

**AFPP – 6<sup>e</sup> CONFÉRENCE SUR LES MOYENS ALTERNATIFS DE PROTECTION  
POUR UNE PRODUCTION INTÉGRÉE  
LILLE – 21, 22 ET 23 MARS 2017**

**CONTROLE ALTERNATIF DU MILDIOU DU BASILIC : UN CHALLENGE !**

M. TRAGIN <sup>(1)</sup>, O. STAPEL <sup>(2)</sup>, M. TURNER <sup>(3)</sup>, C. MONOT <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> ASTREDHOR, 1 rue des Magnolias 49130 Les Ponts de Cé, France, [maud.tragin@astredhor.fr](mailto:maud.tragin@astredhor.fr)

<sup>(2)</sup> ASTREDHOR, École d'horticulture de Saint-Ilan 22360 Langueux, France, [oscar.stapel@astredhor.fr](mailto:oscar.stapel@astredhor.fr)

<sup>(3)</sup> VEGENOV, Pen ar Prat 29250 Saint Pol de Léon, France, [turner@vegenov.com](mailto:turner@vegenov.com) et [monot@vegenov.com](mailto:monot@vegenov.com)

## **RÉSUMÉ**

Le mildiou du basilic, causé par *Peronospora belbahrii*, est une maladie relativement récente qui est devenue très problématique pour les producteurs de basilic en pot ou en pleine terre, pouvant aller jusqu'à la destruction des cultures. Il n'existe, à ce jour, aucune solution suffisamment efficace pour lutter contre cette maladie ; une stratégie basée sur le renforcement de la santé du basilic a donc été élaborée. Pour cette étude, toute une gamme de produits alternatifs a été sélectionnée (extraits d'algues, de plantes, microorganismes, minéraux et oligoéléments) ainsi que deux méthodes techniques (thigmomorphogenèse et éclairage LED). Dans un premier temps, ces solutions ont été évaluées en conditions contrôlées pour effectuer un premier screening. Puis, les différentes méthodes alternatives sélectionnées ont été testées en combinaison dans différentes stations d'expérimentations afin d'optimiser leur efficacité. Les premiers résultats sont prometteurs.

Mots-clés : basilic, mildiou, *Peronospora belbahrii*, méthodes alternatives.

## **ABSTRACT**

### **ALTERNATIVE DOWNY MILDEW PROTECTION IN BASIL: A CHALLENGE**

Downy mildew in basil caused by *Peronospora belbahrii* is a severe and relatively recent fungal disease that affects many potted as well as in soil cultures and the result may be total destruction. Today no effective protection exists against this disease and in this study, we explore the possibility to reinforce the natural defense mechanisms of basil with natural products. We evaluated products based containing algae extracts, plant extracts, microorganisms, minerals and oligo elements and similarly we also evaluated technical interventions (induction of thigmomorphogenesis and led lighting). First of all, these solutions were evaluated under controlled conditions and the promising products/techniques were thereafter evaluated alone or in combination under production conditions. The first results seem promising but further testing is needed to increase protection effectiveness.

Keywords : basil, downy mildew, *Peronospora belbahrii*, alternative methods.

## INTRODUCTION

En France, le basilic est une plante aromatique très appréciée par le consommateur. De ce fait, cette espèce occupe une place stratégique dans la production industrielle de plantes aromatiques (250 ha cultivés en France), mais aussi dans la production maraîchère périurbaine et horticole d'aromates en pots à destination de l'amateur.

Depuis une dizaine d'années, les cultures de basilic en Europe sont attaquées par une maladie spécifique d'origine fongique : le mildiou. Le pathogène responsable de cette maladie, *Peronospora belbahii*, provoque des symptômes foliaires qui rendent la plante impropre à la consommation en frais mais aussi à la transformation (surgélation, déshydratation) (Garibaldi *et al.*, 2005). Cette maladie touche actuellement les principales régions de production en France, en Europe et dans le reste du monde et provoque des pertes économiques très importantes.

*Peronospora belbahii* se développe par climat doux et humide. Les premiers symptômes se caractérisent par un feutrage gris sur la face inférieure des feuilles. Les feuilles bien attaquées jaunissent puis finissent par se nécroser et tomber au sol (KOROCH *et al.*, 2013). Pour limiter les risques de contamination, les mesures prophylactiques sont indispensables (rotation, faible densité, pilotage de l'irrigation) mais elles restent insuffisantes pour enrayer la maladie une fois déclarée. Le secteur de l'agriculture biologique est particulièrement impacté car il ne dispose, actuellement, d'aucun moyen de lutte efficace contre cette maladie. En conventionnel, un produit phytosanitaire efficace est homologué et permettait, jusque-là, de limiter les dégâts dus à cette maladie. Mais le recours systématique et répété à celui-ci l'expose à une adaptation rapide du pathogène le rendant inefficace à court terme.

Devant l'ampleur du problème et la rareté de solutions techniques simples, l'iteipmai, en collaboration avec des stations de l'institut technique horticole Astredhor, des centres de recherche publics et privés et des professionnels agriculteurs et horticulteurs regroupés en réseaux, a mis en place un programme de recherche multidisciplinaire (projet MILAROM- 2014/2016) afin de trouver des solutions intégrées à ce problème pathologique, en menant des travaux en protection phytosanitaire conventionnelle et alternative, en création variétale et en agronomie.

Le présent article ne concerne pas l'ensemble du projet MILAROM, mais uniquement la partie consacrée aux méthodes alternatives testées.

## MATERIEL ET MÉTHODE

Notre démarche a tout d'abord été d'exploiter la bibliographie existante, l'expérience et le réseau professionnel de chacun des membres du projet pour sélectionner des solutions potentiellement efficaces et adaptées aux producteurs de basilic. Dans un second temps des tests en conditions contrôlées et semi-contrôlées avec inoculation artificielle du pathogène ont été réalisés afin d'évaluer les produits sélectionnés. Les produits retenus lors de cette étape ont fait ensuite l'objet d'une nouvelle évaluation en conditions semi-contrôlées avant d'être testés en conditions réelles de production.

Ces différentes étapes sont détaillées ci-dessous.

### SELECTION DES SOLUTIONS

#### Sélection des produits par étude bibliographique

Au vu de l'importance économique des dégâts provoqués par *Peronospora belbahii*, de nombreuses études, notamment aux États-Unis ont porté sur l'évaluation de solutions alternatives. Le tableau ci-dessous présente les produits qui ont été retenus.

Tableau I: Type de produits retenus – List of selected products

Type de solution	Matière active	Exemple de source bibliographique	Produit retenu
Microorganismes	<i>Bacillus</i> sp.	Giovani <i>et al.</i> , 2013	<i>Bacillus pumilus</i> QST2808 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> IT45
	<i>Trichoderma</i> sp.	Sadoma M. T., 2011	<i>Trichoderma harzianum</i> T22
	<i>Gliocladium</i> sp.		<i>Gliocladium catenulatum</i> J1446
	Champignons mycorhiziens à arbuscules	SIMARD F., 2014	-mélange de champignons mycorhiziens - <i>Rhizophagus irregularis</i>
Compost	Compost	Reuveni R. <i>et al.</i> , 2002	Compost normé thé de compost
Extrait de plante	Extrait de Reynoutria	Réseau ELICITRA	Confidentiel (1 produit retenu)
	Extrait d'algues		Confidentiel (3 produits retenus)
Autres	Silice+cuivre		Confidentiel (2 produits retenus)
	lithotame		Confidentiel (1 produit retenu)
	Chitosan	Confidentiel (1 produit retenu)	
	Désinfectant pour l'eau d'irrigation	Proposé par un agrofournisseur	

#### Sélection de deux techniques culturelles innovantes

En plus des produits cités précédemment, deux techniques culturelles ont été sélectionnées : la culture sous LED et la culture avec thigmomorphogenèse (modification de la morphologie des plantes par le toucher). Ces deux techniques ont pour but de stimuler le système immunitaire des basilics, elles sont travaillées depuis plusieurs années dans les stations ASTREDHOR pour limiter l'usage des régulateurs de croissance.

Concernant l'éclairage LED, les travaux de Cohen en 2013, ont montré que l'éclairage nocturne pouvait inhiber la sporulation de *P. belbarhii* et ainsi limiter la dissémination de la maladie. Cependant, l'efficacité de cette méthode dépend du type d'éclairage utilisé. Dans notre étude, des LED rouges ont été utilisées.

#### **EVALUATION DES SOLUTIONS**

Trois structures se sont partagées l'évaluation des différentes solutions : le laboratoire Vegenov et deux stations ASTREDHOR l'une à Langueux (29), l'autre aux Ponts de Cé (49). Le laboratoire Vegenov a évalué les produits en conditions contrôlées, en chambre climatique. Les deux stations ASTREDHOR ont quant à elles testées les produits en conditions semi-contrôlées et les deux techniques culturelles. Concernant les produits, ils ont été répartis entre les trois structures suivant le tableau ci-dessous :

Tableau II: Répartition des produits en fonction des structures – Products repartition

Matière active	Structure effectrice
- extrait d'algues -extrait de Reynoutria -association de silice et cuivre	Vegenov
-lithotame - produits proposés par des agrofournisseurs	ASTREDHOR site de Langueux
-Bacillus pumilus -Bacillus amyloliquefaciens -Gliocladium catenulatum -Champignons mycorhiziens -Trichoderma harzianum -Compost -Thé de compost	ASTREDHOR site des Ponts de Cé

Les essais ont tous été réalisés sur des jeunes plants de basilic 'Marian' issus de semis (semences biologiques fournies par un des partenaires du projet).

#### Méthodologie utilisée pour l'évaluation des produits au laboratoire Vegenov

Les tests ont été réalisés en chambre climatique afin de contrôler finement la température et l'hygrométrie. Les conditions ont été déterminées de manière à favoriser un développement non explosif de la maladie. Les différentes étapes de l'évaluation sont présentées dans la figure 1.

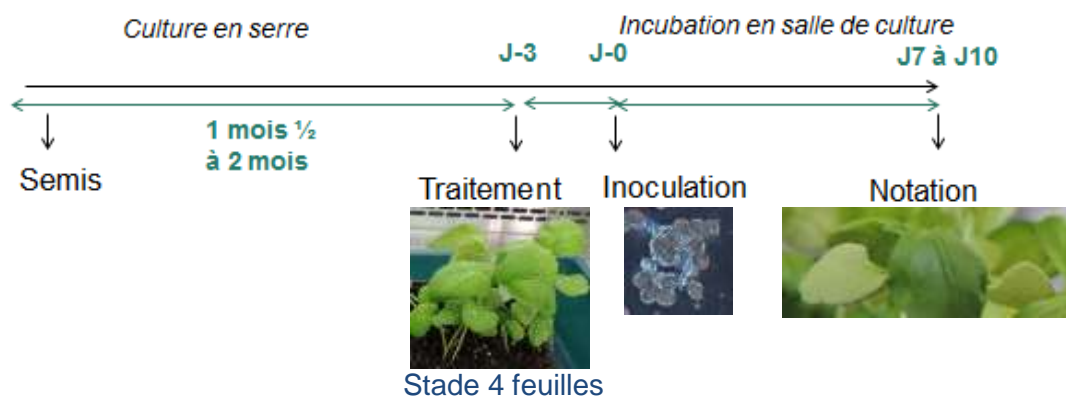


Figure 1: Étapes de l'évaluation des produits– Evaluation steps (source Vegenov)

Les produits ont été appliqués par pulvérisation de manière à bien mouiller tout le feuillage des jeunes plants. Trois jours après traitement, l'inoculation a été réalisée en pulvérisant sur les plants une solution contenant des spores de *Peronospora belbahii*.

Sept jours après inoculation, des notations précises (évaluation des symptômes sur chaque feuille de chaque plante) et régulières ont été effectuées suivant une échelle à 6 points.

#### Méthodologie utilisée pour l'évaluation des produits aux deux stations ASTREDHOR

Dans les stations ASTREDHOR, les essais ont été conduits en conditions semi-contrôlées, sous serre à Langeux et sous tunnel aux Ponts de Cé. Tout comme à Vegenov, les plantes ont été cultivées hors sol, en pot, à partir d'un semis (5 graines par pot de diamètre 13). Les modalités étaient disposées en bloc de Fisher (5 répétitions sur le site des Ponts de Cé, 3 sur le site de Langeux). Une inoculation artificielle a été effectuée à l'aide de plants de basilic contaminés (1 plante malade positionnée dans chaque parcelle). En fonction des produits, les traitements ont été faits au semis ou au stade 4 feuilles. Pour certains produits, des renouvellements ont été effectués, c'est notamment le cas pour les produits testés à Langeux et le thé de compost qui ont été appliqués toutes les semaines.

Pour ces essais, le nombre de plantes à noter étaient beaucoup plus important qu'au laboratoire Vegenov ; l'échelle de notation a donc été simplifiée. En début d'attaque, le rapport nombre de feuilles atteintes sur le nombre de feuilles totales a été déterminé pour chaque parcelle. Plus la maladie s'étendait plus la notation était lourde en terme de temps ; pour les dernières notations une échelle simplifiée a été utilisée : 0= plante indemne, 1 ou a = plante avec sporulation mais verte, 2 ou b =plante avec sporulation et feuillage terne, 3 ou c =plante avec sporulation et feuillage jaune, 4 ou d =plante avec sporulation et feuillage nécrosé.

#### Méthodologie utilisée pour l'évaluation des deux techniques alternatives

L'éclairage LED et la thigmomorphogenèse ont été évalués dans les deux stations ASTREDHOR, en conditions semi-contrôlées. Contrairement aux essais produits, pour évaluer chacune des deux techniques, deux lots de plantes ont été constitués : un lot témoin et un lot stimulé. Les figures ci-dessous illustrent les différences entre les essais.

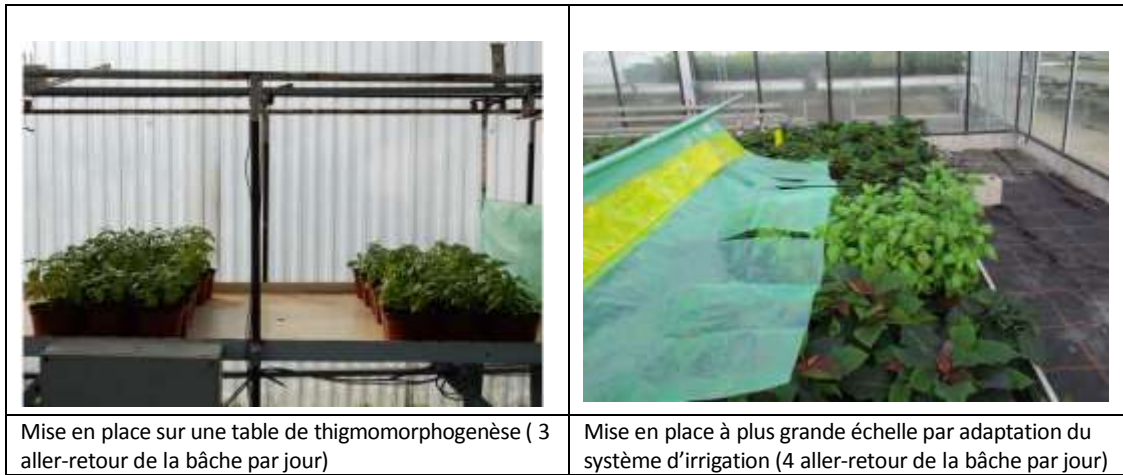


Figure 2: illustration des essais thigmomorphogénèse – Trials illustrations

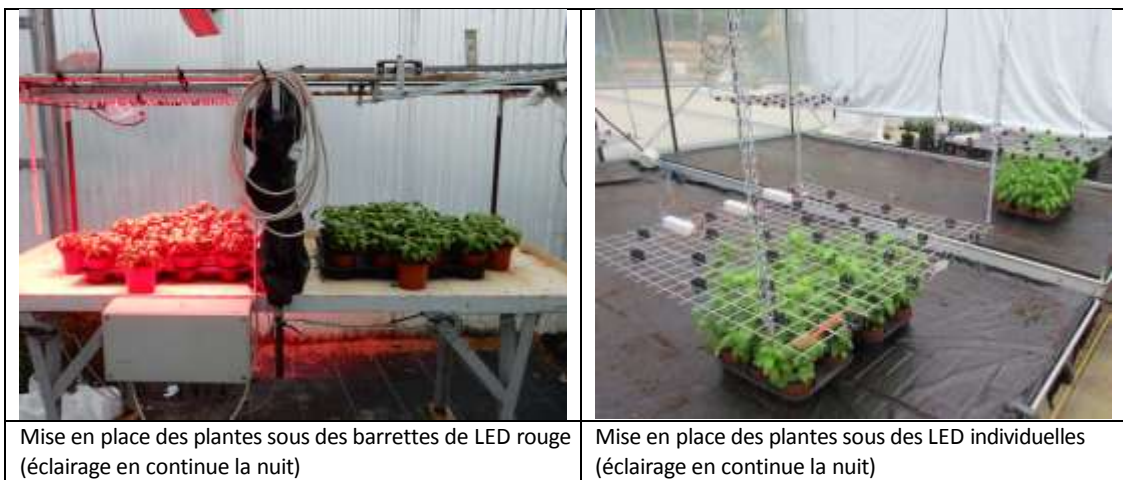


Figure 3 : illustration des essais éclairage LED – Trials illustrations

## RESULTATS

### RESULTATS OBTENUS PAR LE LABORATOIRE VEGENOV

Les résultats obtenus sont présentés dans les figures suivantes (figures 4 et 5) :

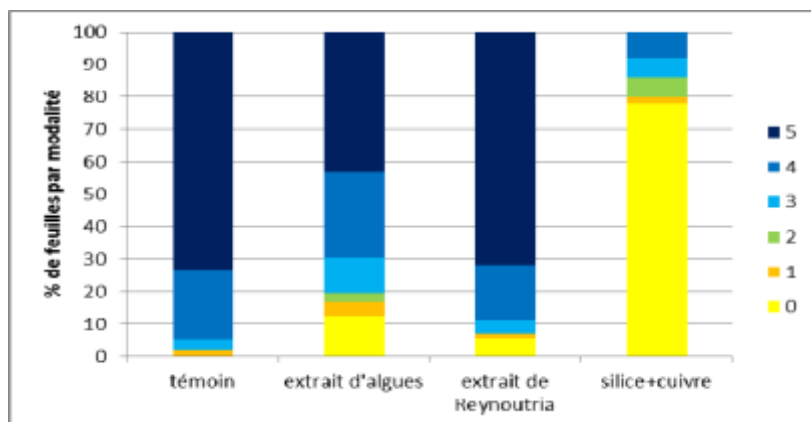


Figure 4: Pourcentage de feuille pour chaque niveau de contamination en fonction des produits - Percentage of leaves for each level of contamination depending on products.

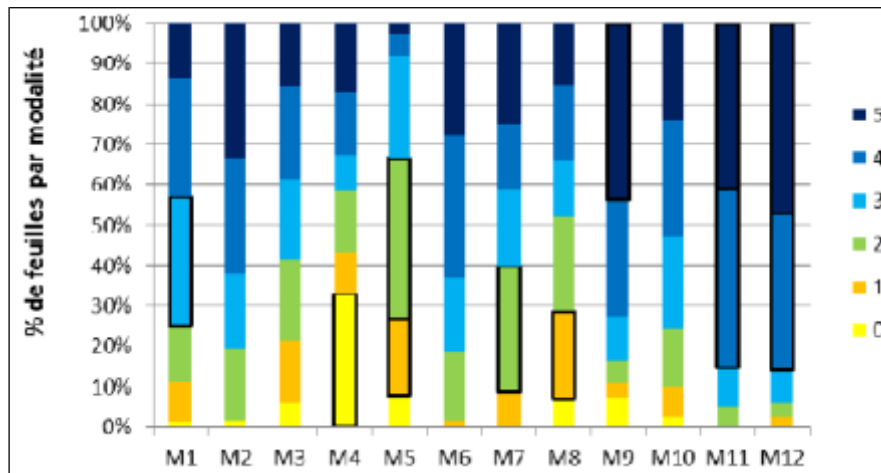


Figure 5: Pourcentage de feuille pour chaque niveau de contamination en fonction des produits (M1=témoin, M2 à M7 = extrait d’algues, M8=polysaccharide, M9 =extrait minéraux, M10 à M12 = extrait végétaux)- Percentage of leaves for each level of contamination depending on products (M1=control, M2 à M7 = algae extract , M8=polysaccharids, M9 =mineral extract, M10 à M12 = vegetal extract)-

En conditions contrôlées avec inoculation douce du pathogène, certains produits alternatifs permettent de ralentir le développement du pathogène. D’après les analyses statistiques réalisées (test du  $\chi^2$ ), les modalités qui montrent une efficacité sont : silice+cuivre (figure 4), deux extraits d’algues et un polysaccharide (figure 5).

#### RESULTATS OBTENUS PAR LA STATION ASTREDHOR SITE DE LANGUEUX

##### Évaluation des produits

Malgré l’inoculation artificielle des plantes via le positionnement de plantes malades au sein des parcelles, les plantes de l’essai n’ont pas été atteintes par le mildiou. Aucun résultat n’a donc été obtenu lors de ce premier essai qui a donc été reconduit en 2016.

En 2016, l’attaque a été tellement forte qu’aucune efficacité n’a été mise en évidence (figure 6).

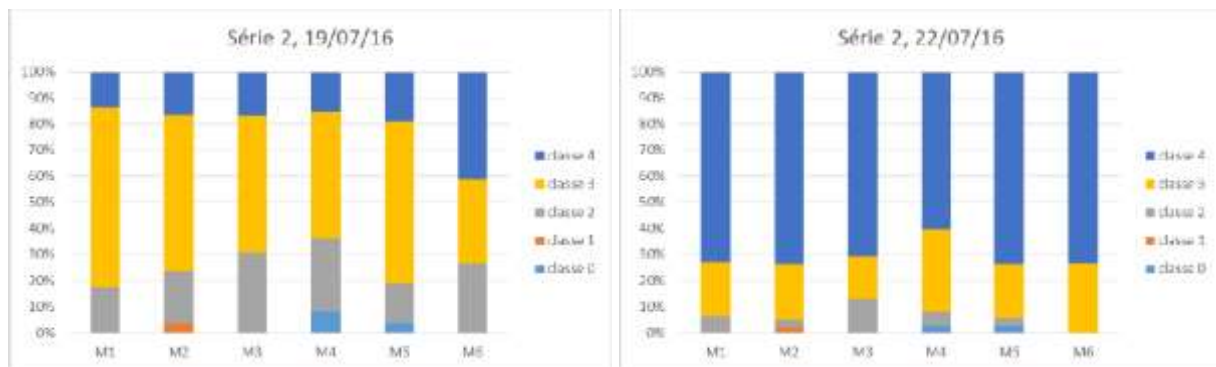


Figure 6 : pourcentage de plantes pour chaque niveau de contamination en fonction des produits (M1=témoin, M2=biostimulant, M3=lithotame, M4=biostimulant, M5=biostimulant, M6=biostimulant)– Percentage of plants for each level of contamination depending on products (M1=control, M2=biostimulant, M3=lithotame, M4=biostimulant, M5=biostimulant, M6=biostimulant)

##### Évaluation des techniques alternatives

La maladie ne s’est pas déclarée, aucune conclusion n’a pu être faite sur l’efficacité des produits testés vis-à-vis de *Peronospora belbahii*. Les deux techniques culturales ne semblent pas non plus avoir eu d’effet sur la morphologie des plantes.

## RESULTATS OBTENUS PAR LA STATION ASTREDHOR SITE DES PONTS DE CE

### Évaluation des produits

Les deux graphiques ci-dessous présentent les résultats obtenus lors des deux dernières notations (essais réalisés en 2015).

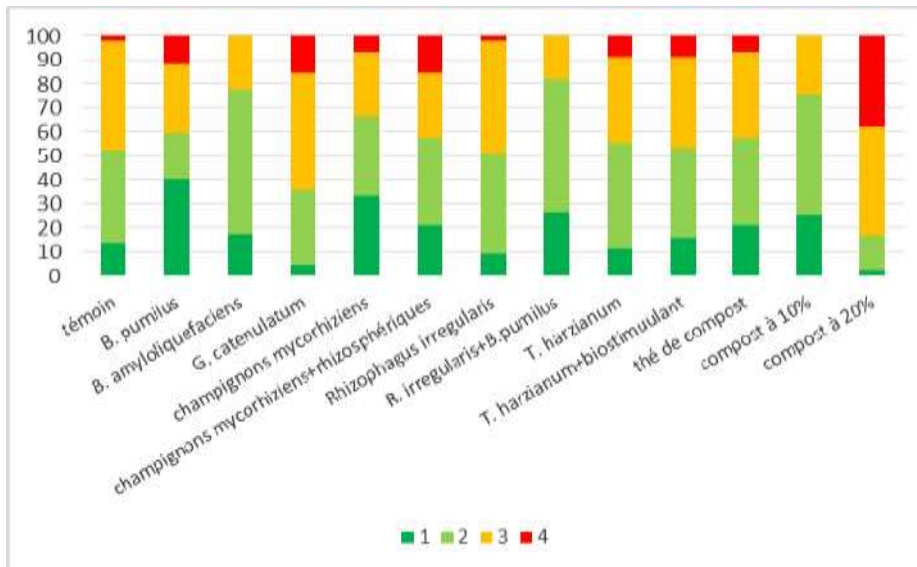


Figure 7 : pourcentage de plantes pour chaque niveau de contamination en fonction des produits (date :18/09/15) – Percentage of plants for each level of contamination depending on products (date :18/09/15).

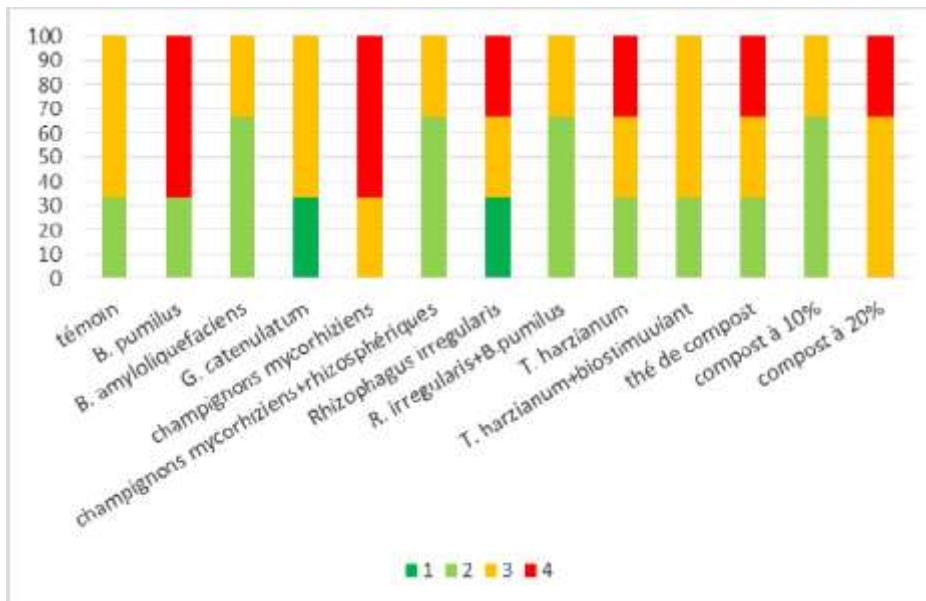


Figure 8 : pourcentage de plantes pour chaque niveau de contamination en fonction des produits (date : 29/09/15) – Percentage of plants for each level of contamination depending on products (date : 29/09/15)

Les analyses statistiques (test Z de 2 proportions sur les données catégorie 1+2, pour identifier les différences au seuil de  $\alpha/2$ ) ont mis en évidence des différences entre les modalités. À la date du 18 septembre 2015, 4 traitements ont été identifiés comme efficace : *R. irregularis*+*B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, compost à 10 % et le mélange de champignons mycorhiziens. Pour la dernière notation, les analyses statistiques donnent à peu près les mêmes résultats : *R. irregularis*+*B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, compost à 10 % et le mélange de champignons mycorhiziens et rhizosphériques.

En 2016, nous avons retenu le compost à 10% que nous avons incorporé au substrat de toutes les modalités et le produit à base de *B. amyloliquefaciens* que nous avons combiné ou non avec des produits alternatifs non microbiens validés au labo par Vegenov. Ces modalités ont été comparées à un témoin eau et à un témoin chimique le Bion Mx. Les résultats sont les suivants :

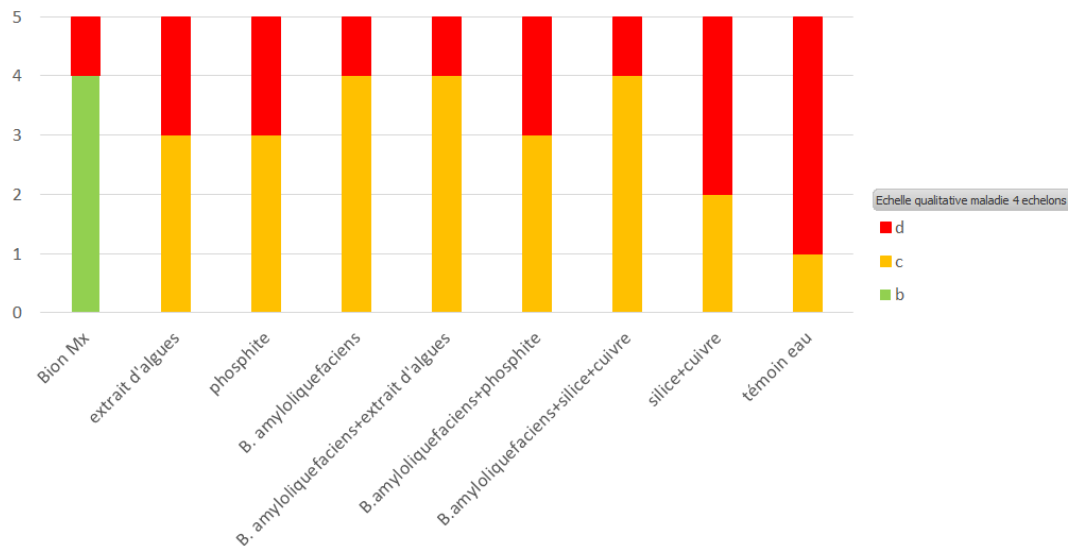


Figure 9: Bilan du niveau d'infestation de chaque parcelle en fonction de la modalité de traitement (essai 2016) – level of contamination at the end of the trial depending on treatments (trial 2016).

D'après la figure 6, les plantes traitées au Bion Mx sont beaucoup moins atteintes que les plantes témoin (test Z de 2 proportions au seuil  $\alpha/2$  sur les données de la catégorie C). Les basilics traités avec les produits alternatifs, bien qu'un peu moins atteints que les témoins, sont néanmoins très malades et impropres à la vente (plante jaune avec sporulation) (différences non statistiques).

#### Évaluation des techniques alternatives

Pour l'essai « lumière », les résultats n'ont pas pu être exploités du fait d'un biais lié à l'irrigation. Concernant l'essai « thigmomorphogénèse », la stimulation des plantes n'a pas permis de limiter le développement du mildiou. En revanche, un effet sur la croissance des plantes a été constaté et validé par analyses statistiques.



Figure 10: effet de la thigmomorphogénèse sur le développement des plants de basilic – effect of thigmomorphogenesis on basilic development

## DISCUSSION

Le mildiou du basilic est une maladie très agressive et de ce fait difficile à maîtriser même avec des produits phytosanitaires. Aujourd'hui les producteurs en conventionnel utilisent le Bion Mx en préventif et curatif. Mais l'usage unique de ce produit risque de sélectionner au fur et à mesure les souches résistantes de *Peronospora belbarhii*. L'évaluation d'autres solutions est donc nécessaire pour pouvoir agir plus efficacement sur ce pathogène et limiter l'apparition des souches résistantes.

Dans la gamme de solutions alternatives testées, certains produits ont montré une efficacité marquée en conditions contrôlées. Ainsi, pour les essais en conditions semi-contrôlées réalisés en 2016 nous avons sélectionné un produit à base de silice et de cuivre et le meilleur des produits à base d'algues.

Le premier stimule les défenses des plantes et limite le développement des champignons.

Parmi les autres produits qui ont été testés en conditions semi-contrôlées en 2015 (infestation homogène et non foudroyante), seul le produit à base de *Bacillus amyloliquefaciens* et le compost à 10 % ont montré une légère efficacité. Pour les essais 2016 (infestation rapide), nous avons cherché à optimiser l'efficacité des produits en les combinant, mais les résultats ne sont pas très probants puisqu'aucune solution alternative n'équivaut le Bion Mx.

Bien que nous n'ayons pas identifié de nouvelles solutions efficaces, ces travaux ont le mérite de mettre en évidence, une fois encore, la différence d'efficacité des produits en conditions contrôlées (laboratoire) et semi-contrôlées. Un travail sur la méthodologie doit être entrepris afin de limiter ces différences en labo et station d'expérimentation et permettre une transposition plus rapide des résultats du labo au champ. La dynamique de la maladie est notamment un point important qu'il est nécessaire de caractériser. Le mode et la fréquence d'application des produits est également un point qu'il faut travailler.

## CONCLUSION

*Peronospora belbarhii* est un biotrophe obligatoire spécifique responsable de pertes économiques importantes pour les producteurs qui cultivent le basilic en pot ou en pleine terre. Actuellement, seules la prophylaxie et les applications de Bion Mx en préventif sont pratiquées pour limiter de façon efficace le développement de ce mildiou. Aucune solution curative n'existe actuellement ce qui pousse les producteurs à détruire leur culture une fois la maladie déclarée. Au vu de ce constat, ils nous semblaient important de rechercher des solutions viables pour les producteurs qu'elles soient chimiques, alternatives ou génétiques.

Les travaux qui sont ici présentés montrent que certaines méthodes alternatives, tout comme la prophylaxie, peuvent aider le producteur à limiter le développement de la maladie. Cependant, leur action est préventive et en aucun cas curative. D'après nos travaux, aucune des méthodes alternatives testées n'est aussi efficace que le Bion Mx.

## REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont tout d'abord à tous les partenaires du projet pour leur collaboration et aux agrofournisseurs qui ont bien voulu participer à ce projet en nous permettant de tester leurs produits. Nous remercions également la région des Pays de la Loire pour son soutien financier.

## BIBLIOGRAPHIE

Cohen Y., Vaknin M, Ben-Naim Y & E. Rubin A., 2013. Light suppresses sporulation and epidemics of *Peronospora belbarhii*. PLOS ONE, 8(11), p.12.

Garibaldi A., Minuto A. & Gullino M. L., 2005. First report of downy mildew caused by *Peronospora* sp. on basil (*Ocimum basilicum*) in France. Plant Disease, 89(6), p.683.

Giovani G., Demarchi S., Garibaldi A. & Lodovica Gullino M., 2013. Management of downy mildew of sweet basil (*Ocimum basilicum*) caused by *Peronospora balbarhii* by means of esistance inducers, fungicides, biocontrol agents and natural products. *Phytoparasitica*, 41:59-72.

Koroch A. L., Villani T. S., Pyne R. M. & Simon J. E., 2013. Rapid staning method to detect and identify downy mildew (*Peronospora belbahrii*) in basil. *Applications in Plant Sciences*, 1(7):1300032.

Reuveni R., Raviv M., Krasnovsky A., Freiman L., Medina S., Bar A. & Orion D., 2002. Compost induces protection against *Fusarium oxysporum* in sweet basil. *Crop Protection*, 21:583-587.

Sadoma M. T., A.B.B. El-Sayed & S.M. El-Moghazy, 2011. Biological control of downy mildew disease of maize caused by *Peronosclerospora sorghi* using certain biocontrol agents alone or in combination. *J. Agric.Res.Kafer El-Sheikh Univ.*, 37(1).

Simard F. Stimulation de la synthèse de composes nutraceutiques et aromatiques dans les fines herbes et les légumes par les champignons mycorhiziens à arbuscules. Mémoire de Biologie végétale Agriculture, sous la direction de Jacques-André Rioux, Université Laval (Canada) 2014, 105 p.