



Test en plein champ sur aspergeraie mené par la SELT en même temps que des essais sur fraisiers et des essais de laboratoire.
(ph. Diwo-Allain)

Si les propriétés insecticides des Alliées sont déjà largement connues, leur potentiel fongicide et celui de leurs produits soufrés étaient jusqu'alors assez peu explorés.

Dans le contexte du remplacement du bromure de méthyle (BM), nous avons mené plusieurs études pour évaluer la possibilité d'utiliser les poireaux et oignons en tant que biofumigants, par enfouissement dans le sol de déchets ou d'un précédent cultural.

Nous avons étudié d'une part leur potentiel fongicide et, d'autre part le devenir des composés soufrés dans le sol.

En parallèle des expérimentations en plein champ sont réalisées par la SELT⁽¹⁾ sur asperge et fraisier.

Nous retraçons ici la chimie des Alliées et décrivons comment les molécules d'intérêt sont libérées et dégradées. Nous abordons ensuite la synthèse des références sur leurs propriétés insecticides. Nous présentons ensuite nos résultats pour les aspects fongicides et la dégradation dans le sol.

* CRITT INNOPHYT.

** Université de Tours.

*** UFPS, LNPV Fleury-les-Aubrais.

(1) Station d'expérimentation légumière de Tour-en-Sologne.

Propriétés pesticides des alliées

Biodésinfection des sols maraîchers au moyen d'oignon et poireau

I. Arnault *, I. André *, S. Diwo-Allain *, J. Auger** et F. Vey***

Les alliées sont des végétaux aux propriétés biologiques très variées. L'ail et l'oignon sont réputés pour leur effet positif sur la santé, notamment la prévention des maladies cardiovasculaires et de certains cancers digestifs. Les substances susceptibles d'être impliquées sont des flavonols chez l'oignon et des composés soufrés tels que le disulfure de diallyle (DADS) et l'alicine (DATi) chez l'ail. Ces molécules bénéfiques pour la santé sont aussi responsables du potentiel phytosanitaire des Alliées. Elles sont insecticides, fongicides, acaricides, nématocides, bactéricides : avec de telles propriétés, on peut envisager d'utiliser les alliées comme biofumigants des sols.

Les Alliées, quelle chimie !

Les Alliées intactes contiennent de grosses quantités de dipeptides de stockage, les γ -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cystéines, qui sont hydrolysés et oxydés en S-alk(en)yl-L-cystéine sulfoxides (RCSO), les précurseurs. Ces dérivés de la cystéine sont spécifiques des Alliées. Leur proportion varie selon l'espèce, l'organe, la variété, l'état végétatif et les conditions environnementales.

Lorsqu'on brise une Alliée, une enzyme, l'alliinase, stockée dans les vacuoles, réagit avec les précurseurs pour donner des acides sulféniques qui se réarrangent de différentes manières selon la nature des précurseurs.

Dans le cas de l'ail, le précurseur majoritaire est l'alliine (R=2-propényl) qui donne l'alicine, thiosulfinate responsable de l'odeur caractéristique de l'ail. Les thiosulfates, molécules peu stables, se transforment assez rapidement surtout en disulfures ; ainsi l'alicine donne le DADS et 2 vinylthiènes.

Dans le cas de l'oignon et du poireau, les précurseurs sont nombreux mais l'isoalliine (R=1-propényl) est prépondérante. Ce précurseur, sous l'action de l'alliinase, donne l'acide 1-propényl sulfénique que l'action de la LF synthase transforme en oxyde de propanethial, qui est le facteur lacrymogène de l'oignon.

L'acide 1-propényl sulfénique se réarrange simultanément de façon spontanée en zwiebelanes (il existe 3 isomères) qui sont des formes de

réarrangement du thiosulfinate de di-1-propényl, le thiosulfinate théoriquement majoritaire. Les effluves d'oignon et de poireau sont constitués de zwiebelanes mais aussi d'autres thiosulfates mixtes issus de la dégradation de la méthiène et de la propiène (PCSO). Ces molécules produisent les disulfures correspondants, surtout le DPDS issu principalement des zwiebelanes.

Potentialités phytosanitaires des produits soufrés purs extraits des Alliées

On a étudié les effets chez les insectes des composés soufrés volatils : effets physiologiques et surtout effets toxiques. Ainsi, chez le moustique *Culex pipiens*, les DADS et DATi sont larvicides. Chez les phytophages, le DPTi (thiosulfinate de dipropyle) a une activité répulsive sur *Ephesia kuehniella*, la pyrale de la farine.

Les composés volatils des Alliées peuvent avoir des effets négatifs sur certains insectes entomophages, ce qui risque d'avoir des répercussions sur les populations d'insectes phytophages.

Ainsi, les disulfures séquestrés par le criquet *Romalea guttata* s'alimentant sur l'oignon sauvage *Allium canadense*, sont répulsifs pour deux espèces de fourmis prédatrices, *Tapinoma melanoccephalum* et *Solenopsis invicta* (la fourmi de feu). Parallèlement, le DPDS repousse les fourmis *Formica fusca* (la fourmi soyeuse) et *Formica selysi*, qui attaquent plus efficacement les larves de teigne du poireau *Acrolepiopsis assectella* nourries sur milieu artificiel sans poireau que celles nourries sur milieu artificiel avec poireau.

Plusieurs études ont porté sur le pouvoir insecticide des produits soufrés des alliées. Les thiosulfates, plus toxiques que les disulfures, ont un pouvoir insecticide parfois supérieur au BM (Tableau 1). La sensibilité des insectes aux produits est différente mais en général le DMDS est plus toxique que le DADS, lui-même plus efficace que le DPDS. Les coléoptères testés, surtout des ravageurs de denrées stockées, semblent moins sensibles que les lépidoptères et isoptères (Figure 1). La toxicité est donc de façon générale dans l'ordre croissant :

DPDS < DADS < DMDS < DATi < DMTi.

Extraits d'alliacées et ravageurs

Les premiers travaux réalisés ont utilisé les plantes ou leurs extraits.

Effets sur le comportement

Des effets anti-appétants ont été observés : des extraits d'ail perturbent la prise alimentaire du coléoptère *Epilachna varivestis* (coccinelle mexicaine du haricot). Le comportement de ponte chez deux lépidoptères, *Pieris brassica* la piéride du chou, et *P. napi* la piéride du navet, est inhibé par des extraits d'oignon. Des extraits d'ail réduisent significativement le taux de ponte des femelles de psylle du poirier, *Cocopsylla pyricola*.

Des extraits d'ail et d'oignon perturbent également l'établissement du puceron vert du pêcher *Myzus persicae* sur sa plante hôte et empêchent l'alimentation de l'insecte, entraînant le cas échéant la mort de celui-ci.

Effets insecticides

Divers ordres d'insectes sont sensibles aux effets insecticides des Alliées. Ainsi les extraits d'ail se révèlent toxiques pour le puceron des céréales *Sitobion avenae*, le puceron bicolore des céréales *Rhopalosiphum padi*, le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*, la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella*, les larves de doryphore *Leptinotarsa decemlineata* et de piéride du chou *P. brassicae*, cinq espèces de moustiques des genres *Culex* et *Aedes*, les puces, la mouche domestique *Musca domestica* et le dermeste des grains *Trogoderma granarium*.

Chez la mouche blanche des serres *Bemisia argentifolii*, les œufs, nymphes et adultes sont sensibles à la présence de divers extraits d'ail. De même les œufs, larves et adultes des coléoptères des stocks, *Tribolium castaneum* le petit ver de la farine et *Sitophilus zeamais* le charançon du maïs, présentent une mortalité qui dépend de la concentration de l'extrait d'ail utilisé. Une action ovicide de l'ail frais a été mise en évidence sur la punaise *Dysdercus koenigii* et les noctuelles *Earias vitella*, *Spodoptera litura* le ver du cotonnier, et *Helicoverpa armigera* la noctuelle de la tomate. Les individus parvenant à éclore ne terminent leur développement qu'en très faible proportion.

Le poireau s'est révélé toxique pour *Drosophila melanogaster*, la mouche du vinaigre.

Effets nématocides et acaricides

En plus des travaux sur les insectes, quelques résultats ont été publiés sur les nématodes et les acariens. Toutes les études sur les activités nématocides des alliées ont eu pour cible le nématode *Meloidogyne incognita*. Isolés des extraits nématocides d'*Allium grayi* et d'*Allium fistulosum* (la ciboule ou l'oignon d'hiver), le DPDS, DADS et DPTi se révèlent actifs.

Très peu d'études ont été publiées sur le pouvoir acaricide des Alliées et de leurs composés soufrés. Mais il a été montré que des extraits d'ail et des préparations à partir de ces extraits ont des effets répulsifs contre l'acarien *Tetranychus urti-*

cae. Signalons un brevet de 1994, concernant l'effet d'extraits d'ail sur l'acarien *Varroa jacobsoni* nuisible aux abeilles.

Effets fongicides

Les études parues portent surtout sur les champignons pathogènes vis-à-vis de l'homme. Cependant il a été rapporté que le DMDS

PROPRIÉTÉS PESTICIDES DES ALLIÉES

empêche la germination d'*Aphanomyces euteiches*, responsable de la pourriture des racines de pois. À l'inverse, ces substances, surtout DPDS et DADS, induisent la multiplication des sclérotes de *Sclerotium cepivorum*, la pourriture blanche des Alliées. De nombreux champignons phytopathogènes sont sensibles aux Alliées et à leurs extraits : *Alternaria tenuis*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium poae*.

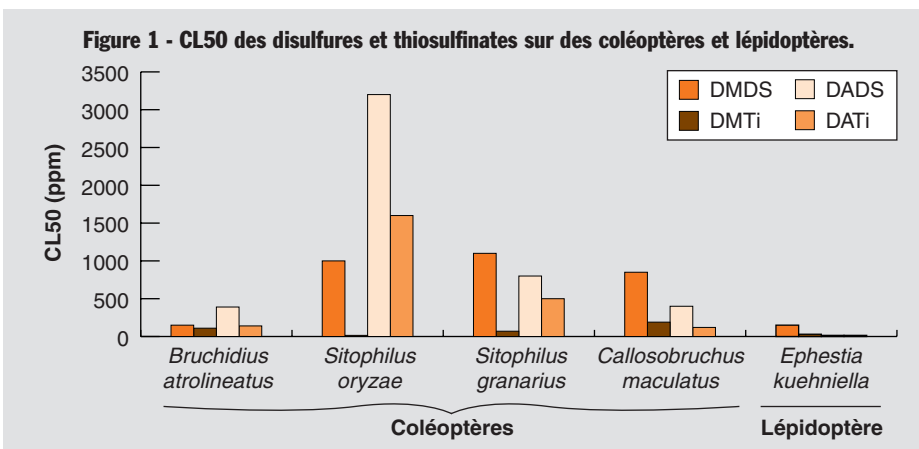


Tableau 1 - CL50 (en ppm sur 24 heures) des produits soufrés des alliées sur plusieurs espèces d'insectes.

	DMDS	DMTi	DADS	DATi	DPDS	BM
Isoptères						
<i>Reticulitermes grassei</i> Le termite des Landes	150	-	-	-	4200	-
<i>Reticulitermes santonenis</i> Le termite de Saintonge	100	-	-	-	5100	-
Coléoptères						
<i>Bruchidius atrolineatus</i> La bruche du Niébé	150	110	390	140	1500	-
<i>Sitophilus oryzae</i> Le charançon du riz	1000	15	3200	1600	10100	800
<i>Sitophilus granarius</i> Le charançon du blé	1100	70	800	500	-	-
<i>Callosobruchus maculatus</i>	850	190	400	120	2000	-
<i>Acanthoscelides obtectus</i> La bruche du haricot	1400	-	18500	-	57700	-
<i>Oryzaephilus surinamensis</i> Le cucujide dentelé des grains	600	-	2700	-	42300	-
<i>Diadromus pulchellus</i>	400	-	3400	-	16000	-
<i>Dinarmus basalis</i>	230	-	300	-	-	-
Diptères						
<i>Drosophila melanogaster</i> La mouche du vinaigre	150	-	540	-	1900	-
Lépidoptères						
<i>Acrolepiopsis assectella</i> La teigne du poireau	300	-	2700	-	17700	-
<i>Ephestia kuehniella</i> La pyrale de la farine	150	30	15	15	-	-
<i>Tineola bisselliella</i> La teigne des vêtements	700	-	15	-	1000	-
<i>Agrotis ipsilon</i> La noctuelle baignée	230*	-	-	-	-	-

DMDS = disulfure de diméthyle
DMTi = thiosulfate de diméthyle
DADS = disulfure de diallyle
DATi = thiosulfate de diallyle
* Résultats issus de notre étude. Voir photo pour le dispositif.

DPDS = disulfure de dipropyle
BM = bromure de méthyle
- = donnée non disponible.

Verticillium albo-atrum est sensible à l'oignon et à l'ail, et *Phytophthora infestans* est sensible à la ciboulette. Une forte inhibition de la croissance des champignons *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* et *Colletotrichum lindemuthianum* est obtenue avec des traitements par des jus d'ail à fortes teneurs en sulfure de diallyle et disulfure de diallyle (DADS) (2).

Essais des produits purs

Nous avons réalisé des essais en 2002 au LNPV pour évaluer le potentiel fongicide de produits purs (DMDS, DPDS, DADS) sur une collection de souches de pathogènes du sol. Les résultats montrent un fort pouvoir fongicide du DMDS et dans une moindre mesure du DADS (3) et du DPDS.

Nous avons ensuite cherché à transposer cet effet fongicide des produits purs observé *in vitro*, à des tests *in vivo* avec les produits purs, puis directement avec les Alliées, en s'approchant au maximum de la réalité applicable au terrain.

Alliées, terreau, bocaux

Les premiers essais de biodésinfection réalisés par la SELT (Station d'expérimentation légumière de Tour-en-Sologne) en 2003 portaient sur :



Test de laboratoire *in vivo*. Les bocaux contiennent, de gauche à droite : du terreau infecté en présence de déchets d'oignon (« O »), de poireau (« P »), du terreau stérilisé (« TS »), témoin sain, ou inoculé avec *P. ultimum* (« TI », témoin infecté).
(ph. I. André)

- fraisier : enfouissement de 120 t/ha de déchets de poireau, ou d'écart de tri d'oignon,
- asperge : enfouissement de 78 t/ha d'écart de tri d'oignons, ou de déchet de poireau.

Nous avons mené parallèlement une étude dans le but de tester *in vivo*, mais en laboratoire sous conditions contrôlées, les propriétés biodésinfect-

PROPRIÉTÉS PESTICIDES DES ALLIÉES

tantes de déchets de poireau et d'écart de tri d'oignon. Le pathogène choisi est *Pythium ultimum* car il s'attaque à un grand nombre d'hôtes (concombre, betterave, tomate...) et est représentatif de la qualité sanitaire des sols. Sa présence provoque le dessèchement et la pourriture des racines, précédant la mort de la plante. Le terreau utilisé est infecté artificiellement avec *Pythium ultimum*. La présence de ce dernier dans le terreau est testée à plusieurs reprises afin de vérifier que le degré d'infection est constant dans le temps et homogène.

Les tests *in vivo* au laboratoire (en bocaux de verre) sont réalisés en se rapprochant au maximum des conditions de terrain (la proportion quantité de déchet d'alliées/volume de terre est respectée en tenant compte de la profondeur du labour). Le broyat est homogénéisé avec le substrat et humidifié afin de permettre la dégradation rapide des déchets. Le bocal est recouvert d'une feuille d'aluminium permettant les échanges gazeux en limitant les contaminations (photo ci-contre). Pour chaque test est réalisé :

- un témoin sain ou témoin négatif : terreau stérilisé,
- les échantillons : terreau stérilisé inoculé en présence de déchets d'oignon (« O ») ou de poireau (« P »),
- un témoin infecté ou témoin positif : terreau contaminé.

Lorsque la durée d'incubation (temps d'action des déchets de poireau et d'oignon) choisie est atteinte, le film aluminium est retiré et un test *Pythium* réalisé. Il vise à caractériser l'aptitude d'une terre à induire des fontes de semis sur une culture. Une plante sensible au *Pythium*, le concombre, est mise en contact avec l'échantillon de terreau à analyser. À l'issue de ce test biologique (13 jours) on dénombre les plantes saines, nécrosées et mortes.

Les résultats, présentés figures 2 et 3, mettent en évidence la biodésinfection, par les écart de tri d'oignon et les déchets d'épluchage de poireau, du terreau infecté artificiellement en *Pythium ultimum*.

Avec les oignons, il y a 50 % de plantes saines si on les implante au bout d'un mois de contact entre le terreau inoculé et les alliées. Le maximum d'efficacité est atteint à 2 mois (82 % plantes saines). Les poireaux possèdent des propriétés intéressantes mais d'intensité plus faible. Cela pourrait être dû à la nature des déchets : pour le poireau, il s'agit de déchets d'épluchage soit uniquement la partie verte, alors que pour l'oignon, il s'agit d'écart de tri et donc de bulbe.

La dose d'apport de 240 t/ha est la plus intéressante (Figure 3). En effet, à un mois nous obtenons 94 % de plantes saines avec les oignons et 64 % avec les poireaux.

Mais si nous augmentons l'apport à 360 t/ha l'efficacité diminue. Ceci peut s'expliquer par une éventuelle phytotoxicité des broyats à une telle dose. De plus, il paraît difficile d'apporter 360 t/ha en plein champ : cela impliquerait d'incorporer une couche de 40 cm de déchets...

Les propriétés biodésinfectantes des écart de tri d'oignon et de déchets d'épluchage de poireau

Figure 2 - Effets des écart de tri-oignon (O) et des déchets d'épluchage de poireau (P) à la dose de 120 t/ha sur un terreau inoculé artificiellement en *Pythium ultimum*.

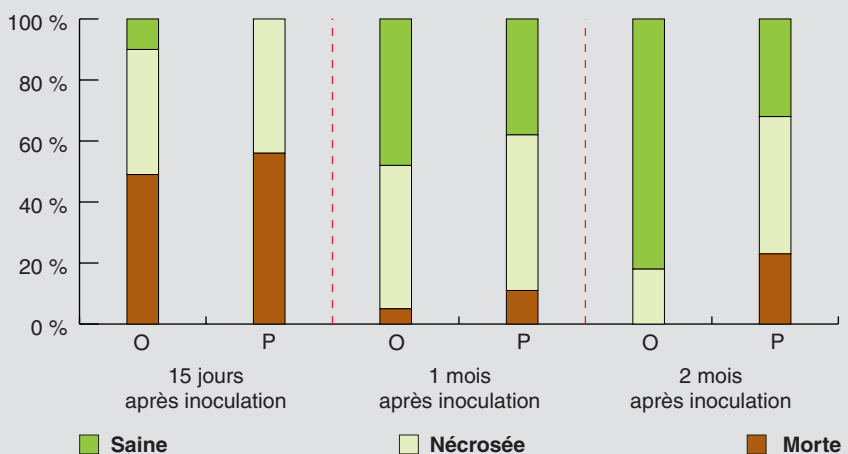


Figure 3 - Effets des écart de tri-oignon (O) et des déchets d'épluchage de poireau (P) à la dose de 240 t/ha sur un terreau inoculé artificiellement en *Pythium ultimum*.

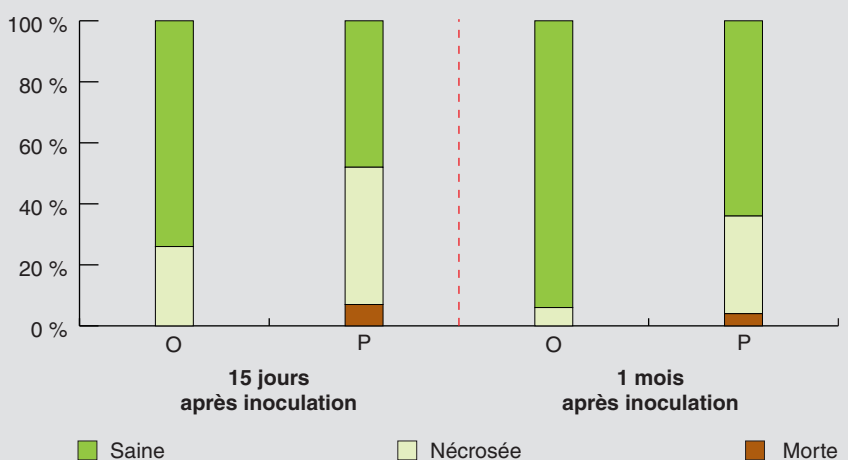
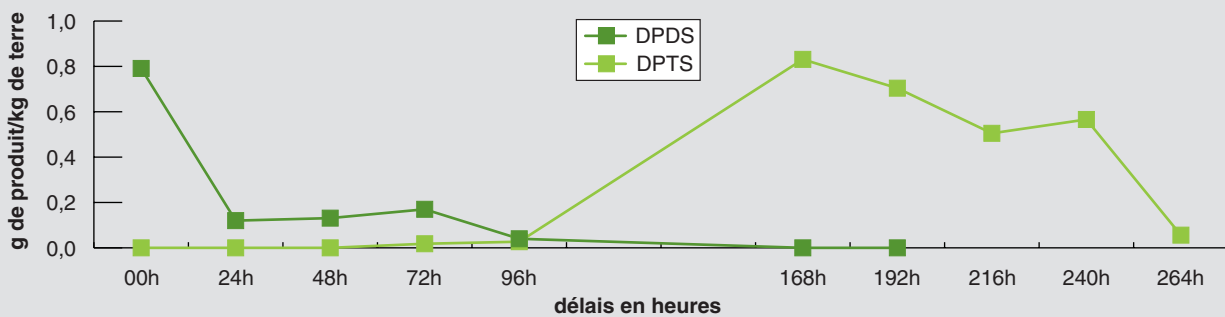


Figure 4 - Évolution dans le sol des concentrations de DPDS et DPTS à partir de tissu de poireau.



sont bien mises en évidence. Les résultats obtenus à 240 t/ha sont les plus intéressants, sous réserve de faisabilité au champ.

Cependant, les tests révèlent dans les déchets la présence de bactéries, de *Penicillium sp.* (oignons) et de Mucorales (poireaux). Ces populations ne sont pas pathogènes mais leur présence en très grand nombre pourrait minimiser l'efficacité biodésinfectante des broyats d'oignon et de poireau.

Devenir dans le sol

Les thiosulfates et zwiébelanes, trop instables pour subsister dans le sol, sont transformés dès l'incorporation des déchets. Une première étude a permis de déterminer les vrais métabolites des thiosulfates et zwiébelanes issus des déchets d'oignon et de poireau dans le sol : il s'agit essentiellement du DPDS (4).

Après la mise au point d'une méthode d'analyse pour l'étude du comportement du DPDS dans le sol, l'évolution des concentrations de DPDS a été évaluée à partir de produit pur et à partir de tissus de poireaux. On exprime en général la concentration en g/kg de terre durant une période T, en heures, c'est la notion de C.T. largement utilisée pour les fumigants.

Les concentrations de DPDS sont obtenues par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) après piégeage de la substance volatile par microextraction en phase solide (SPME) directement à l'intérieur des bocalux.

La SPME est une technique de choix pour le piégeage des volatils. Les molécules sont adsorbées sur une phase de polydiméthylsiloxane puis désorbées dans l'injecteur chauffé du chromatographe.

L'étude réalisée à partir du DPDS pur montre que la concentration décroît et devient indétectable à partir de 16 jours. Durant la décroissance, une augmentation simultanée en ions sulfate est observée par dosage potentiométrique.

La figure 4 indique la cinétique de dégagement du DPDS après enfouissement de poireau dans un sol (environ 10 % en masse). La substance volatile décroît fortement et devient indétectable après 6 jours. Vers 3 jours, une autre substance volatile apparaît : il s'agit du trisulfure de dipropyle (DPTS) issu de la même origine et déjà reconnu comme toxique sur une bruche *Bruchidius atrolineatus* (5). Sa présence diminue et devient indétectable vers 11 jours.

Conclusion

Le DPDS, produit de dégradation de déchets d'oignon et poireau après enfouissement dans le sol, présente une activité insecticide et fongicide. Sa concentration dans le sol reste notable jusqu'à 3 jours, moment auquel une autre substance volatile apparaît : le trisulfure de dipropyle. Ce composé avéré toxique sur un coléoptère doit présenter un pouvoir insecticide général. Il pourrait prolonger l'action insecticide et fongicide du DPDS dans le sol.

Ces résultats encourageants confirment la possibilité d'utiliser les Alliées en biofumigation des sols. Pour ce faire, il serait intéressant de pouvoir sélectionner des espèces et variétés d'Alliées à fort pouvoir pesticide, comme cela a été réalisé en Italie pour les Brassicacées utilisées également en biodésinfection des sols. (6)

Summary

PESTICIDAL PROPERTIES OF ALLIACEOUS BULB VEGETABLES

Organic disinfection of market garden soils using onions and leeks

The biocide properties of *Allium* species (e.g. garlic, onion, leek, shallot...), a.k.a. alliaceous bulb vegetables, are attributed to the volatile sulphur compounds produced by tissue degeneration. A number of studies have brought to light the insecticide potential of such sulphur compounds produced by bulbs. The majority of these compounds are disulphides: dimethyl disulphide (DMDS), dipropyl disulphide (DPDS) and diallyl disulphide (DADS). The possible use of such alliaceous bulbs as biofumigants, for example by burying plant waste matter in the soil or by sowing preceding onion or leek crops, has been the object of several studies, firstly of the fungicide potential of the sulphur compounds produced by alliaceous bulbs and

secondly of the evolution of these compounds in the soil. Disulphides present a variable fungicidal activity on a large range of pathogens, with SMDS being the most effective. Onions and leeks rejected during sorting have also been shown to present a fungicidal effect. The sulphurous metabolites identified in soil after burial of waste onion and leek plant matter are primarily DPDS and then dipropyl trisulphide (DPTS). All of these methods offer a feasible alternative to the use of methyl bromide (MB).

Key words: Alliaceous bulbs, organic disinfection, disulphides, insecticide, fungicide, soil pathogens.

Résumé

Les propriétés biocides des *Allium spp.* (ail, oignon, poireau, échalote...) ou Alliées sont attribuées aux composés soufrés volatils produits par la dégradation des tissus. De nombreuses études font état du potentiel insecticide des composés soufrés issus des Alliées. Les principaux sont des disulfures : disulfure de diméthyle (DMDS), disulfure de dipropyle (DPDS) et disulfure de diallyle (DADS).

L'usage possible de ces Alliées en tant que biofumigants, par exemple en enfouissant dans le sol des déchets ou un précédent cultural d'oignon ou de poireau, a suscité plusieurs études, d'une part sur le potentiel fongicide des Alliées et de leurs produits soufrés jusqu'alors assez peu exploré, d'autre part sur le devenir de ces composés dans le sol. Les disulfures ont montré une activité fongicide variable sur un large spectre de pathogènes, avec une plus grande efficacité du DMDS. Les écarts de tri d'oignon et de poireau ont également montré un effet fongicide. Ces méthodes sont des alternatives possibles à l'usage du bromure de méthyle (BM). Les métabolites soufrés identifiés dans le sol après enfouissement de déchets d'oignon et de poireau sont d'abord le DPDS et ensuite le trisulfure de dipropyle (DPTS).

Mots-clés: Alliées, biodésinfection, disulfures, insecticide, fongicide, pathogènes du sol.

Bibliographie

- (1) FERARY S. ET AUGER J., 1996 - What is the true odor of cut *Allium*? Complementarity of various hyphenated methods: GC/MS, HPLC/MS with particle beam and atmosphere pressure ionization interfaces in sulfenic acids rearrangement components discrimination. *J. Chromat.*, 1996, 750, 63-74.
- (2) AUGER J. ET THIBOUT E., 2002 - Substances soufrées des *Allium* et des crucifères et leurs potentialités phytosanitaires. *Biopesticides d'origine végétale*, Ed Tec et Doc, 77-95.
- (3) CHARPENTIER M., ARNAULT I., DIWO ALLAIN S., AUGER J. ET REVERCHON S., 2003 - Potentiel fongicide de composés soufrés issus des *Allium* pour l'étude d'une alternative au bromure de méthyle, AFPP - Septième Conférence Internationale sur les Maladies des plantes, Tours.
- (4) ARNAULT I., MONDY N., DIWO S. ET AUGER J., 2004 - Soil behaviour of natural sulfur fumigants used as methyl bromide substitutes. *Int. J. Envir. An. Ch.*, 84 (1-3), 75-82.
- (5) NAMMOUR D., AUGER J. ET HUIGNARD J., 1989 - Mise en évidence de l'effet insecticide de composés soufrés (disulfures et trisulfures) sur *Bruchidius atrolineatus* (Pic) (coléoptère, Bruchidae). *Insect Sci. Applic.*, 10 (1), 49-54.
- (6) FIRST INTERNATIONAL SYMPOSIUM, "Biofumigation: a possible alternative to methyl bromide?", 31 March-1 April 2004, Firenze, Italia.