

Lutte sans cuivre contre le mildiou de la pomme de terre en culture biologique?

Heinz Krebs, Tomke Musa, Susanne Vogelgsang et Hans-Rudolf Forrer
 Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, Reckenholzstrasse 191, 8046 Zurich, Suisse
 Renseignements: Heinz Krebs, e-mail: heinz.krebs@agroscope.admin.ch, tél. +41 44 377 72 34



Essai sur le mildiou, Zürich-Reckenholz 2012; variété Agria.
 Devant: témoin non traité, au fond: traitement avec Phosfik.
 (Photo: ART)

Introduction

Le cuivre exerce une bonne action protectrice contre le mildiou de la pomme de terre (*Phytophthora infestans*). En Suisse, la dose maximale autorisée dans les cultures biologiques de pommes de terre est fixée à 4 kg Cu/ha/an. Dans l'UE, le cuivre est autorisé conditionnellement comme produit phytosanitaire jusqu'au 30 novembre 2016: des mesures doivent être prises pour en réduire les immissions (UE 2009). Étant donné que le cuivre s'accumule dans le sol, il y a un risque évident pour les organismes terricoles. En conditions de plein champ, une baisse de la reproduction des vers de terre a été constatée avec 32 mg de cuivre par kg de sol; 100 mg/kg peuvent entraîner une modification de la structure des populations de vers de terre (Kula *et al.* 2002). Dans les terres assolées mi-lourdes et lourdes, des teneurs en

cuivre de 20 mg/kg de sol sont considérées comme élevées. Cependant, le cuivre est aussi un élément nutritif essentiel pour tous les êtres vivants, mais à toutes petites doses. Chez les plantes, il est indispensable aux processus de synthèse des protéines; chez les animaux, il est nécessaire à la synthèse et à l'action de quelques enzymes ainsi qu'à la formation de l'hémoglobine dans le sang. À cet égard, une interdiction totale du cuivre serait contre-indiquée (Lundsgaard *et al.* 2003).

Du point de vue écotoxicologique, les doses maximales sont fixées à 360 g de Cu/ha/an (Kratz *et al.* 2009). Il se trouve qu'en utilisant seulement 4 kg de Cu/ha dans une culture de pommes de terre incluse dans une rotation de six ans, la quantité de cuivre qui contamine le sol atteint près du double de ce qui est normalement toléré. C'est ce qui nous a incités à examiner d'autres substances, admissibles en culture biologique, afin de réduire les quantités de cuivre.

Au sein d'Agroscope, l'efficacité de plusieurs substances naturelles contre le mildiou a été examinée au cours des dernières années, tant au laboratoire qu'au champ (Dorn *et al.* 2007). Dans d'autres essais, des préparations à base de végétaux aux propriétés antimicrobiennes ont également été testées contre *P. infestans* dans des essais complémentaires en cultures de pomme de terre. En Allemagne et en Autriche, en viticulture biologique, on utilise le phosphite de potassium en tant que renforçateur des défenses des plantes pour réduire l'utilisation du cuivre dans la lutte contre le mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*; Kühne 2010). C'était une bonne raison d'inclure le phosphite de potassium dans nos essais de lutte contre le mildiou de la pomme de terre.

Matériel et méthodes

Pour la préparation des extraits de plantes médicinales destinées à l'expérimentation (fig. 1) toutes les parties des plantes (racines, écorces, feuilles ou fleurs) ont été passées dans un moulin centrifuge (Retsch ZM 200, Haan) en plusieurs étapes successives jusqu'à la grille de 0,25 mm. Pour chacune des substances à tester, une prise

de 3 g a été placée dans 75 ml d'une solution d'éthanol à 10 % et soumise à l'action d'un brasseur magnétique durant deux heures à température ambiante; la suspension a ensuite été filtrée sous vide à travers un micro-filtre en fibre de verre Whatmann®, Cat. No. 1820 060 (VWR, Dietikon). Pour le test de germination des sporanges, le filtrat a encore été centrifugé durant 10 minutes à 6000 t/min et filtré à travers un filtre-seringue Acrodisc® 25 mm, membrane Tuffryn® HT seuil de rétention de 0,2 µm (Pall, Basel). Le produit standard pour la comparaison était l'hydroxyde de cuivre Kocide DF® dosé à 0,05 %; le phosphite de potassium Phosfik® (Biolchim GmbH, Hannover) a été utilisé à la concentration de 1 %.

Test de croissance du mycélium (test de diffusion sur agar)

Les différentes substances ont été testées en boîtes de Petri sur un milieu de culture à base d'agar au seigle. Au centre de chaque boîte, une culture de mycélium (souche n° 01-001) a été inoculée sur 6 mm de diamètre. Autour de ce disque, à 1,5 cm, 6 trous de 6 mm de diamètre ont été évidés, dans lesquels on a pipeté 70 µl de l'extrait à tester. Les boîtes ont été mises en incubation à 18 °C et à l'obscurité. Après 8 jours, la croissance radiale de la culture de mycélium a été mesurée, et l'effet d'inhibition calculé. Chaque série testée comprenait un témoin à l'eau stérile et un standard de référence à base de Kocide DF®.

Test de germination des sporanges

Sur des porte-objets, quatre anneaux de silicone d'un diamètre de 1 cm ont été déposés, au centre desquels on a pipeté 40 µl d'extrait à tester. Après 24 h de séchage, on y a ajouté 40 µl d'une suspension de sporanges (densité de spores: $5,7 \times 10^5$). Les porte-objets ont ensuite été déposés sur un papier-filtre humide dans une boîte fermée et conservés à l'obscurité dans un réfrigérateur à 4 °C. Après 24 h, on a déterminé sous le microscope la fréquence des sporanges germés et calculé le taux de germination relatif. Chaque série testée comprenait aussi un témoin à l'eau stérile et un standard de référence à base de Kocide DF.

Test sur feuilles

Des plantes de pomme de terre de la variété sensible Bintje ont été traitées au stade BBCH-14 avec 20 ml d'extrait contenant 0,1 % du mouillant et adhésif Nu-Film-17® (Andermatt Biocontrol AG). Un jour après l'application, quatre portions de feuilles ont été prélevées sur les plantes traitées puis placées dans des boîtes transparentes mesurant 5×20×30 cm et tapissées d'un papier-filtre reposant sur une grille. Les boîtes ont été

Résumé ■ Le cuivre est fréquemment utilisé dans les cultures biologiques de pommes de terre pour combattre le mildiou *Phytophthora infestans*. Mais cet élément s'accumule dans le sol et, à partir d'un certain taux de contamination, il nuit aux organismes terricoles. En Suisse, la dose d'utilisation autorisée pour le cuivre est de 4 kg/ha/an; en une seule année de culture de pommes de terre dans une rotation de six ans, la limite écotoxicologique de 360 g/ha/an admise pour le cuivre est dépassée à peu près du double de cette valeur.

Au cours des dernières années, Agroscope a examiné de nombreuses substances dans le but de réduire ou supprimer le cuivre dans les cultures de pomme de terre. En conditions de plein champ, de bons résultats ont été obtenus avec le phosphite de potassium. Cependant, selon les quantités utilisées, des résidus se retrouvent dans les tubercules. Par conséquent, les phosphites ne sont guère utilisables en culture de pommes de terre. Dans d'autres essais au champ, une suspension d'écorce de bourdaine (*Frangula cortex*) finement moulue a permis d'atteindre une efficacité partielle comparable à celle du cuivre à 3 kg/ha. Pour ne pas dépasser la quantité de cuivre autorisée, les derniers traitements pour protéger les cultures de pommes de terre du mildiou pourraient être réalisés en recourant à des substances végétales possédant des propriétés antimicrobiennes suffisantes.

légèrement inclinées pour recevoir 150 ml d'eau. Ainsi, seule la base du papier-filtre était en contact direct avec l'eau, le but étant d'entretenir une forte humidité relative dans les boîtes. Les morceaux de feuilles ont été inoculés avec 75 µl d'une suspension de spores d'une densité de $1,4 \times 10^5$. Après 5 à 7 jours à 18 °C et 12 h de lumière, le taux d'infection des feuilles a été déterminé.

Essais au champ

Les substances ayant montré une bonne efficacité dans le test sur les morceaux de feuilles ont été testées au champ en petites parcelles de 5 m² sur les sites Agroscope de Reckenholz et Tänikon. En 2011, on a planté à cet effet Agria et Nicola, deux variétés mi-sensibles, auxquelles on a ajouté, en 2012, la variété très sensible Bintje. Les procédés expérimentaux ont été disposés en

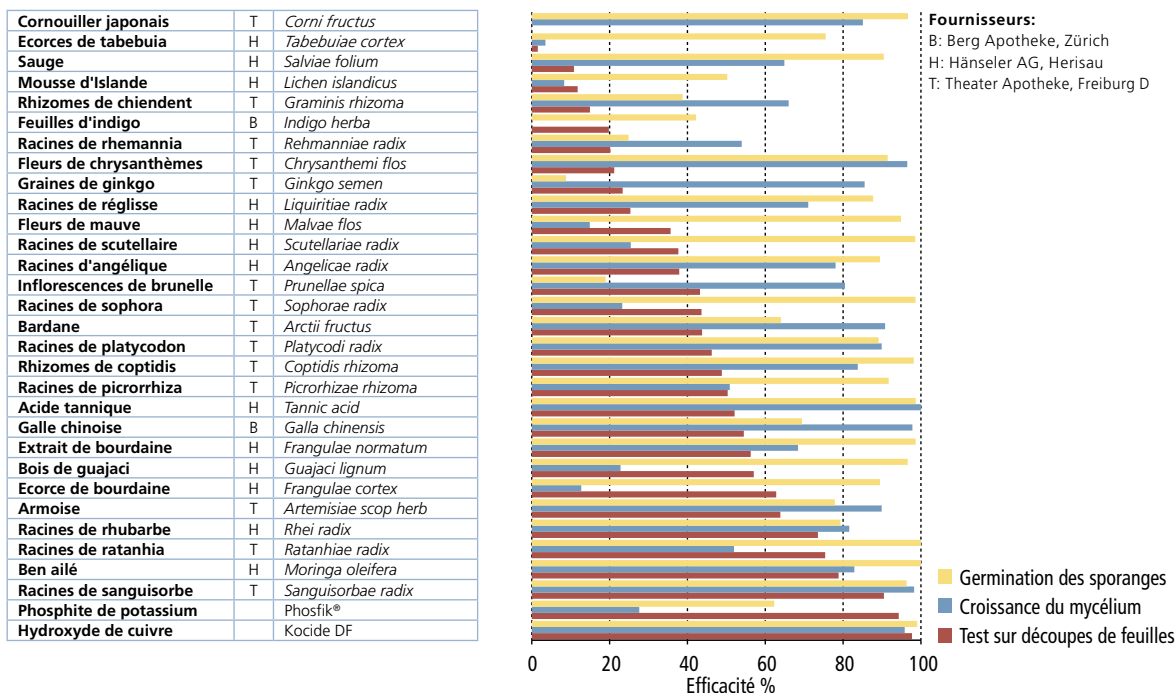


Figure 1 | Effets du cuivre, du phosphite de potassium et des extraits de plantes sur le taux d'infection des découpes de feuilles, sur l'inhibition de la croissance du mycélium et sur la germination des sporanges de *Phytophthora infestans*. Moyennes de deux répétitions de l'essai.

blocs randomisés répétés quatre fois. Huit pulvérisations ont été réalisées chaque année, les substances végétales à tester étant appliquées sous forme de suspension aqueuse à 4 % avec ajout de 0,5 % de Nu-Film 17®. Le procédé de référence a été traité au Kocide DF® à raison de 300 g de Cu/ha. Le phosphite de potassium Phosfik®, Biolchim GmbH, Hannover, a été appliqué à 1,5 l/ha en 2011 et à 3,0 l/ha en 2012 à cause de la forte pression d'infection. En 2011, les produits à base de plantes médicinales *Frangulae normatum* à 4 % et *Sanguisorbae radix* à 4 % ont été appliqués en alternance avec Phosfik® 3,0 l/ha. En 2012, les quatre premiers traitements dans les procédés 4 et 5 ont été effectués en alternance avec Phosfik® à 3,0 l/ha et les suivants respectivement avec Kocide DF® à 300 g/ha et *Frangulae cortex* à 4 %. Dès le début de l'infection et jusqu'à la récolte, le taux d'attaque sur les feuilles a été déterminé chaque semaine et le rendement en tubercules a été mesuré lors de la récolte. Les tubercules du procédé Phosfik® ont été soumis à un contrôle sur les résidus d'acide phosphoreux.

Résultats et discussion

Les screenings effectués au laboratoire et en chambre climatisée ont permis de détecter les substances présentant une action contre *P. infestans*. La figure 1 présente les procédés expérimentaux dans l'ordre croissant de leur efficacité dans le test sur les morceaux de feuilles en

regard de leur effet inhibiteur sur la croissance du mycélium et sur la germination des sporanges. Il apparaît clairement que seuls Kocide DF® et *Sanguisorbae radix* ont présenté une bonne efficacité dans les trois types de tests. *Corni fructus* s'est révélé efficace sur la croissance du mycélium et la germination des sporanges mais sans aucun effet au niveau des feuilles. Tout au contraire, Phosfik® n'a été que partiellement efficace sur le développement du mycélium et sur la germination des sporanges; mais appliqué sur feuilles, il s'est révélé efficace. Ceci indique un faible effet direct de l'acide phosphoreux mais de bons effets induits contre *P. infestans* dans la plante de pomme de terre.

Essais au champ

En 2011 et en 2012, dans les essais en petites parcelles sur les sites Agroscope de Tänikon et de Reckenholz, le taux d'infection des plantes a été évalué dès le début de l'attaque et la récolte a été pesée. Dans la partie supérieure de la figure 2, les colonnes illustrent l'efficacité des différents traitements effectués à Tänikon en 2011. On peut noter une efficacité significative des traitements suivants: Kocide DF®, Phosfik® et *F. cortex* ainsi que *F. normatum* et *S. radix* utilisés en alternance avec Phosfik®.

Au niveau du témoin non traité, la variété Agria a fourni le meilleur rendement grâce à une résistance à la maladie légèrement meilleure et à une contamination plus

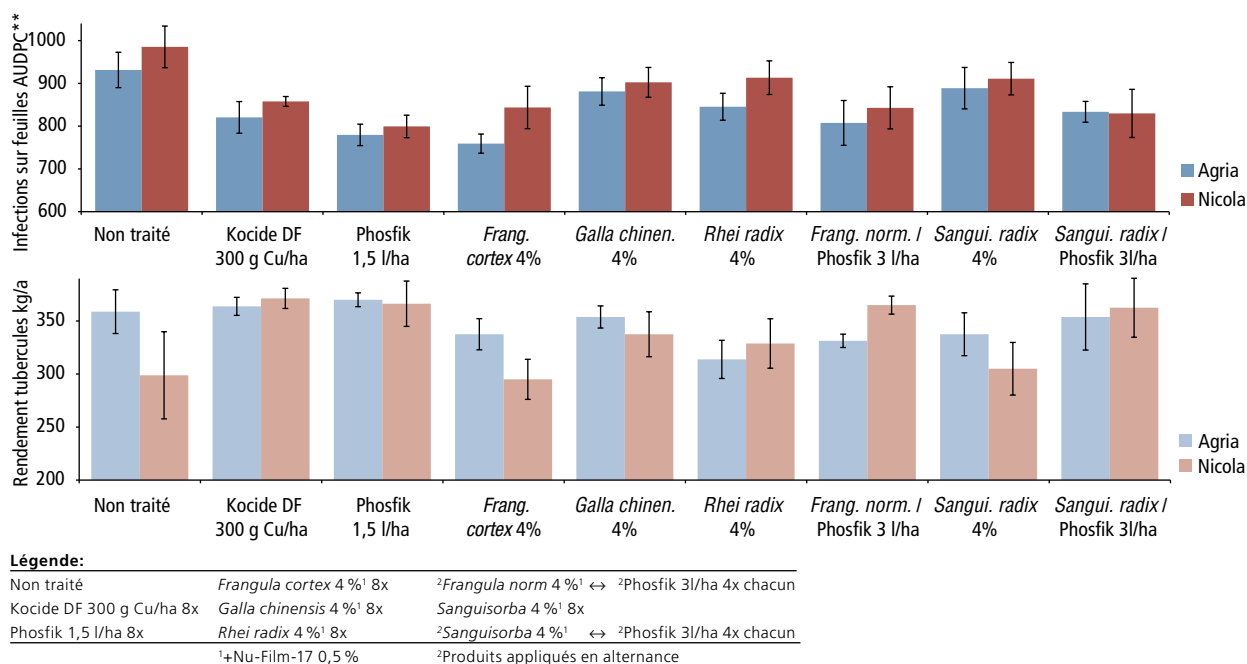


Figure 2 | Infections sur feuilles et rendement en tubercules des variétés Agria et Nicola à Tänikon en 2011. **AUDPC = Area Under the Disease Progress Curve.

tardive. Nicola, quant à elle, a réalisé un supplément de rendement de plus de 20 % (statistiquement assuré) qui est à mettre en relation avec les traitements hebdomadaires avec cuivre et Phosfik® ainsi qu'avec *F. normatum* und *S. radix* utilisés chacun en alternance avec Phosfik®.

En 2012, la pression d'infection est restée forte durant toute la période de végétation à cause des conditions climatiques. Dans ces conditions, sur le site de Zurich-Reckenholz, aucun des traitements appliqués sur la variété sensible Bintje n'a été en mesure de contrer suffisamment le mildiou pour éviter des pertes de rendement (fig. 3). Les valeurs AUDPC inférieures de Bintje par rapport à Agria s'expliquent par une dégradation précoce de son feuillage par la maladie.

Sur Agria, la bonne efficacité du Phosfik® est visible. De plus, les deux procédés comprenant quatre applications de Phosfik® suivies de quatre applications de Kocide DF® ou de *F. cortex* ont été plus efficaces contre le mildiou que les applications continues de cuivre. Huit applications de *F. cortex* ont permis d'atteindre un taux de protection comparable à celui de huit applications de cuivre (8 × 300 g Cu/ha), mais cependant insuffisant en regard de la forte pression d'infection.

A Tänikon, on a aussi enregistré des effets négatifs sur le rendement d'Agria et de Nicola à cause de l'attaque de mildiou de 2012. La meilleure protection et les meilleurs rendements ont de nouveau été obtenus grâce à huit applications de Phosfik®. On a aussi constaté que

les deux procédés comprenant quatre applications de Phosfik® suivies de quatre applications de Kocide DF® ou de *F. cortex* ont été plus efficaces contre le mildiou que huit applications de cuivre; l'effet sur les rendements s'est manifesté dans la même ampleur. Dans cet essai, huit applications de *F. cortex* se sont révélées comparables à celles du cuivre, sans effet positif sur le rendement, en particulier chez Nicola.

En 2012, les premières attaques de mildiou ont eu lieu trois semaines plus tôt que l'année précédente et la pression d'infection était élevée. Pour ces raisons, le Phosfik® a été appliqué à la dose recommandée la plus élevée (3 l/ha). Ainsi, les effets sur le rendement, par rapport au témoin non traité, ont été beaucoup plus marqués qu'en 2011. Dans les conditions de très forte infection de l'année 2012, les traitements au cuivre et avec *Frangula* sont restés sans effet significatif sur le rendement. La bonne efficacité anti-mildiou et l'excellent effet sur le rendement du traitement au Phosfik® sont dus à la résistance de ce produit à la pluie ainsi qu'à l'action protectrice et curative du phosphite de potassium. Compte tenu de leur efficacité, les produits à base de phosphite constituent une bonne solution de substitution au cuivre pour au moins en diminuer l'accumulation dans le sol. Cependant, on sait que ce type de produit laisse des résidus qui peuvent s'accumuler dans la récolte. Toutefois, des études faites en arboriculture ont montré que les applications de phosphites avant la flo- ➤

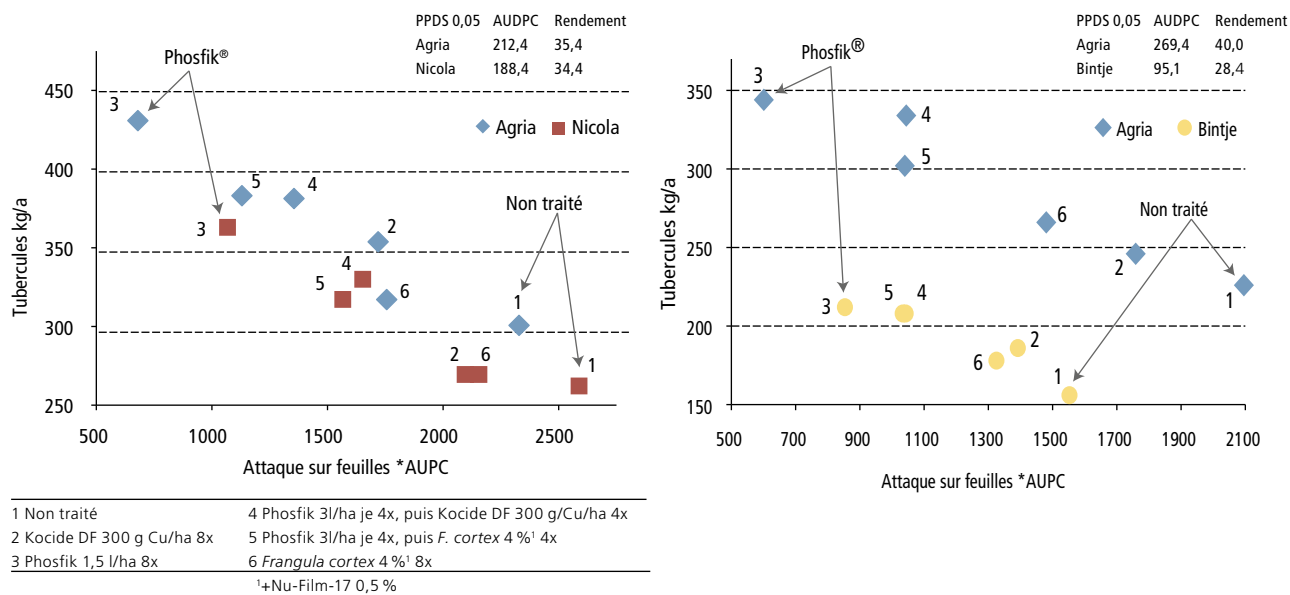


Figure 3 | Taux d'attaque sur feuilles et rendement en tubercules dans les essais de Tânikon (à gauche) et de Zurich-Reckenholz (à droite), en 2012. *AUDPC = Area Under the Disease Progress Curve.

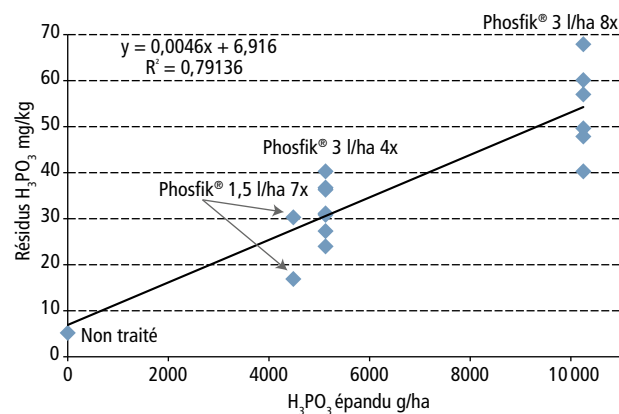


Figure 4 | Essais au champ de 2011 et 2012: Résidus d'acide phosphoreux dans les tubercules de pomme de terre en fonction des quantités de Phosfik® appliquées sur le feuillage pour combattre le mildiou.

raison ne laissent pas de résidus dans les fruits (Kelderer *et al.* 2010). On a donc examiné si les applications précoces de Phosfik® sur pomme de terre permettaient de réduire les quantités de résidus dans les tubercules.

Les analyses quantitatives d'acide phosphoreux par chromatographie ionique ont montré que la quantité de résidus dans les tubercules dépend dans une large mesure des doses appliquées (fig. 4). Bien que l'acide phosphoreux ne présente guère de risques au point de vue toxicologique (Michalik 2010), des résidus dans les tubercules sont incompatibles avec l'éthique de la culture biologique.

L'efficacité insuffisante du cuivre peut être expliquée de différentes manières:

1. En 2012, le modèle Bio-PhytoPRE a fait déclencher la première intervention beaucoup trop tard compte tenu du mode d'action préventif du cuivre.
2. Lors d'applications de cuivre inférieures à 400 g Cu/ha suivies de plus de 20 mm de pluie, l'effet protecteur ne suffit pas pour tenir la semaine.
3. Le système prévisionnel Bio-PhytoPRE devrait permettre de mieux optimiser les dates d'intervention.

La bonne efficacité du Phosfik® repose pour l'essentiel sur une absorption rapide par les plantes, une bonne résistance à la pluie ainsi que sur les propriétés curatives du phosphite de potassium si l'application suit directement l'infection. Malheureusement, les phosphites ne pourront guère être pris en considération pour diminuer l'utilisation de cuivre en cultures biologiques de pomme de terre à cause des résidus qu'ils laissent dans les tubercules. Toutefois, une démarche intégrée commençant par la culture de variétés peu sensibles au mildiou, en utilisant de nouvelles formulations du cuivre, en recourant à des substances végétales adéquates et en adaptant le système prévisionnel Bio-PhytoPRE, il devrait être possible de diminuer les quantités de cuivre de manière substantielle. ■

Riassunto

Lotta alla peronospora della patata nella coltivazione biologica senza utilizzo di prodotti a base di rame?

Il rame viene utilizzato nella coltivazione biologica delle patate contro la *Phytophthora infestans*, agente patogeno della peronospora. Esso si accumula nel terreno e in quantità elevate nuoce agli organismi presenti nel suolo. La quantità di rame consentita in Svizzera, ovvero 4 chilogrammi per ettaro e anno, supera di circa il doppio quella ecotossicologicamente sopportabile di 360 grammi l'ettaro e l'anno già con un anno di coltivazione di patate in una rotazione delle colture sessennale. Negli ultimi anni, Agroscope ha esaminato diverse sostanze allo scopo di ridurre o sostituire il rame nella coltivazione delle patate. Sono stati ottenuti buoni risultati con potassio fosfato bibasico anidro in condizioni normali. A seconda, però, delle quantità immesse di tale sostanza, nei tuberi si formano residui. Per tale ragione, i prodotti a base di fosfonati non vengono quasi mai applicati nella coltivazione biologica di patate.

Negli esperimenti in pieno campo è stato raggiunta un'efficacia parziale comparabile a quella di 3 chilogrammi di rame per ettaro con una sospensione di corteccia di frangola *Frangulae cortex* finemente macinata. Per non superare le quantità di rame consentite, negli ultimi trattamenti si potrebbero proteggere le patate dall'infezione tramite un'adeguata formulazione di sostanze vegetali con proprietà antimicrobica.

Bibliographie

- Dorn B., Musa T., Krebs H., Fried P. & Forrer H.-R., 2007. Control of late blight in organic potato production: evaluation of copper-free preparations under field, growth chamber and laboratory conditions. *European Journal of Plant Pathology* **119**, 217–240.
- EU 2009. Amtsblatt der Europäischen Union, Richtlinien der Kommission 2009/37/EG, vom 23. April 2009, Anhang I, 91/414 EWG, N 282.
- Kelderer M. & Gramm D., 2010. K-Phosphonat als Wirkstoff für den Pflanzenschutz. 14. Fachgespräch, Berlin-Dahlem, 09. November 2010: Pflanzenschutz im Ökologischen Landbau – Probleme und Lösungsansätze, 14–16.
- Kratz S., Haneklaus S. & Schnugg E., 2009. Kupfergehalte in Acker- und Grünlandböden und das Verhältnis dieser Gehalte zu den durch Pflanzenschutz ausgebrachten Kupfermengen. *Journal für Kulturpflanzen* **61**, 112–116.
- Kula Ch. & Guske S., 2002. Auswirkungen von Kupfer auf Bodenorganismen bei langjähriger Anwendung. 7. Fachgespräch, Berlin-Dahlem,

Summary

Copper free control of potato late blight in organic potato production?

Copper is used in organic potato production to control the late blight pathogen *Phytophthora infestans*. A disadvantage of copper is, that it accumulates in the soil and damages soil organisms. In Switzerland, the application of 4 kg of copper per hectare and year is allowed. In a six year crop rotation, the ecotoxicologically acceptable amount of 360 g per hectare and year is exceeded by a factor of around two by just one year of potato cultivation.

Over the past few years, Agroscope has been testing different substances with the aim to reduce or replace copper in potato production. Satisfying results were achieved with potassium phosphonate under field conditions, however, residues are accumulated in the tubers depending on the input quantity. For this reason, phosphonate products will probably not be applied in organic potato farming.

In the field trials, a partial effect comparable to 3 kg copper per hectare was achieved by a suspension of finely ground alder buckthorn bark (*Frangulae cortex*). In order not to exceed the permitted amount of copper, the potatoes could be protected from late blight infestation by using suitable formulations of plant substances with antimicrobial properties in the final treatments.

Key words: late blight, organic potato production, copper fungicides, plant extract, phosphonate, laboratory screening, field trial.

- 06. Juni 2002: Alternativen zur Anwendung von Kupfer als Pflanzenschutzmittel, 11–16.
- Kühne S., 2010. Phosphonate. 14. Fachgespräch, Berlin-Dahlem, 09. November 2010: Pflanzenschutz im Ökologischen Landbau – Probleme und Lösungsansätze, 4.
- Lundsgaard K., Prochazka V. & Fuchs N., 2003. Kupfer ist mehr als ein Schwermetall – Kupfer als Pflanzenschutzmittel im biologischen Rebbau. Eine Literaturstudie, 11. Accès: http://www.sektion-landwirtschaft.org/uploads/media/Kupfer_ist_mehr_als_ein_Schwermetall_01.pdf
- Michalik S., 2010. Phosphonate: Dünger? Pflanzenstärkungsmittel? Fungizid? 14. Fachgespräch, Berlin-Dahlem, 09. November 2010: Pflanzenschutz im Ökologischen Landbau – Probleme und Lösungsansätze, 10–13.