

Intérêt agronomique de préparations simples de plantes, pour des productions viticoles économes en intrants

Patrice-A. Marchand¹, Côme-A. Isambert¹, Monique Jonis¹, Marc Chovelon^{2,1}, Nicolas Aveline³, Bernard Molot³, Céline Berthier³, Arnaud Furet⁴, Florent Bidaut⁵, Éric Maille⁶, Cédric Bertrand⁷, Vanessa Andreu⁷, Jean-Luc Brunet⁸, Luc Belzunces⁹, Romain Bonafos⁹, Bertrand Guillet⁹

Fonctions d'auteurs : voir l'encadré en bas de page.

Introduction

Le projet Casdar 4P « Protection des Plantes Par les Plantes » porta entre 2009 et 2013 sur la recherche d'alternatives à l'utilisation de pesticides en s'appuyant sur l'évaluation de préparations à base de plantes (infusions, décoctions de prêle, armoise, absinthe et saule) dans un objectif de protection des cultures contre les bioagresseurs en particulier en viticulture. Ce projet AP repose sur un partenariat entre l'ITAB, les stations expérimentales des

instituts techniques agricoles (ITA) et des laboratoires de recherche (Université, INRA, Montpellier SupAgro).

La première partie du projet 4P se concentra sur la préparation, la composition chimique et la stabilité des préparations. En s'appuyant sur les pratiques et les observations empiriques des agriculteurs qui utilisent ce type de préparations et sur les quelques travaux réalisés dans ce domaine [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9] ce projet s'est organisé autour de deux grands objectifs : améliorer les connaissances sur les propriétés et les modes d'action de ces préparations végétales (efficacité, composition, toxicité...) et optimiser leur utilisation (dosage, durée de conservation, conditions d'applications...).

Le 4P se concentra dans un second temps sur l'étude des propriétés fongistatiques ou fongicides, la composition chimique et l'écotoxicité de ces extraits. Les études d'efficacité s'appuient sur des expérimentations de terrain réalisées sur un réseau de parcelles (1).

Ce programme pluridisciplinaire s'inscrit également dans le contexte du programme Écophyto, de l'effort porté sur les solutions de biocontrôle, et sur la parution du cadre réglementaire des préparations

■ **Figure 1 : Prêle des champs *Equisetum arvense*. Extraits aqueux de plantes étudié : une décoction de la partie aérienne d'*Equisetum arvense* L.**



naturelles peu préoccupantes (PNPP) aujourd'hui définies dans la Loi d'Avenir Agricole (Article 50).

Il a pu mettre en évidence l'intérêt de ces préparations, définir les usages les plus caractéristiques (Bonnes Pratiques Agricoles), en particulier en viticulture dans la réduction des doses de cuivre et de soufre. Ces résultats sont encourageants et, bien que morcelés et partiels, sont en cours de valorisation effective.

Contexte et objectifs de l'étude 4P

Aujourd'hui, un certain nombre d'agriculteurs biologiques mais également conventionnels utilisent de façon plus ou moins empirique des préparations simples de plantes (infusions, décoctions, macérations), avec comme objectif, de conférer aux plantes cultivées une meilleure résistance aux attaques des bioagresseurs et/ou de réduire les traitements phytopharmaceutiques (nombre, fréquence,

¹ ITAB (Institut technique de l'agriculture biologique) Paris – France.

² Grab (Groupe de recherche en agriculture biologique) Maison de la Bio Avignon – France.

³ IFV (Institut français de la vigne et du vin) Le Grau du Roi – France.

⁴ ADABio (Association pour le Développement de l'Agriculture Biologique) Ceyzeriat – France.

⁵ Chambre d'Agriculture de Saône-et-Loire – Service du Vin Mâcon – France.

⁶ Agrobio Périgord Périgueux – France.

⁷ LCBE UPVD (Université de Perpignan Via Domitia) Perpignan – France.

⁸ INRA (Laboratoire de Toxicologie Environnementale) Avignon – France.

⁹ Montpellier SupAgro, département Biologie et Écologie Montpellier – France.

(1) Réseau de parcelles : Le groupe vigne du 4P inclut des parcelles situées en Rhône-Alpes (Savoie + Drôme), Bourgogne, Aquitaine, Midi-Pyrénées et Paca (dont l'ombrière du site expérimental du GRAB).

doses...). Les connaissances scientifiques concernant le mode préparatoire de ces produits et leurs modalités d'utilisation étaient rares et partielles mais sont en augmentation régulière.

La « rationalisation » de l'usage de ces produits doit permettre de répondre à l'une des demandes sociétales majeures de notre époque, à savoir la production d'aliments sains, non seulement pour les consommateurs (pas de résidus de pesticides) mais également pour l'environnement (pas de pollution des eaux et des sols, respect des équilibres naturels) et les utilisateurs (risques moindres voire nuls pour la santé de l'agriculteur qui utilise ces produits).

Car, pour que ces préparations puissent être utilisées avec une efficacité reproductible, il est primordial de comprendre même partiellement leur mode d'action de façon à pouvoir optimiser l'extraction des substances actives, le processus de fabrication, la stabilisation de ces préparations, les dates et les doses d'application, afin de protéger qualitativement et quantitativement les cultures de façon satisfaisante.

Les objectifs détaillés poursuivis dans ce projet étaient de :

- montrer des efficacités *in vitro*;
- caractériser les extraits (approfondir les connaissances sur la composition, l'efficacité et les modalités d'application de préparations de plantes);
- tester l'innocuité des préparations, effectuer une première approche des risques de toxicité sur les organismes non cibles (organismes aquatiques, abeilles);
- tester l'efficacité sur plantes en pots;
- tester l'efficacité en plein champ et si possible rendre reproductible l'efficacité de ces préparations (expérimentations de terrain réalisées sur un réseau de parcelles);
- fournir aux agriculteurs des références scientifiques leur permettant d'améliorer leurs pratiques quant à l'usage de ces produits.

Matériel et méthodes

Cinq plantes ont été retenues suite à une enquête multifilières (**tableau 1**) : prêle, saule blanc/osier, armoise, menthe poivrée et

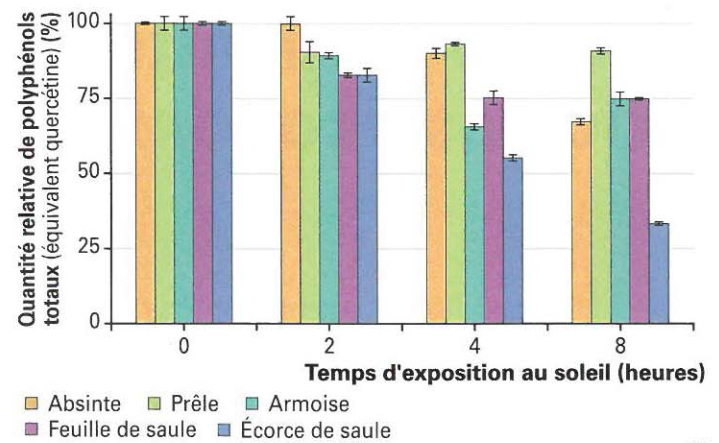
■ **Tableau 1 : Plantes testées dans le cadre du projet 4P.**

Nom commun	Nom latin	Partie de la plante
Armoise commune	<i>Artemisia vulgaris</i>	Feuilles et fleurs
Menthe poivrée	<i>Mentha piperita</i>	Feuilles
Prêle des champs	<i>Equisetum arvense</i>	Feuilles
Saule blanc	<i>Salix alba</i>	Feuilles
		Écorces
Absinthe	<i>Artemisia absinthium</i>	Feuilles

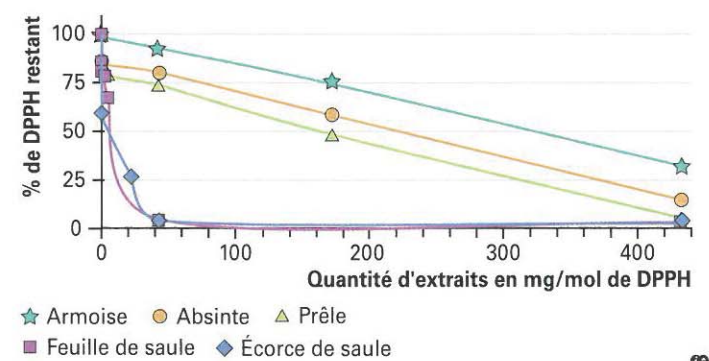
■ **Tableau 2 : Quantité totale (en équivalent mg quercétine/100 mg)/quantité supposée de polyphénol dans l'extrait (mg/mL).**

Nom commun	Absinthe	Saule écorce	Saule feuilles	Prêle	Armoise
Quantité totale, dont:	6,3	62,5	19,3	5,8	8,5
Salicyline	2,13	46,80	2,58	5,59	5,01
Ac. Chlorogénique	3,96	1,11	2,07	2,41	2,30
Quercétine	2,99	0	0	0	0
Rutine	0	0	0,96	0	0

■ **Figure 1 : Évolution de la teneur relative en polyphénols dans chaque extrait au cours de la cinétique de photodégradation.**



■ **Figure 2 : Activité antioxydante des extraits sur le radical DPPH.**



absinthe. Les préparations à base de plantes ont été réalisées et testées sous formes aqueuses (décoctions, infusions, tisanes), et d'extraits hydro-alcooliques, à partir des mêmes plantes sèches et une recette commune.

À ce titre, les définitions de la pharmacopée française doivent être rappelées :

– Tisanes : « préparations aqueuses de plantes médicinales... administrées à des fins thérapeutiques... Elles sont obtenues par macération, infusion ou décoction... » ;

– Infusion : « ... verser sur la drogue (2) de l'eau potable bouillante et laisser refroidir. L'infusion convient aux drogues fragiles ou riches en huiles essentielles. » ;

– Décoction : « ... maintenir la drogue avec de l'eau potable à ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes » ;

– Macération : « ... maintenir en contact la drogue avec l'eau

(2) Drogue : plante à usage médicinal.

potable à T° ambiante pendant une durée de 30 minutes à 4 heures ».

Résultats

Préparation et analyse de la composition des extraits de plantes

Les extraits aqueux de plantes

Les préparations naturelles de plantes, en 2010, ont été produites par les expérimentateurs selon une recette commune à partir de plantes sèches issues des mêmes lots et des mêmes fournisseurs. Pour la prêle par exemple, c'est une décoction de la partie aérienne d'*Equisetum arvense* L. qui a été retenue. Cette recette est donnée par les associations de viticulteurs en agriculture biologique ou biodynamique français; elle est attachée à l'usage envisagé. Laisser macérer 200 g de prêle sèche dans 10 litres d'eau naturelle

ou de la pluie froide dont le pH est ~ 6,5 pendant une heure et porter à ébullition puis laisser bouillir pendant 45 minutes. Après extraction, la préparation est diluée 10 fois avec de l'eau. La préparation aqueuse doit être appliquée dans un délai de 24 heures, pour éviter l'oxydation par l'oxygène et la contamination potentielle et la multiplication des micro-organismes qui peut se produire pendant le stockage.

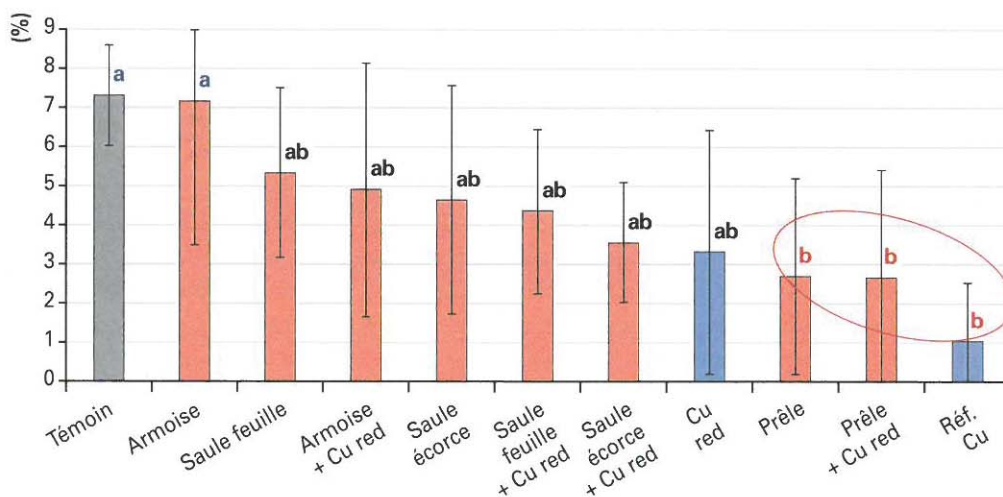
Les extraits hydro-alcooliques de plantes

Toutes les préparations naturelles utilisées en 2011-2012 ont été réalisées selon une recette commune plus pratique, calibrée et plus stable (extraction hydro-alcoolique 160-280 mg/L). Les lots de plantes ont été évalués par le LCBE (université de Perpignan) qui a indiqué aux partenaires de l'expérimentation le dosage des préparations-mères à utiliser pour procéder aux pulvérisations au champ (équivalent d'un gramme (1 g) de matière sèche par litre de préparation au champ). Ce type de préparation présente l'avantage d'avoir théoriquement des concentrations plus élevées en métabolites secondaires (*a priori* les composés responsables de l'activité élicitrice et/ou directe des préparations), elle réduit la difficulté pour les expérimentateurs de préparer leurs infusions et permet d'avoir des solutions identiques pour tous (pas de variations possibles dans les recettes).

Les analyses des extraits

L'étude en laboratoire de l'activité des extraits hydro-alcooliques comprend une série de tests de caractérisation des composés

■ **Figure 3: Intensité d'attaque de mildiou sur feuille en 2011 sur vigne en pot (ANOVA p < 0.05, Test de Newman-Keuls à 5 %).**



actifs par chromatographie. Ces profils chromatographiques HPLC-DAD-DEDL permettent d'obtenir des informations pour aider à la caractérisation des différentes classes de composés polyphénoliques et pour comprendre les activités de chaque extrait végétal (**tableau 2**).

Ces données permettent de relier l'activité à la quantité totale de polyphénols, souvent donnée pour être la source de la protection antifongique.

L'autre partie de l'étude en laboratoire (**figure 1**) concerne la stabilité dans le temps des extraits de plantes. Des prélèvements ont eu lieu pendant 8 heures, toutes les deux heures, afin de caractériser l'évolution des concentrations en polyphénols totaux dans les extraits de plantes soumis à un éclairage (indice UV 4). Une étude cinétique de la photodégradation des composés a été menée, on note une dégradation au cours du temps d'exposition.

Une étude de l'activité antioxydante des extraits a également été menée par dosage colorimétrique.

On note deux tendances: les feuilles et l'écorce de saule semblent avoir une activité antioxydante beaucoup plus importante que les trois autres extraits (**figure 2**).

La composition des extraits ne définit pas exhaustivement la liste des substances actives. Ceci est justifié par la difficulté de les caractériser exhaustivement et de les isoler en l'absence de justification dans leur spécification et le coût d'une telle démarche. L'absence même de sens pour une telle démarche, voire un antagonisme avec le postulat de départ va dans ce sens: éviter la substance active unique. En effet, on observe, pour nombre de produits phyto « biocides » présentés en substance active unique, des phénomènes de résistance, ce que nous tendons à contourner par l'utilisation de préparations aux substances multiples et aux effets en partie non biocides.

Les tests en laboratoire: mesure d'écotoxicité des extraits

Sur les auxiliaires

Les essais sur abeilles [10,11]

Les résultats obtenus avec les infusions de prêle, d'armoise et de saule, montrent une faible toxicité sur abeille; la surmortalité à 4 jours pour les abeilles ne dépasse jamais les 4%. Avec la menthe, la surmortalité atteint 12,6% à la dose D 8/10, alors que certains produits utilisables en agriculture biologique peuvent monter jusqu'à 33% de surmortalité et que les références chimiques atteignent 98% de mortalité dans les conditions de l'essai.

Bien que la toxicité des préparations ne soit pas élevée, différents profils de toxicité peuvent être observés: une absence de relation dose mortalité cohérente avec l'armoise, une courbe dose mortalité en cloche pour la menthe et le saule, et une courbe cloche triphasique avec la prêle. Ainsi, pour la menthe, le saule et la prêle, la toxicité est plus élevée à la dose D 8/10 qu'aux doses plus élevées D et 2D. En pratique, les extraits hydro-alcooliques montrent une toxicité relative plus grande que les extraits aqueux.

Les essais sur acariens prédateurs

En mettant en œuvre une exposition en tour de Potter [12], une évaluation des effets toxicologiques des extraits hydro-alcooliques a également été entreprise sur *Typhlodromus pyri*, acarien prédateur présent dans les vignes et les vergers: les effets indirects sur la fécondité des femelles et de leur descendance ont été évalués avec la

■ **Tableau 3: Efficacité des PNPP contre *P. viticola*; ■ Efficacité avérée; ■ Efficacité légère; X Sans efficacité.**

Action	Plante	Absinthe	Armoise	Consoude	Prêle	Saule
Antigerminatif		■	■	■	■	■
Curatif		X	X	X	X	X
Préventif		■	X	X	■	■

méthode CEB n° 167 [13]. Pour les plantes considérées, prêle, menthe poivrée, saule et armoise, l'effet global est neutre. Ces plantes n'altèrent ni la mortalité, ni la fécondité des femelles, ni la viabilité des descendants, en comparaison avec le témoin traité à l'eau.

Les essais sur espèces aquatiques

La prêle semble être l'extrait le moins toxique pour les larves de crevettes *Artemia sp.*, puisque cet extrait présente la CE₅₀ la plus élevée. Pour aucun des extraits, il n'a été constaté une variation de pH supérieure à 1,5 unité, conformément à la réglementation de l'OCDE. Les extraits d'écorce de saule et d'absinthe, qui ont la meilleure activité antibactérienne sur *Erwinia atrosepticum*, sont également parmi les moins toxiques pour *Daphnia pulex*.

Les tests in vitro

Trois types de tests *in vitro* ont été effectués sur feuilles détachées ou disques foliaires, provenant du vignoble aquitain de l'IFV : anti-germinatif, curatif et préventif sur différentes espèces de bioagresseurs : champignons phytopathogènes (*Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea*), agents de la pourriture présents sur vigne et, parallèlement, l'activité antibactérienne *Pectobacterium atrosepticum* ou *Pectobacterium carotovorum ssp atrosepticum* responsable de la pourriture molle. La caractérisation des effets inhibiteurs montre que seuls les extraits d'écorce de saule et d'absinthe présentent des activités intéressantes sur les souches étudiées [14].

Certains résultats sont encourageants, notamment l'effet anti-germinatif (antisporulant) (tableau 3) sur les spores de champignons concernés. Les analyses ont, en revanche, montré un effet antifongique avéré sur la germination des champignons pour les quatre extraits : armoise, absinthe, prêle et saule.

Les essais en pots

L'efficacité des produits alternatifs a été testée dans des dispositifs en bloc à quatre répétitions dans des vignobles français, de 2010 à 2012, sur des vignes en pot sous ombrière [15]. Les résultats de l'essai 2011 montrent une bonne efficacité de la prêle, associée à une faible concentration de cuivre métal (150 g/ha vs 400 à 600 g pour la référence régionale), équivalente à celle de la référence cuivre (résultats significatifs). L'efficacité de ces mélanges, supérieure à celle du cuivre à faible dose, laisse envisager au moins une additivité, signe de compatibilité et de complémentarité (graphique 3).

Les essais au vignoble

Les essais ont été effectués (fréquence et intensité d'attaque du mildiou sur feuilles et sur grappes) en association avec une faible dose de cuivre dans le but de maîtrise du mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*, Pv.), une comparaison à une référence cuivre régionale (400 à 600 g/ha), un témoin non traité et modalité faible dose de cuivre (150 g/ha).

Le saule associé à une faible dose de cuivre a une action intermédiaire (non significative). Dans les résultats de 2011, année à faible pression mildiou, l'absinthe associée à une dose réduite de cuivre présente 91 % d'efficacité au niveau de la fréquence d'attaque sur grappes (résultat significatif), cette bonne efficacité est comparable à celle de la référence cuivre. En 2012, année à forte pression mildiou, les modalités alternatives décrochent assez vite.

Sur grappes, dans le cas de l'oïdium, seul l'extrait hydro-alcoolique de prêle a permis de réduire significativement la gravité des dégâts, fin juin, par rapport à la dose réduite de soufre mouillable solo, gain totalement effacé à la mi-juillet. Cet extrait de prêle semblerait donc

pouvoir constituer une solution alternative envisageable, mais exclusivement en situation de pression parasitaire modérée et en sachant que l'estimation de cette dernière se fait, généralement *a posteriori*.

Conclusion générale

Analyse des résultats

La littérature initiale, relativement générale, a pu être agrémentée de données précises [16] propres à générer des homologations. Ce n'est donc pas par hasard si ces préparations ont été choisies, et les résultats *in vitro* confortent partiellement ces choix.

Les résultats obtenus sont conformes aux attentes, avec l'efficacité réelle mais difficilement répétable et reproductible et en condition d'unicité de traitement (sans autre complément ex. cuivre) toute relative. Comme toute solution alternative, les potentiels de remplacement

des pesticides synthétiques sont faibles. De plus, l'efficacité de ces préparations dépend de plusieurs facteurs : origine, âge et terroir des plantes sélectionnées, mode préparatoire (température, concentration, conservation...), et conditions d'application [17]. Malgré tout, les produits alternatifs récents [18], approuvés en substance active avec AMM et utilisable en agriculture biologique, sont du même ordre d'efficacité. L'ITAB a donc proposé de procéder à la régularisation des usages des préparations aqueuses (tisanes, décoctions) dans la catégorie des substances de base du règlement phytopharmaceutique CE n° 1107/2009. ■

Remerciements : Le projet 4P a été financé par le Casdar/DGER.

NDLR : Les références bibliographiques concernant cet article sont disponibles sur simple demande auprès de la Revue des Œnologues.

– Par courrier : joindre une enveloppe affranchie, avec les références de l'article
– Sur internet : www.oeno.tm.fr

SPÉCIALE VITICULTURE

Un ouvrage collectif sous la direction de
Dominique Delanoe, Ingénieur Agronome Œnologue
et **Nathalie Suberville**



Troubles et Dépôts des Boissons Fermentées et des Jus de Fruits

Aspects Pratiques du Diagnostic

Franco France : 67 € TTC
Franco tous pays : 79 €

Avec la collaboration de
Pierre Abasq, Patrick Bertrand,
Sophie Letard et Françoise Simon.

Préface de Christian Asselin
Recteur de l'Union des Œnologues

Pour la première fois, en un ensemble unique, l'exhaustivité des thèmes liés à chaque trouble physico-chimique : l'origine, les tests de stabilité, les moyens de prévention, les méthodes générales d'identification des troubles et dépôts des boissons fermentées vins, cidres, bières...

Une présentation concrète intégrant des fiches techniques, des exemples illustrés par des schémas et des photographies.

collection
Avenir Œnologie

Livres de la collection Avenir Œnologie disponibles sur www.oeno.tm.fr
Bulletin de commande en page 1 de la revue