (5ml/plant), appliquée **6 jours** avant inoculation
- **Tisane de saule** (5ml/plant), appliquée **4 jours** avant inoculation
- **Tisane de saule** (5ml/plant), appliquée **2 jours** avant inoculation
- **Cuivre faible dose** (150g de Cuivre métal / ha)
- **Cuivre forte dose** (600g de Cuivre métal / ha)
- **Témoin**

- **Dispositif expérimental**

De même que pour l'essai produit, l'essai a été mis en place sous ombrière selon un dispositif en bloc. Il y a 6 blocs, à l'intérieur de chaque bloc toutes les modalités sont représentées et sont randomisées. Une unité expérimentale est constituée de 1 plant de vigne. Les plants ont été mis en place selon le dispositif généré par le logiciel StatboxPro. Dans cet essai aussi, les plants ont été insérés entre deux fils pour contrecarrer les chutes de pots provoquées par le mistral.

plan d'expérience « date d'application »

	B1	B2	B3	B4	B5	B6
8	Temoin	Cu faible	J - 6	Temoin	Cu fort	J - 10
7	Cu faible	J - 8	J - 10	Cu faible	J - 8	J - 6
6	J - 8	J - 2	J - 4	J - 10	J - 10	J - 8
5	J - 4	Cu fort	Temoin	J - 6	J - 4	Cu fort
4	J - 6	J - 10	Cu fort	J - 8	Cu faible	J - 2
3	J - 10	Temoin	Cu faible	J - 4	J - 6	Cu faible
2	J - 2	J - 6	J - 8	J - 2	Temoin	J - 4
1	Cu fort	J - 4	J - 2	Cu fort	J - 2	Temoin

- **Déroulement de l'expérience**

Les plants ont été traités par la tisane de saule (10ml de solution mère) au moyen d'un pulvérisateur manuel d'une capacité de 1L. Les traitements sont réalisés par séries de 6 plants, 10 jours, 8 jours, 6 jours, 4 jours et 2 jours avant inoculation. Après inoculation, on déclenche le système d'aspersion, préalablement réglé pour une aspersion de 5 minutes toutes les 45 minutes.

4- OBSERVATIONS ET TRAITEMENT DES DONNEES

4.1 Observations et notations

Les notations d'attaque de mildiou se réalisent d'une part sur les jeunes feuilles qui correspondent aux feuilles sorties après le traitement et d'autre part sur les vieilles feuilles qui correspondent aux feuilles traitées. Pour l'essai "produit", 10 jeunes feuilles et 10 vieilles feuilles sont notées par unité expérimentale. Pour l'essai "date", 5 jeunes feuilles et 5 vieilles feuilles sont notées par unité expérimentale. La préférence de ce type de notation à une notation globale « toutes feuilles confondues » s'explique par la volonté de mettre en évidence une éventuelle systémie des produits testés.

Les notations sont effectuées tous les deux à trois jours à partir de la date d'apparition des premiers symptômes. Ainsi, pour l'essai "produits" les notations ont eu lieu entre le 22 juillet et le 22 août ; pour l'essai "date d'application" les notations ont eu lieu entre le 4 et le 22 août.

La notation se fait sur l'intensité d'attaque : pour chaque feuille observée, on estime la surface de feuille attaquée par le mildiou par rapport à la surface totale de la feuille. On obtient alors un pourcentage d'attaque foliaire encore appelé intensité d'attaque. L'estimation se fait soit par rapport à la surface jaunie par le mildiou sur la face supérieure, soit par rapport à la surface de sporulation sur la face inférieure de la feuille ; c'est cette dernière méthode d'estimation qui a été retenue pour notre essai.

4.2 Traitement des données

- **Intensité d'attaque**

Les moyennes d'intensité d'attaque pour chaque modalité sont calculées à chaque date de notation. Ensuite, une courbe d'intensité d'attaque en fonction du temps est tracée pour chaque modalité. Il faut ensuite calculer l'AUDPC "Area Under Disease Progression Curve" de chaque modalité. Cette variable correspond à l'aire située sous la courbe d'intensité d'attaque de mildiou. Ainsi, plus l'AUDPC est élevée, plus l'attaque est importante et donc moins le produit testé est efficace. L'analyse des résultats se fait sur la variable AUDPC grâce à un test de Bonferroni au seuil $\alpha = 5\%$.

- **Fréquence d'attaque**

Les notations faites pour l'intensité d'attaque permettent de calculer une fréquence d'attaque. En effet, pour chaque plant, 10 feuilles sont notées, 5 jeunes feuilles et 5 vieilles feuilles. Pour les feuilles non attaquées, on place un 0 dans la case correspondante à la feuille sur la fiche de notation. La fréquence d'attaque par plant est donnée par le rapport : nombre de feuilles attaquées / total des feuilles contrôlées. La fréquence d'attaque du mildiou par modalité est calculée en faisant la moyenne des fréquences par plants de la modalité. Les comparaisons de fréquences d'attaques entre chaque modalité sont faites grâce à un test de Bonferroni au seuil $\alpha = 5\%$. L'analyse est faite à l'aide du logiciel Statboxpro. Dans le cas où les variances intra-traitement de chaque modalité ne seraient pas égales, celles-ci sont stabilisées par la transformation angulaire de BLISS (CEB, DT n°6).

5- RESULTATS

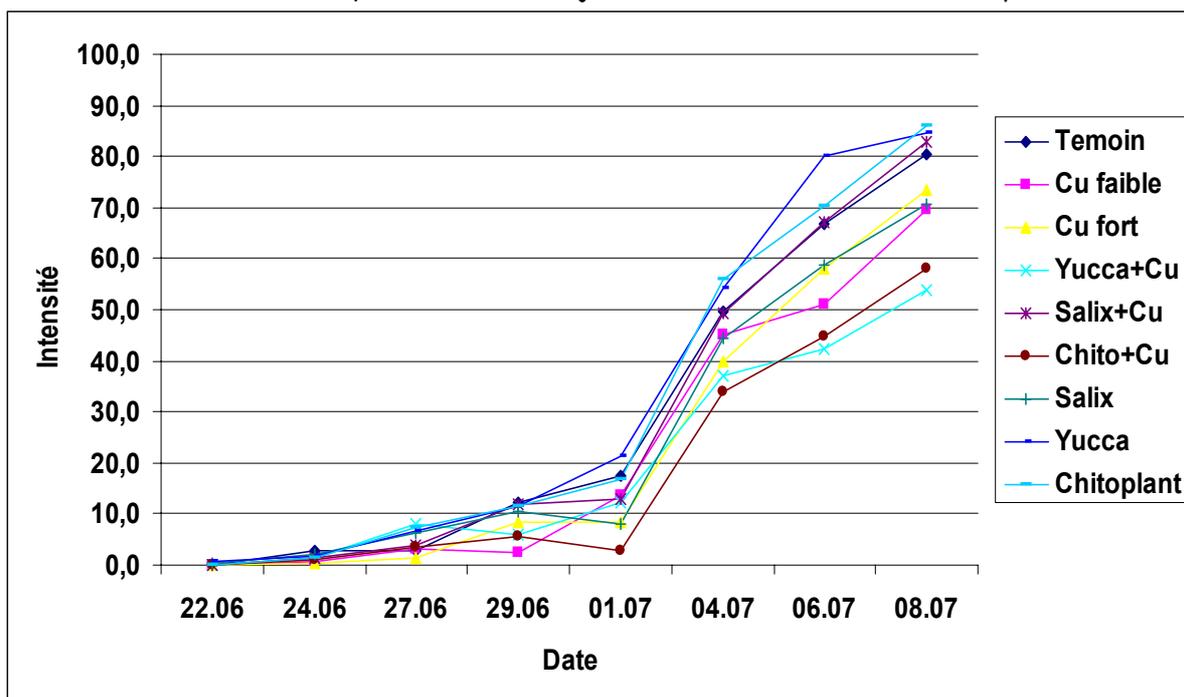
5.1 Essai produit

- **Résultats sur jeunes feuilles**

- Intensité d'attaque

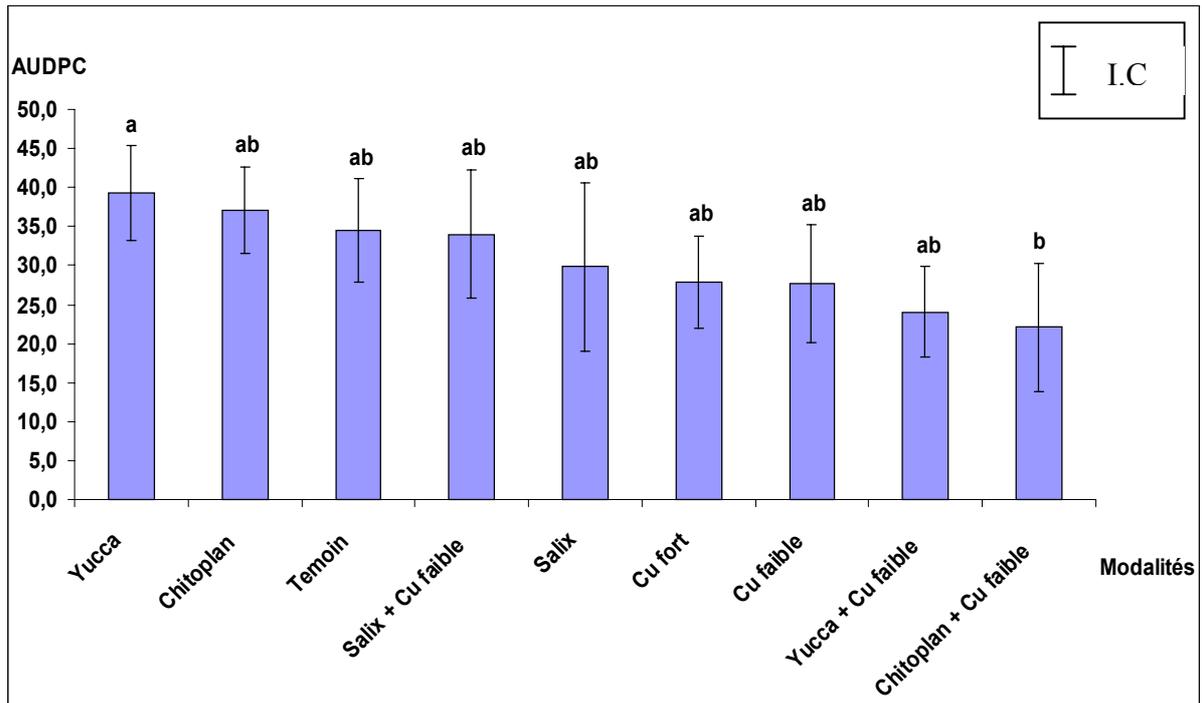
Les résultats concernant l'intensité d'attaque de mildiou sur jeunes feuilles sont représentés sur la figure ci-dessous

Intensité d'attaque du mildiou sur jeunes feuilles en fonction du temps



Ces résultats sont classés selon une AUDPC décroissante, c'est-à-dire du produit le moins efficace au produit le plus efficace.

AUDPC relative aux jeunes feuilles pour chaque modalité

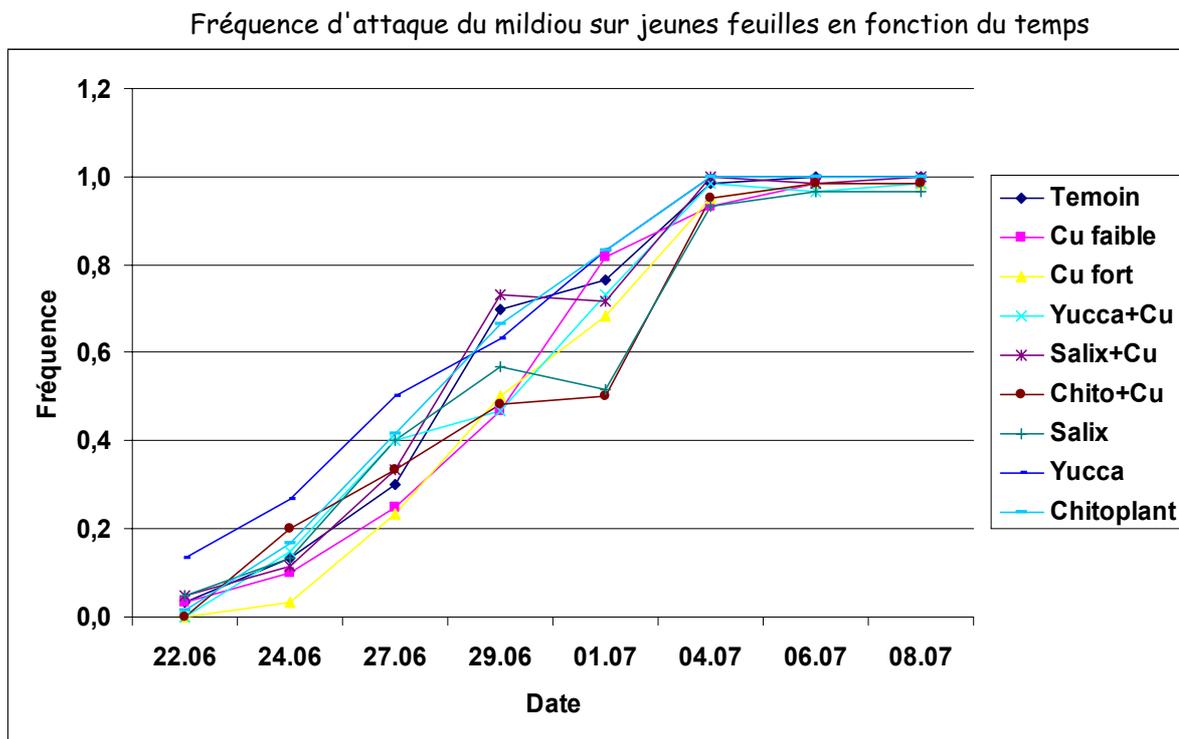


Les groupes statistiques et les intervalles de confiance ont été calculés pour chaque modalité. La puissance de notre essai est de 94 %, ce qui signifie que la non-discrimination de certains produits n'est pas due à un manque de puissance, mais à une efficacité très proche de ces produits.

D'un point de vue statistique, on peut seulement affirmer que l'association "chitoplan + cuivre" est plus efficace que le Yucca. En ce qui concerne les tendances, on remarque que le Yucca et le chitoplan sont les produits les moins efficaces pour lutter contre le mildiou. Ils sont même moins "efficaces" que le témoin, ce qui voudrait dire en d'autres termes qu'ils auraient tendance à favoriser le développement du mildiou sur jeunes feuilles. Les produits Salix, Salix + Cuivre, Yucca + Cuivre, Cuivre fort et Cuivre faible apparaissent comme faiblement efficaces contre le mildiou sur jeunes feuilles. Seul le produit Chitoplan + Cuivre semble avoir un intérêt dans la lutte contre *Plasmopara viticola* sur jeunes feuilles. Cette efficacité reste cependant relativement faible car en 16 jours, 60 % de la surface foliaire était recouverte par le mildiou.

- Fréquence d'attaque

Les fréquences d'attaque sur jeunes feuilles, par modalité sont représentées sur la figure ci-dessous.



L'étude de la fréquence se termine au 4 juillet car toutes les modalités sont arrivées au seuil des 100 % de feuilles attaquées. Contrairement à la méthode des AUDPC pour l'intensité d'attaque, la fréquence d'attaque s'analyse date par date. Ainsi, on obtient les résultats suivants:

- Au 22/06 pas de différence significative entre les modalités
- Au 24/06 pas de différence significative entre les modalités
- Au 27/06 pas de différence significative entre les modalités
- Au 29/06 pas de différence significative entre les modalités
- Au 01/07 pas de différence significative entre les modalités

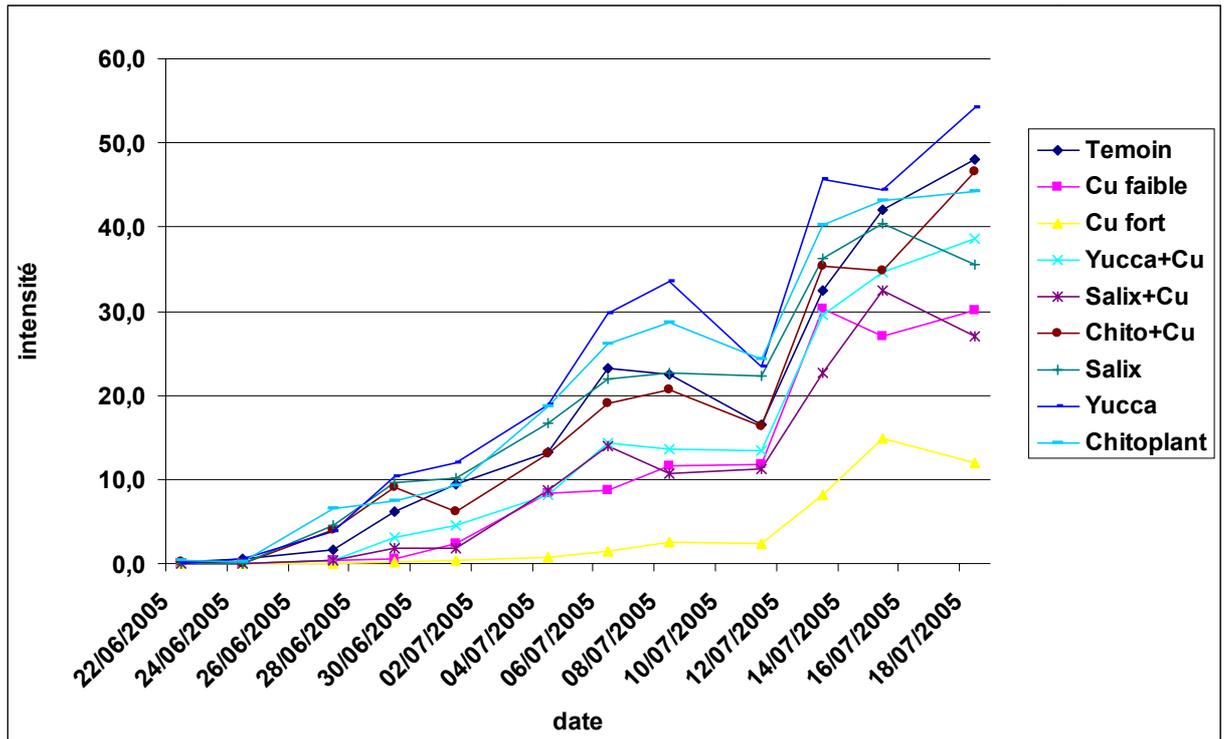
Aucun produit n'a permis de diminuer la fréquence d'attaque de mildiou sur jeunes feuilles.

- **Résultats sur vieilles feuilles**

- Intensité d'attaque

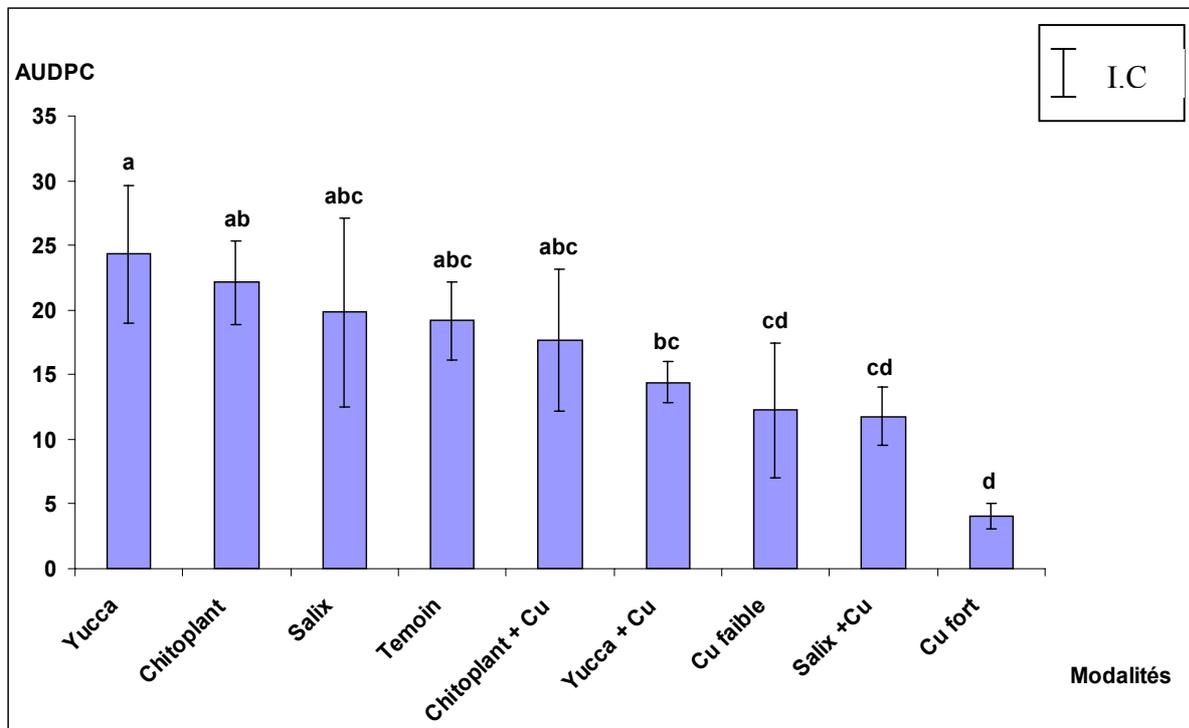
Les résultats concernant l'intensité d'attaque de mildiou sur vieilles feuilles sont représentés sur la figure ci-dessous.

Intensité d'attaque du mildiou sur vieilles feuilles en fonction du temps



Ces résultats sont classés selon une AUDPC décroissante.

AUDPC relative aux vieilles feuilles pour chaque modalité



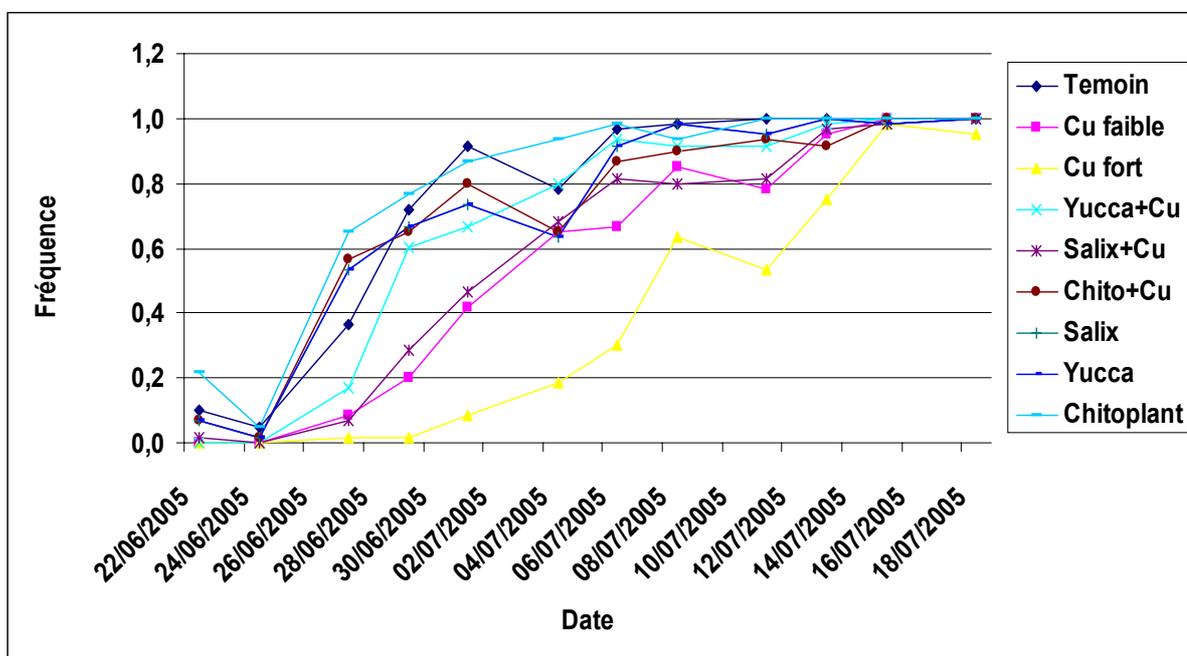
Les groupes statistiques et les intervalles de confiance ont été calculés pour chaque modalité. La puissance de notre essai est de 99 %.

D'un point de vue statistique on peut affirmer que le Yucca est moins efficace que les produits yucca+cu, salix+cu, cu faible et fort. Le produit le plus efficace est le cuivre forte dose qui se distingue statistiquement de tous les autres groupes de produits par son AUDPC de 3 à 5 fois plus faible que celle des autres produits. Un autre ensemble de produits est constitué par le témoin, chitoplant, salix, chitoplant + cuivre, yucca +cuivre, cuivre faible dose et salix + cuivre. A l'intérieur de cet ensemble il est seulement possible de conclure que le chitoplant est moins efficace que le cuivre faible avec ou sans salix. En ce qui concerne les tendances, il est à noter que seuls les produits cuivrés (associés ou non à d'autres produits) montrent une efficacité contre le mildiou de la vigne ; les autres produits étant inefficaces. Les AUDPC du yucca, chitoplant et salix sont supérieures à celle du témoin, ce qui signifierait qu'ils tendent à favoriser le développement du mildiou.

- Fréquence d'attaque

Les fréquences d'attaques sur vieilles feuilles, par modalité sont représentées sur la figure ci-dessous.

Fréquence d'attaque du mildiou sur vieilles feuilles en fonction du temps



L'étude de la fréquence débute le 27 juin et se termine au 4 juillet car toutes les modalités sont arrivées au seuil des 100 % de feuilles attaquées. Comme pour les jeunes feuilles, on procédera à une analyse date par date :

- Au 27/06 on observe une faible fréquence d'attaque pour toutes les modalités contenant du cuivre excepté la modalité cuivre + chitoplant. Yucca et chitoplant semblent augmenter la fréquence d'attaque du mildiou.

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
Chitoplant	0,991	A			
Yucca	0,951	A			
Chitoplant + Cu	0,863	A	B		
Salix	0,815	A	B	C	
Temoin	0,646	A	B	C	D
Yucca + Cu	0,307		B	C	D
Cu faible	0,208			C	D
Salix +Cu	0,185				D
Cu fort	0,054				D

Analyse de fréquence au 27/06

- Au 29/06 on retrouve globalement les mêmes groupes statistiques, avec cependant une perte d'efficacité du groupe Salix + cuivre et cuivre faible ainsi qu'une accentuation de l'inefficacité du Salix seul qui se rapproche du groupe Chitoplan, yucca et Chitoplan + cuivre.
- Au 01/07, l'intervalle d'efficacité des produits se resserre, le cuivre faible perd son efficacité.
- Au 04/07, on peut distinguer seulement la modalité cuivre fort des autres modalités. Le cuivre fort étant à cette date de l'expérience le seul produit capable de diminuer la fréquence d'attaque du mildiou.

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
Chitoplan	1,386	A	
Yucca	1,212	A	
Yucca + Cu	1,154	A	
Temoin	1,135	A	
Cu faible	1,034	A	
Salix	1,004	A	
Chitoplan + Cu	0,996	A	
Salix +Cu	0,991	A	
Cu fort	0,43		B

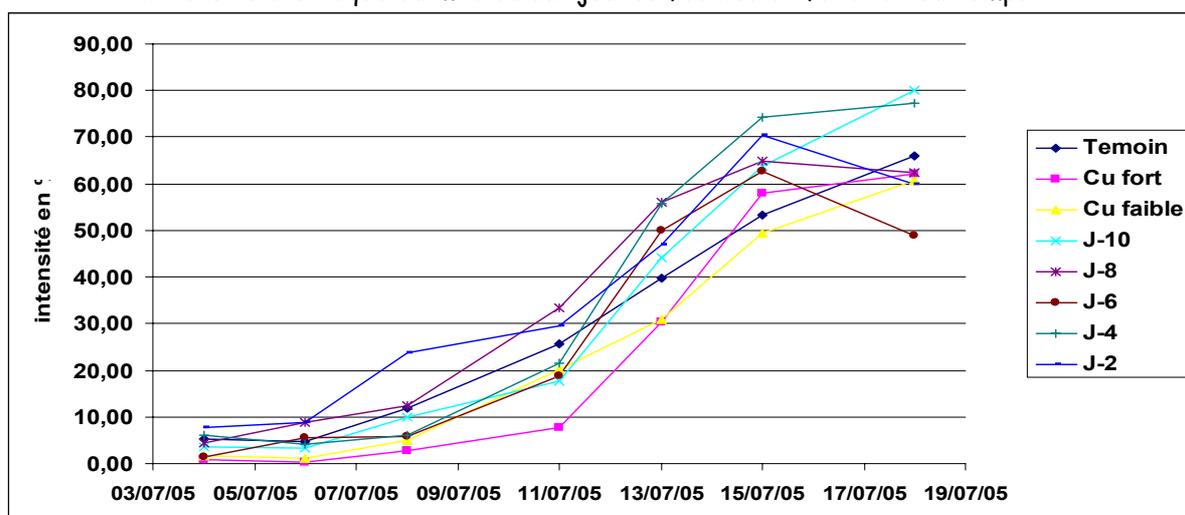
Analyse de fréquence au 04/07

5.2 Essai date d'application

- Résultats sur jeunes feuilles
 - Intensité d'attaque

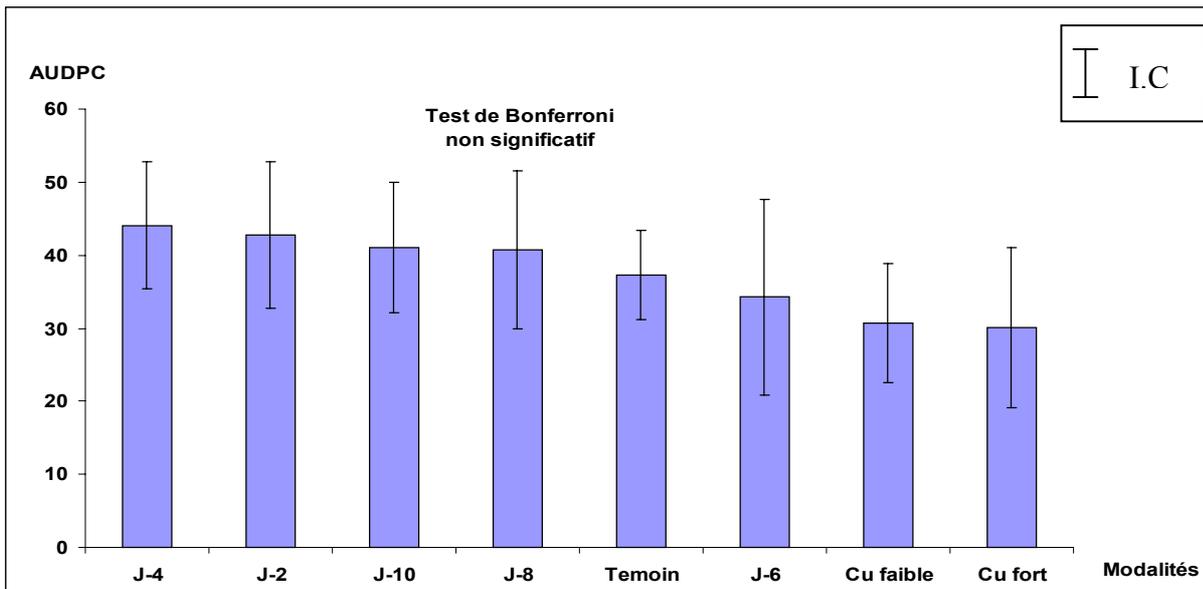
Les résultats concernant l'intensité d'attaque de mildiou sur jeunes feuilles sont représentés sur la figure ci-dessous.

Intensité d'attaque du mildiou sur jeunes feuilles en fonction du temps



Ces résultats sont classés selon une AUDPC décroissante.

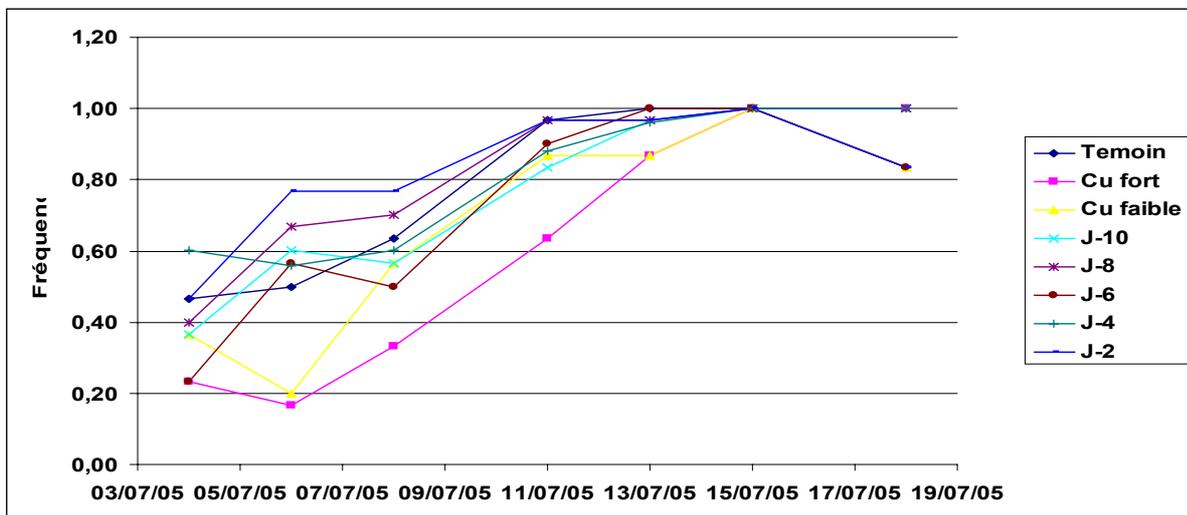
AUDPC relative aux jeunes feuilles pour chaque modalité



Aucune modalité ne permet de protéger les jeunes feuilles contre le développement du mildiou. Il semble tout de même que la présence de cuivre sur les vieilles feuilles limite la progression du mildiou sur les jeunes feuilles. Le traitement avec la tisane de Saule 6 jours avant inoculation est légèrement plus efficace que pour les autres dates d'application, mais il n'y a rien de significatif.

- Fréquence d'attaque

Fréquence d'attaque du mildiou sur jeunes feuilles en fonction du temps



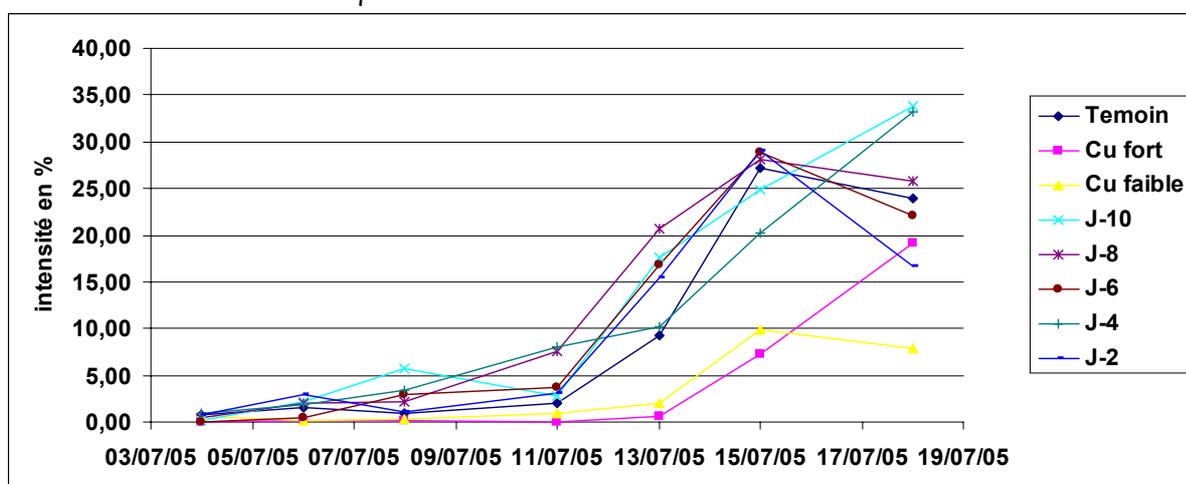
Seule l'ANOVA du 6 juillet donne des résultats significativement différents pour les modalités testées. Il n'a pas été possible de stabiliser les variances des modalités pour les autres dates de l'essai. Cuivre faible et cuivre fort diminuent les fréquences d'attaque du mildiou. Le traitement à la tisane de saule 2 jours avant inoculation semble favoriser la fréquence d'attaque de la maladie.

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
J-2	0,767	A	
J-8	0,667	A	B
J-10	0,6	A	B
J-4	0,57	A	B
J-6	0,567	A	B
temoin	0,5	A	B
Cu faible	0,2		B
Cu fort	0,167		B

Analyse de fréquence au 06/07

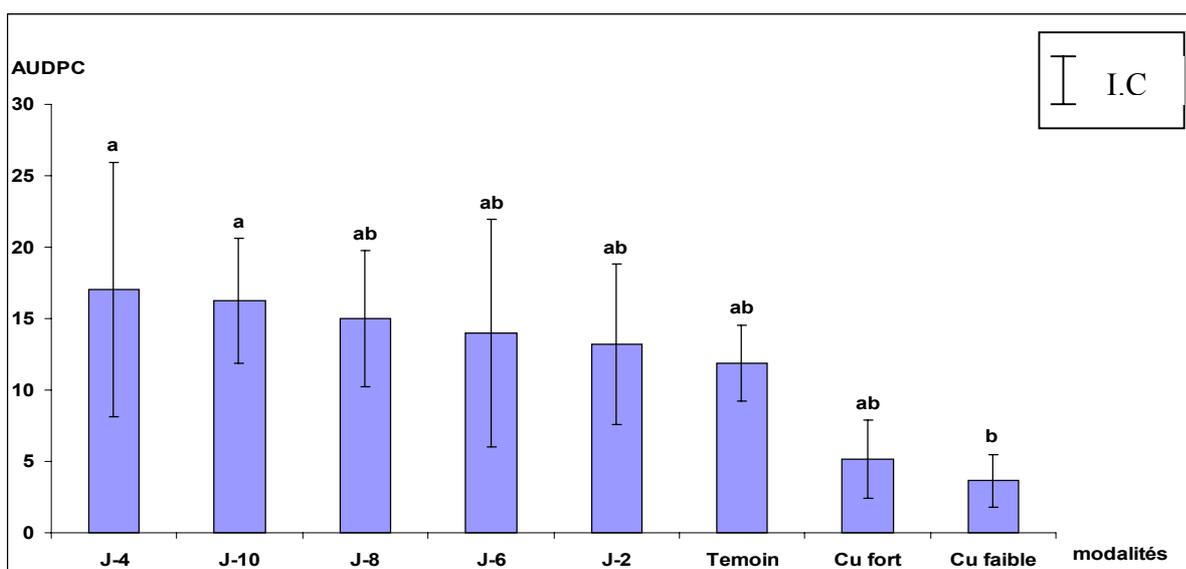
- Résultats sur vieilles feuilles

- Intensité d'attaque



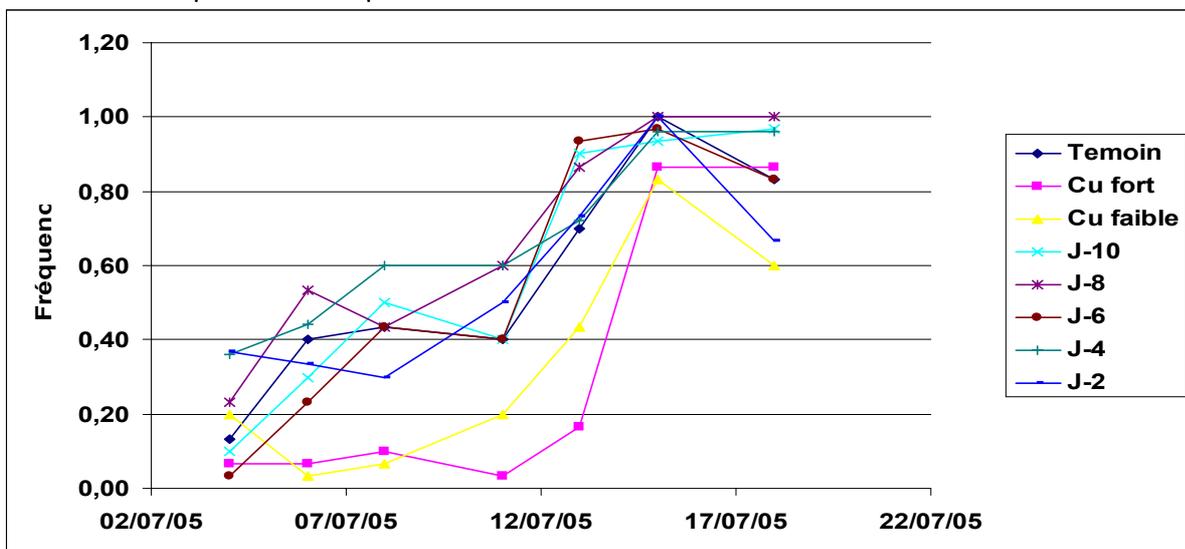
Bien que les intervalles de confiance soient élevés pour chaque modalité, il apparaît que tous les plants ayant subi un traitement à la tisane de saule avant inoculation sont plus sensibles au mildiou que le témoin.

AUDPC relative aux vieilles feuilles pour chaque modalité



Seules les références cuivrées montrent une moindre sensibilité au mildiou. Essayer d'extraire une date d'application de la tisane provoquant une moindre sensibilité ne correspondrait à rien dans cet essai car quelle que soit la date définie, l'AUDPC reste supérieure à celle du témoin.

○ Fréquence d'attaque



Les résultats montrant une différence significative entre les modalités sont ceux du 13 juillet. Il apparaît alors une forte efficacité de la référence mais aucune efficacité de la part des produits testés, voire une efficacité "négative".

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
J-6	0,933	A	
J-10	0,9	A	
J-8	0,867	A	
J-2	0,733	A	B
témoin	0,7	A	B
J-4	0,6	A	B
cu faible	0,433	A	B
cu fort	0,167		B

Analyse de fréquence au 13/07

6- DISCUSSION

Sur les jeunes feuilles, aucun produit ne montre une efficacité supérieure aux autres. Seule l'association chitoplant + cuivre tend à mieux protéger le feuillage et possède une efficacité supérieure à celle du Yucca. Ce résultat est difficile à interpréter car le chitoplant seul donne les plus mauvais résultats en terme de protection du jeune feuillage. Il y aurait donc un effet de synergie entre cuivre et chitoplant. Cependant, l'efficacité de ce produit reste extrêmement faible puisque le mildiou progresse très rapidement. En d'autres termes, ce produit ne pourra pas être préconisé en plein champ pour une stratégie de lutte contre le mildiou.

Concernant les tendances d'efficacité sur vieilles feuilles, l'efficacité "négative" du chitoplant pourrait s'expliquer par un affaiblissement physiologique du plant dû au produit (effet observé en plein champ à Montélimar, GRAB) et donc une facilité de développement du mildiou. Au niveau du Yucca, il est possible que sa composition permette un meilleur accrochage des spores de mildiou à la feuille et donc un développement plus intense de la maladie.

La non-efficacité globale des SDN testés pourrait s'expliquer plus globalement par le fait que les plants testés sont en pots depuis plus de deux ans, ce qui provoque un état de stress de la plante, dû en particulier aux racines trop comprimées. A cela s'ajoute la forte pression de mildiou dans ce type d'essai. Le plant de vigne n'est donc pas dans des conditions d'équilibre qui lui permettrait de réagir favorablement à l'application de SDN.

L'essai concernant la date d'application des SDN ne permet pas de discriminer une date préférentielle. Il semble qu'il y ait une hypersensibilité des plants traités à la tisane de Saule. Or une hypersensibilité est signe de réaction de la plante. Il est donc probable qu'un changement de dose inverse la tendance d'efficacité. En comparaison à la médecine humaine, un médicament peut devenir poison et inversement en fonction de la dose administrée.

D'autre part, il est possible que dans les conditions particulières de notre essai les plants de vigne ne possèdent pas un équilibre hydrominéral suffisant pour la synthèse d'intermédiaires réactionnels nécessaires à la défense du plant.

7- PERSPECTIVES ET PROPOSITIONS

Au vu des résultats, on remarque que le premier problème réside dans la non-efficacité globale des produits testés. Deux cas se présentent alors : soit il faut persévérer avec ces mêmes produits mais avec d'autres doses d'application et dans des conditions environnementales et expérimentales moins stressantes (expérimenter en plein champ par exemple), soit il faut choisir de tester d'autres produits.

En ce qui concerne la discrimination des groupes statistiques, il a été remarqué que celle-ci a été rendue difficile à cause d'une grande hétérogénéité des résultats au sein d'une même modalité. Pour palier à ce premier problème, il faudrait travailler avec des plants plus jeunes. En effet l'intensité des attaques de mildiou, dans les essais contrôlés, fait que les parcelles élémentaires deviennent très hétérogènes dès la deuxième année de leur utilisation (CEB, Méthode n°007).