



# EFFICACITE D'UN EXTRAIT AQUEUX DE *Salix* (Saule) DANS LA LUTTE CONTRE *Plasmopara viticola*

2003

Marc Chovelon – GRAB

## 1. Identification de l'action

Responsables techniques : Marc Chovelon

Localisation des essais : CEPEM - Avignon

Etat de l'action : action en cours ; début : 2001 action prévue pour 4 ans

## 2. Description de l'action

But de l'action : Tester l'efficacité d'une tisane de Saule contenant de l'acide salicylique contre *Plasmopara viticola*, agent du mildiou de la vigne.

L'acide salicylique rentre dans le processus d'élicitation de nombreux végétaux

On cherche donc à tester son effet en conditions contrôlées, à différentes doses, et dates d'élicitation .

On va suivre l'évolution de la maladie après inoculation de spores de *Plasmopara viticola*.

Comme l'acide salicylique utilisé est une substance chimique de synthèse, il n'est pas homologué en agriculture biologique. C'est pourquoi on teste également une tisane de saule (*salix album*) utilisable en AB, afin de voir si le composé non purifié peut provoquer des réactions suffisantes pour maintenir le développement mycélien à un seuil acceptable.

Afin de connaître la concentration en acide salicylique de la tisane, il a été procédé à un dosage par un laboratoire indépendant (Laboratoire ENIGMA à Beaumes de Venise, 84). Le procédé retenu est la méthode HPLC (High Performance Liquid Chromatography), avec une détection UV à 211 nm.

Il s'agit du procédé le plus fiable et le plus précis

## Protocole expérimental

Cépage	Alphonse Lavallée
Lieu	CEPEM AVIGNON
Type d'essai Parcelle élémentaire	En bloc à 6 répétitions 1 pot
Traitement	Pulvérisateur à main
Densité	Plants en pots sous ombrière
Observations réalisées	Fréquence de l'attaque Intensité de l'attaque

## Méthodes :

Les plantes sont élicités par 5 ml de solution par pots.

Inoculum : mise en culture en boîtes de pétri de feuilles mildiouées récoltées, et repiquage sur feuilles saines afin de récolter une quantité importante de spores (conidies).

Pendant la culture, les feuilles sont maintenues à 25°C en chambre thermorégulée.

La quantité de spores inoculées est connue grâce à un hématimètre de Malassez. Ici,  $3.10^5$  spores / mL d'eau.

Les plantes sont inoculés à raison de 2 ml de suspension par plant.

Durant toute la durée de l'expérimentation, les plants sont maintenus sous ombrière, avec aspersion régulières (5 min tous les  $\frac{3}{4}$  d'heures, 2mm d'eau à chaque aspersion.).

De plus, de la paille est répandue au sol et les plants sont palissés

Toutes ces précautions ont pour but d'offrir au mildiou des conditions de développement optimales, afin d'apprécier l'efficacité réelle de l'élicitation en conditions de forte pression.

### Modalités étudiées

Afin de tester la meilleure date d'élicitation, on traite à **4j** et à **2j** avant l'inoculation.

Les différentes solutions d'acide salicylique, sont obtenus par dilution en cascade d'une solution mère à 50mmol/L.(cf annexe3).

La tisane de saule, dont la concentration en acide salicylique était inconnu a priori, a été obtenu selon une méthode utilisée en bio dynamique

### **6 modalités** : (répétées pour les deux dates d'élicitations)

Modalités	Concentration en acide salicylique
Témoin	0
C1	7mmol/L
C2	1mmol/L
C3	1 $\mu$ mol/L
C4	1nmol/L
TM	0.14 $\mu$ mol/L
TD	0.014 $\mu$ mol/L

Préparation de la tisane de saule :

Tisane mère : dans 5L d'eau, on laisse pendant 40min 250g de feuilles de saule.

Dilution : on dilue la tisane mère 10 fois.

Observations :

Le développement de la maladie est observé tous les deux jours à partir de 5 jours après l'inoculation. Afin de rendre représentative et cohérente l'observation, il a été choisi de regarder pour tous les pieds 10 feuilles en partant à la base du cep

Analyse statistique des résultats

Afin de pouvoir interpréter les résultats de l'expérimentation, et de pouvoir en tirer des conclusions fiables et reproductibles, on procède à une analyse statistique à l'aide du logiciel statbox pro.

On compare les résultats observé en posant comme variable le traitement effectué (c1, c2, c3, c4, TM, TD, et Témoin), la date d'élicitation (J-2 ou J-4), et le nombre de blocs (6 répétitions). Une analyse de variance est effectuée pour chaque observation.

### 3. Résultats de l'année

Déroulement de l'essai :

7 juil	8 juil	9 juil	10 juil	11 juil	12 juil	13 juil	14 juil	15 juil	16 juil
Elicitation à J-4		Elicitation à J-2		Inoculation					Début des observations

31. conditions climatiques

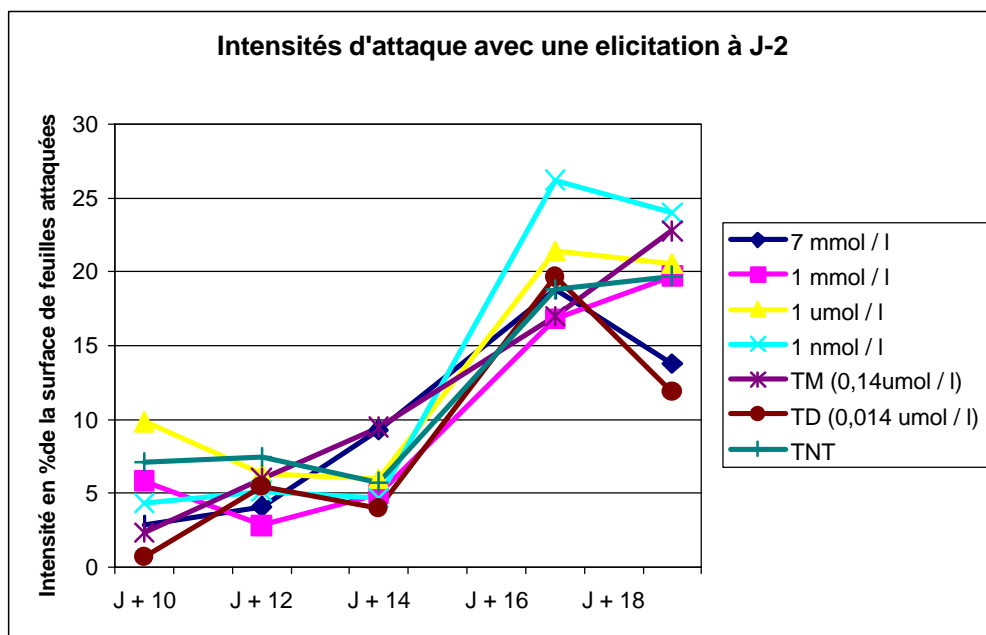
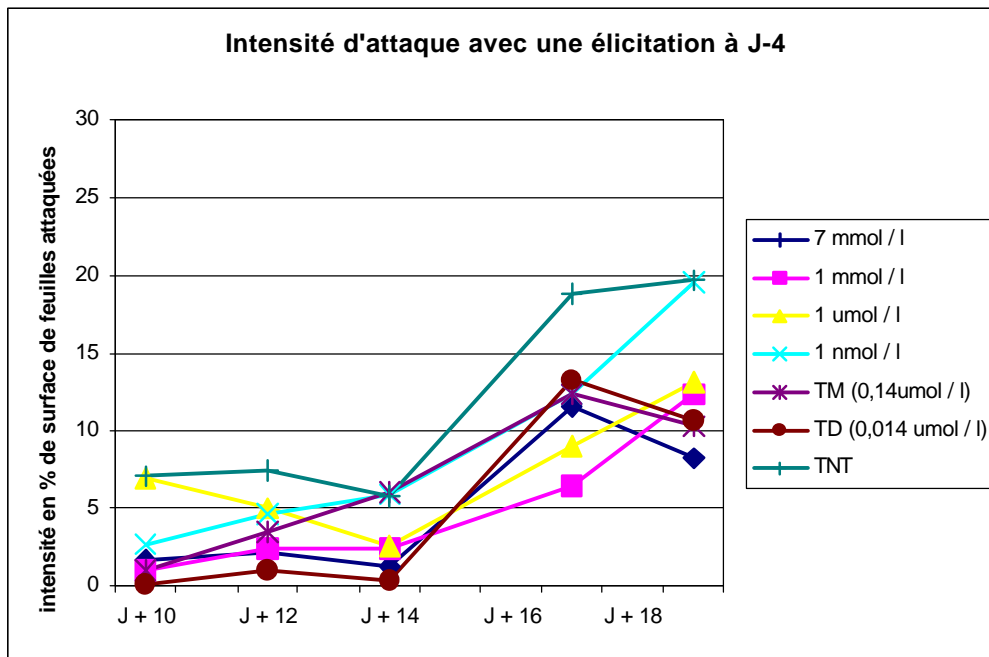
Etude menée sous ombrière et sous brumisation

32. Résultats de l'année :

Le but de l'expérimentation n'est pas d'observer une cinétique, ni l'efficacité des traitements vis à vis de multiples infections, mais d'apprécier si un tel traitement alternatif a une efficacité. C'est pourquoi la discussion complète portera sur les dates d'observation les plus représentatives, c'est à dire les deux dernières.

L'attaque du champignon, du fait du maintien des plants en conditions contrôlées d'hygrométrie, a été très forte.

Les résultats sont présentés sous la forme de graphiques évolutifs relatant les observations :



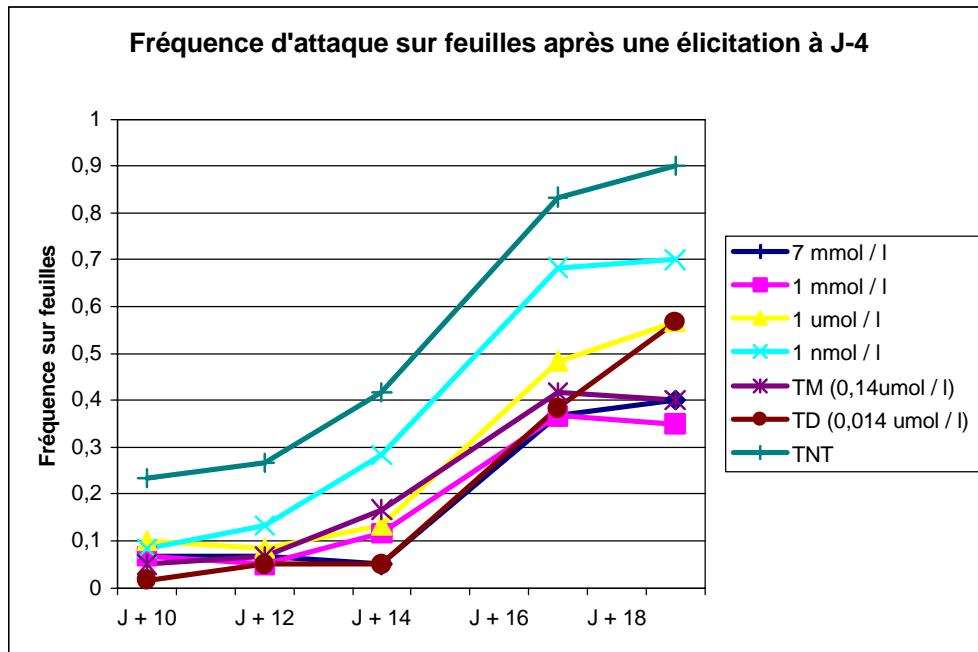
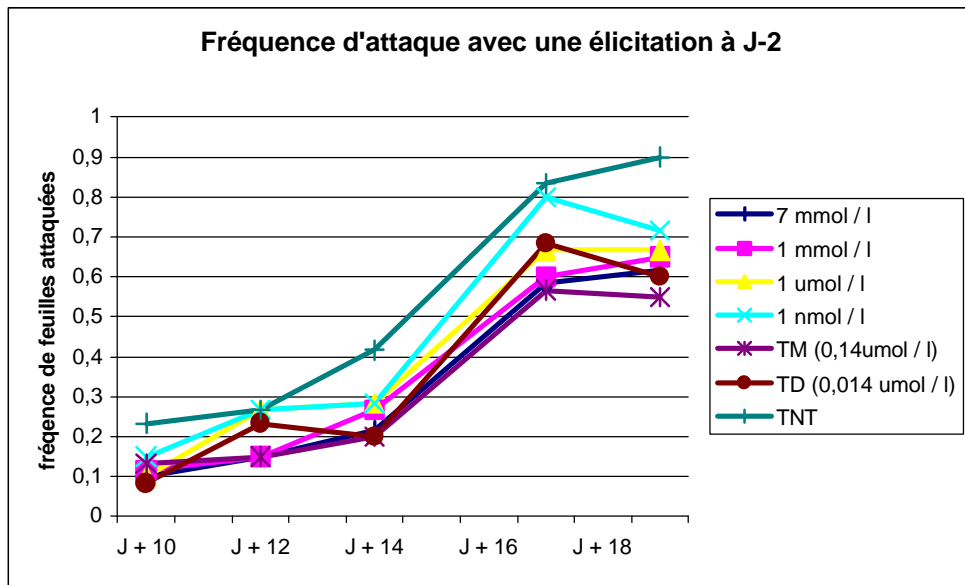
Ainsi, d'après cette expérimentation, il apparaît une efficacité nette et marquée de l'élicitation par acide salicylique.

Il en ressort un effet dose, même si la tisane diluée apparaît plus efficace que la tisane mère.

Nous pouvons de plus observer deux groupes qui se différencient :

- Le groupe Témoin, C3, C4, qui n'apparaissent pas très fortement différents.
- - Le groupe C1, C2, TM, TD, qui se détachent fortement, et dont l'efficacité semble significative.

D'une règle générale, l'élicitation 4 jours avant l'inoculation semble plus efficace.



Pour la fréquence, les courbes apparaissent quasiment parallèles, et ont une physionomie de « courbes en S » . →

#### 4. Analyse et discussion

Analyse de variance à J+19 : fréquence de l'attaque (test de NEWMAN-KEULS - SEUIL = 5%)

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
J-2 TT	0,9	A		
J-4 TT	0,9	A		
J-2 C4	0,717		B	
J-4 C4	0,7		B	
J-2 C3	0,667		B	
J-2 C2	0,65		B	
J-2 C1	0,617		B	
J-2 TM	0,6		B	
J-4 TM	0,567		B	
J-4 C3	0,567		B	
J-2 TD	0,55		B	
J-4 TD	0,4			C
J-4 C1	0,4			C
J-4 C2	0,35			C

Pour la fréquence, l'analyse de variance est excellente, avec de très fortes probabilités que les différences observées soient dues aux traitements, ainsi qu'à la date d'élicitation.

La puissance de l'essai (capacité à différencier des résultats) est optimale.

Les comparaisons de moyenne par le test de Student confirment les résultats de l'analyse de variance quant aux groupes homogènes.

Analyse de variance à J+19 : intensité de l'attaque (test de NEWMAN-KEULS - SEUIL = 5%)

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
C4	0,218	A	
TT	0,197	A	
C3	0,168	A	B
TD	0,166	A	B
C2	0,16	A	B
TM	0,112		B
C1	0,11		B

L'analyse de variance est également très bonne, avec un effet certain des doses. Par contre, la date d'élicitation n'intervient pas dans l'efficacité du traitement.

Des groupes homogènes ressortent, mais moins franchement que pour la fréquence :

Ainsi, d'après l'analyse de variance, les deux modalités se démarquant nettement sont la tisane témoin et la concentration à 7mmol/L-1(C1).

Cependant, en procédant à une comparaison de variances par le test de Student, on s'aperçoit qu'il n'y a pas de différences significatives entre la modalité TD (tisane diluée), et les modalités TM et C1. La modalité TD a donc la même efficacité.

## **5. Conclusions et perspectives**

Ainsi, d'après cette expérimentation, il se dégage une efficacité certaine de l'élicitation par acide salicylique de synthèse, et extrait aqueux de *Salix*.

La modalité la plus efficace de tisane, donc utilisable en agriculture biologique, est la tisane diluée 10 fois

Eliciter 4 jours avant inoculation apparaît plus probant.

Cet aspect peut être problématique dans l'utilisation à grande échelle et en conditions naturelles de cette tisane. Il est en effet difficile de prévoir plusieurs jours avant quand aura lieu une pluie contaminatrice, et il n'est pas sûr qu'une élicitation trop précoce soit efficace. Ceci doit être confirmé par des essais supplémentaires au champs.

Ces résultats, ouvrent des perspectives très intéressantes dans la lutte contre le mildiou en viticulture biologique, mais également conventionnelle.

En effet, face au durcissement de la législation sur l'utilisation de cuivre, ainsi qu'aux dangers de celui-ci sur la microbiologie du sol, donc sur sa fertilité, l'utilisation de la tisane de saule comme éliciteur peut être une bonne alternative.

Du fait qu'ils agissent par stimulation des défenses naturelles de la plante, le risque de voir apparaître des souches résistantes est extrêmement faible, contrairement aux fongicides de synthèse. Cependant, même si l'efficacité est réelle, elle n'est pas équivalente.

En cas de forte pression, cette protection pourrait s'avérer insuffisante.

Si cette expérimentation a abouti à des conclusions différentes de celles des essais réalisés en conditions in vitro, il n'est pas certain que des expérimentations en plein champs mènent à des résultats similaires, d'où la nécessité de poursuivre les essais.



### Remarque sur la tisane de Saule

D'après l'analyse, on s'aperçoit que la concentration en acide salicylique de la tisane est très faible (0.14 $\mu$ mol/L pour la tisane mère), alors que son efficacité est supérieure à des solutions d'acide salicylique de synthèse plus concentré.

Par contre, il existe dans la tisane de nombreuses autres molécules, certaines en quantités beaucoup plus forte

Il est fort probable que l'efficacité de la tisane de saule dans la lutte contre le mildiou

soit plus due aux autres molécules qu' uniquement à l'action de l'acide salicylique.

Il est également possible que les autres molécules rentrent en synergie avec l'acide salicylique, le rendant plus efficace.

Une autre hypothèse serait que les isomères de la molécule soient différents, avec une meilleure réceptivité de la plante à celui d'origine biologique.

Ces hypothèses doivent être confirmés ou infirmés par des essais complémentaire