IMPACTS ET ACCUMULATION DU CUIVRE DANS LES SOLS AGRI-VITICOLES

Quels impacts écotoxicologiques du cuivre sur la qualité biologique des sols viticoles ?

Rapport de l'étude bibliographique – Septembre 2020

Réalisée par B. Karimi

novasol EXPERTS

Décryptons la biodiversité de vos sols

novasol EXPERTS
Décryptons la biodiversité de vos sols

Projet Impacts et Accumulation du Cuivre dans les Sols Agri-viticoles

Phase 1 :

Synthèse des connaissances à l'échelle internationale sur l'Impact Ecotoxicologique du Cuivre sur la Qualité Biologique des Sols Viticoles

COMITE DE PILOTAGE

Cette étude a été menée sous le contrôle et le suivi d'un comité de pilotage technico-scientifique afin de garantir sa rigueur et son objectivité. Il est constitué de :

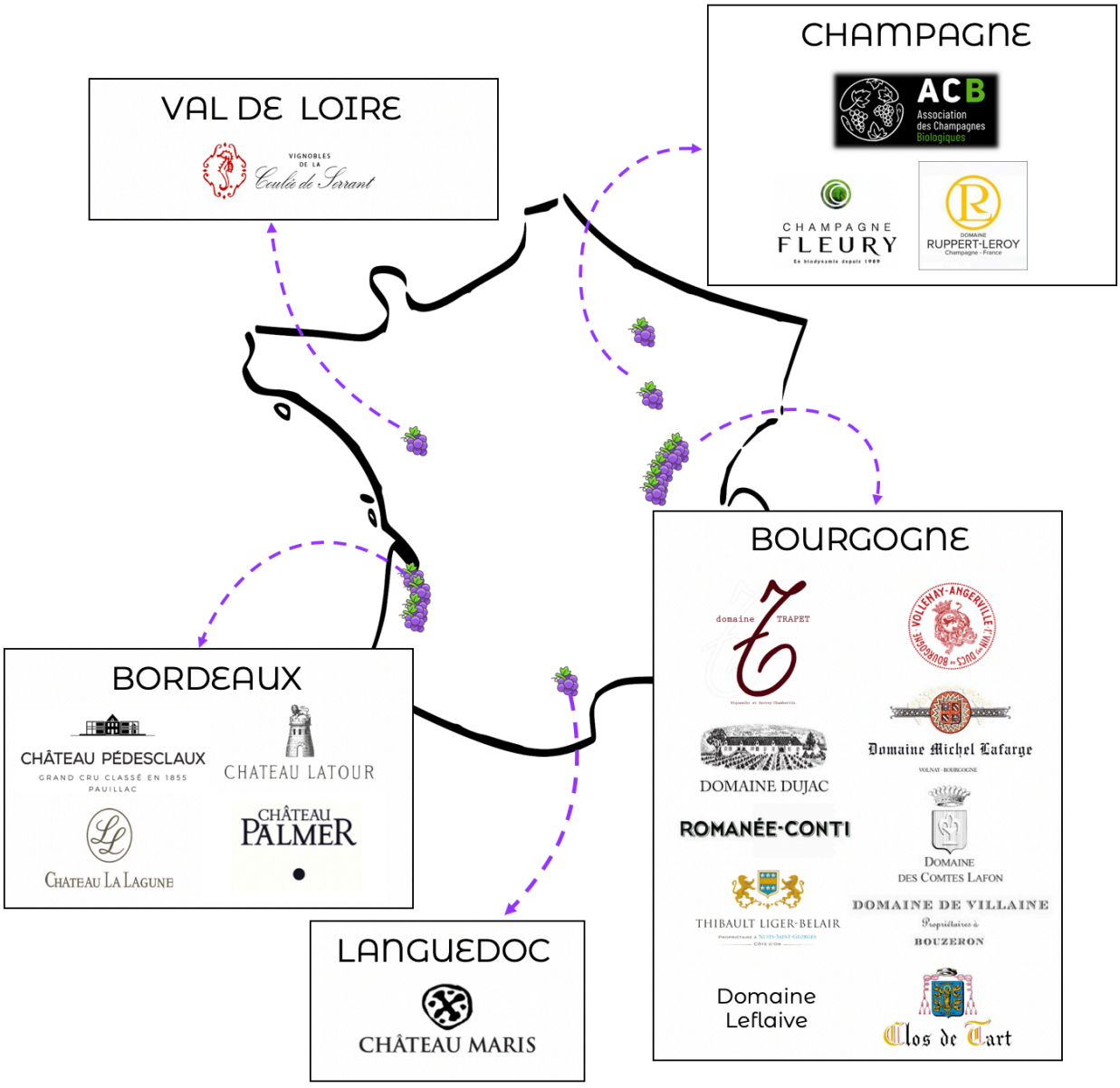
- Emmanuel GIBOULOT (Domaine Emmanuel Giboulot, référent Biobourgogne)
- Charles GUILLAND (Novasol Experts)
- Battle KARIMI (Novasol Experts)
- Emmanuel LEROY (Domaine Ruppert Leroy, référent ACB)
- Pierre-Alain MARON (Directeur de recherche INRAE)
- Vincent MASSON (Président Association Soin de la Terre)
- Sylvain PELLEGRINELLI (Domaine Leflaive, référent GEST)
- Lionel RANJARD (Directeur de recherche INRAE)

Ce comité s'est réuni une fois par mois tout au long de l'étude et a relu le rapport pour validation.

FINANCEURS

Cette étude a été commandée et financée par le consortium de vignerons français composé de :

Domaine de Villaine, Champagne Fleury, Domaine de la Romanée Conti, Domaine des Comtes Lafon, Domaine Leflaive, Domaine Jean Louis Trapet, Domaine Thibault Liger BelAir, Château Palmer, Château La Lagune, Domaine Dujac, Domaine Michel Lafarge, Domaine de la Coulée de Serrant, Domaine Marquis d'Angerville, Champagne Ruppert Leroy, Château Pédesclaux, Association des Champagnes biologiques, Clos de Tart, Château Maris, Château Latour, Champagne Ruppert-Leroy.



RESUME

Depuis une vingtaine d'années, la société est entrée dans la transition écologique. Cette transition écologique concerne tout particulièrement le monde agricole qui doit revoir ses modes de production et ses pratiques pour réduire au maximum son empreinte environnementale. Les pesticides et herbicides sont les premiers à avoir été remis en cause donnant ainsi une impulsion pour l'essor de nouveaux modes de production : agriculture biologique, biodynamie, label HVE, agriculture raisonnée. Ceux-ci reposent sur des approches agronomiques où l'utilisation de produits de synthèse est réduite voire prohibée, le cuivre et le soufre restant les seuls moyens de lutte contre les menaces d'agents phytopathogènes.

En viticulture, le mildiou représente une menace avérée pour les vignes et les fongicides cupriques sont le traitement le plus efficace connu à ce jour pour lutter contre la maladie. Utilisés au XIX et XXème siècle à des doses allant jusqu'à 50 kgCu/ha, le Cuivre s'est accumulé dans les sols viticoles au cours du temps, constituant ainsi un danger potentiel pour les organismes, et principalement ceux vivants dans les sols. Aujourd'hui et depuis le début des années 2000, les doses appliquées en viticulture sont généralement inférieures à 4 kgCu/ha/an, dose réglementaire établie par la Commission européenne en 2019. Depuis 2002, la législation européenne tend à renforcer les restrictions concernant l'utilisation du cuivre en agriculture et l'inquiétude d'une interdiction lors de la prochaine révision de cette réglementation (en 2025) se fait sentir chez les viticulteurs. Dans ce contexte, il est indispensable pour eux de connaître l'impact de leur pratique d'utilisation de fongicides cupriques sur la qualité biologique des sols mais également d'identifier les raisons objectives de la limitation imposée.

Le projet *Impacts et Accumulation du Cuivre dans les Sols Agri-viticoles* est à l'initiative d'un collectif de vignerons français soucieux de l'impact environnemental de leurs pratiques. Il a pour objectif de **répondre à la question de l'impact écotoxicologique du cuivre sur la qualité biologique des sols viticoles selon une démarche scientifique rigoureuse**. Dans une 1ère phase, une revue de la littérature académique scientifique sur cette question est mise en œuvre avec le concours de chercheurs de l'institut INRAE. Cette approche permet de faire le bilan des connaissances actuelles de la recherche scientifique sur le sujet, d'apporter une réponse dans un délai court et à moindre coût et d'identifier les éventuelles lacunes scientifiques. De plus, cette approche est également celle employée par les autorités sanitaires européennes (EFSA) pour émettre l'avis sur lequel se base la décision de la Commission européenne. Les données issues de la littérature grise ont été écartées de cette revue car rien ne garantit leur robustesse et leur objectivité scientifique.

I. Analyse bibliométrique

La combinaison de mots-clés « Cuivre + Sol + Biodiversité + Viticulture » a été utilisée sur le moteur de recherche académique *Web of Science*. La recherche n'a pas été limitée en termes de date ou d'origine géographique. Elle a abouti à 234 articles répondant à l'association des 4 thèmes. Parmi eux, seulement 48 traitent des questions d'écotoxicologie sur les organismes du sol. **Les premiers articles datent de la fin des années 90' mais la majorité (70%) sont parus au cours des 10 dernières années. 60% de ces articles ont été produits par des équipes de recherche françaises, espagnoles,**

italiennes et chinoises. L'historique viticole très ancien des 3 pays européens explique qu'ils soient fortement concernés par l'accumulation de cuivre dans les sols. Cette thématique de recherche constitue donc un enjeu plus important pour eux.

II. Analyse des stratégies expérimentales des études

Cette analyse rend compte de la diversité des approches méthodologiques employées et identifie les études répondant de façon pertinente à la question posée. Elle montre que :

1 – Seulement 25 études référencées traitent des systèmes viticoles.

2 – La plupart des études sont des expérimentations en microcosmes **testant l'effet de doses de cuivre apportées**. Quelques études, menées *in situ*, **évaluent l'effet du cuivre accumulé dans les sols.**

3 – Les expérimentations en microcosmes sont peu génériques car elles portent sur 1 ou 2 types de sol uniquement. Les études *in situ* font preuve d'une plus grande généricité car elles reposent sur plusieurs parcelles.

4 – Lorsque le cuivre du sol est mesuré, peu d'informations sur l'historique de la parcelle sont données. Inversement, le cuivre est rarement mesuré quand l'étude s'intéresse à l'effet de l'historique de la parcelle.

5 – La biodiversité est étudiée dans la couche arable du sol (0-20 cm).

6 – La biodiversité est essentiellement étudiée sous le prisme des microorganismes. La biomasse microbienne renseigne sur le patrimoine biologique du sol et les mesures de respiration et d'activités microbiennes évaluent son fonctionnemebt. Aucune information sur l'impact du cuivre sur le niveau de diversité microbienne n'est disponible à ce jour. De même, aucune donnée n'existe concernant l'impact du cuivre sur les nématodes, les collemboles et les acariens, les vers de terre, et les arthropodes dans les sols viticoles.

7 – Et enfin, **la littérature scientifique n'apporte, dans l'état actuel des connaissances, aucune information pertinente sur l'effet écotoxicologique du cuivre dans les conditions actuelles d'utilisation en vignes (doses et fréquences d'application irréalistes, Figure 1).**

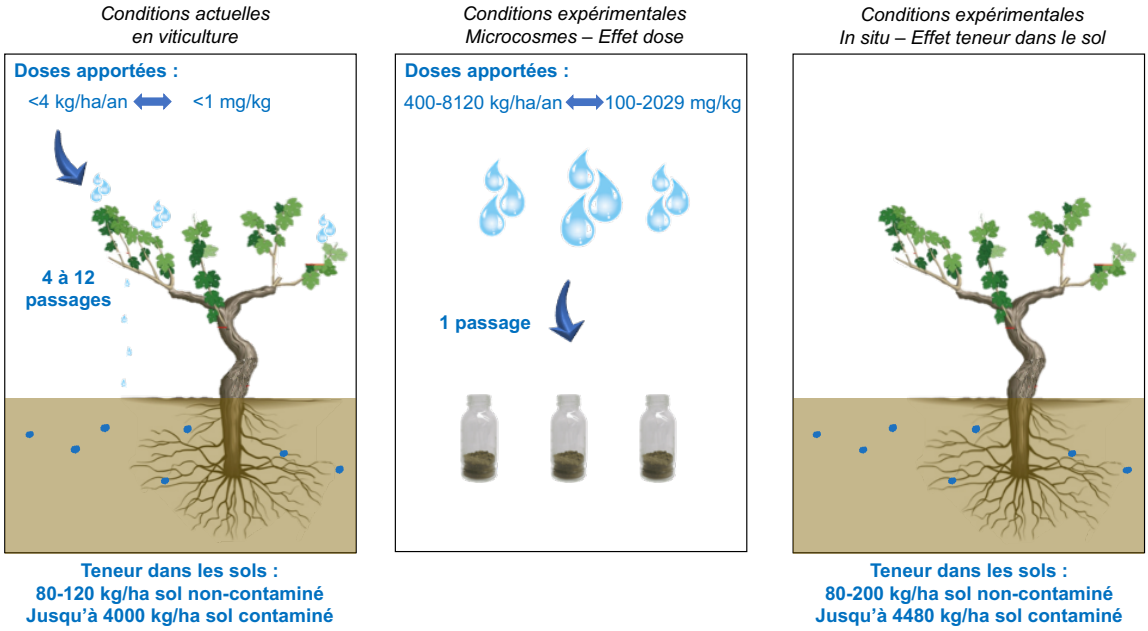


Figure 1 : Schéma récapitulatif des conditions actuelles d'utilisation du cuivre en viticulture et des conditions expérimentales étudiées en microcosmes ou in situ, dans la littérature scientifique.

III. Analyse bibliographique

Cette troisième et dernière étape correspond à la synthèse des résultats décrits dans les articles retenus. Bien que les conditions expérimentales des articles ne permettent pas de répondre à la question de l'impact écotoxicologique du cuivre sur la qualité biologique des sols viticoles dans les conditions actuelles d'utilisation, il paraît toutefois essentiel de faire la synthèse de ces données pour déterminer les doses critiques, les paramètres biologiques sensibles et l'intensité des effets induits par le cuivre. Cette synthèse concerne finalement 4 articles scientifiques qui répondent de façon pertinente à la question de l'impact écotoxicologique du cuivre sur la biodiversité des sols en contexte viticoles. Pour compléter les informations apportées par ces 4 articles, une recherche bibliographique élargie à tous les usages agricoles a été menée. Elle a permis d'enrichir l'étude bibliographique avec 16 articles en contexte de grandes cultures, de prairies ou de vergers. **Le bilan des recherches et de l'analyse repose donc sur 19 articles tout contexte agricole confondu** : 14 répondent à la question de l'effet dose sur la biodiversité des sols, 4 répondent à la question de l'effet teneur en cuivre accumulé dans le sol sur la biodiversité, 1 traite les deux questions. L'effet dose est quasi-systématiquement investigué en apportant la dose totale de cuivre en une seule fois. La réponse mesurée correspond donc à celle d'une exposition aigüe. L'effet teneur en cuivre accumulé se rapproche plus d'une réponse à une exposition chronique. En réalité, l'utilisation des fongicides cupriques en agriculture et en viticulture s'effectue généralement par de petites doses apportées à plusieurs reprises sur la saison, ce qui correspond à une exposition chronique. Il faut noter qu'une contamination aigüe induit une réponse plus intense qu'une exposition chronique, et réduit les possibilités d'adaptation progressive et de résilience des communautés d'organismes.

La synthèse des 19 articles montre que les doses étudiées se répartissent le long d'un gradient allant de 2.8 à 20 000 kg/ha/an (Figure 2). La plupart des études reposent sur des gradients commençant à 200 kg/ha/an, soit 50 fois la dose autorisée en viticulture biologique depuis les années 2000, et rares sont les études testant des doses inférieures à 20 kg/ha/an. Dans ces conditions expérimentales, la qualité biologique des sols n'est affectée qu'à partir de 200 kg/ha/an de cuivre apporté. Alors que les nématodes semblent ne pas être impactés par une exposition au cuivre même à des doses très élevées, les vers de terre sont les plus sensibles. L'accumulation de cuivre dans le sol a un effet à partir de 200 kg/ha/an (soit 50 mg/kg) mais peu de groupes biologiques sont renseignés. Alors que les microorganismes sont affectés à ces teneurs, les collemboles ne sont pas impactés par le cuivre.

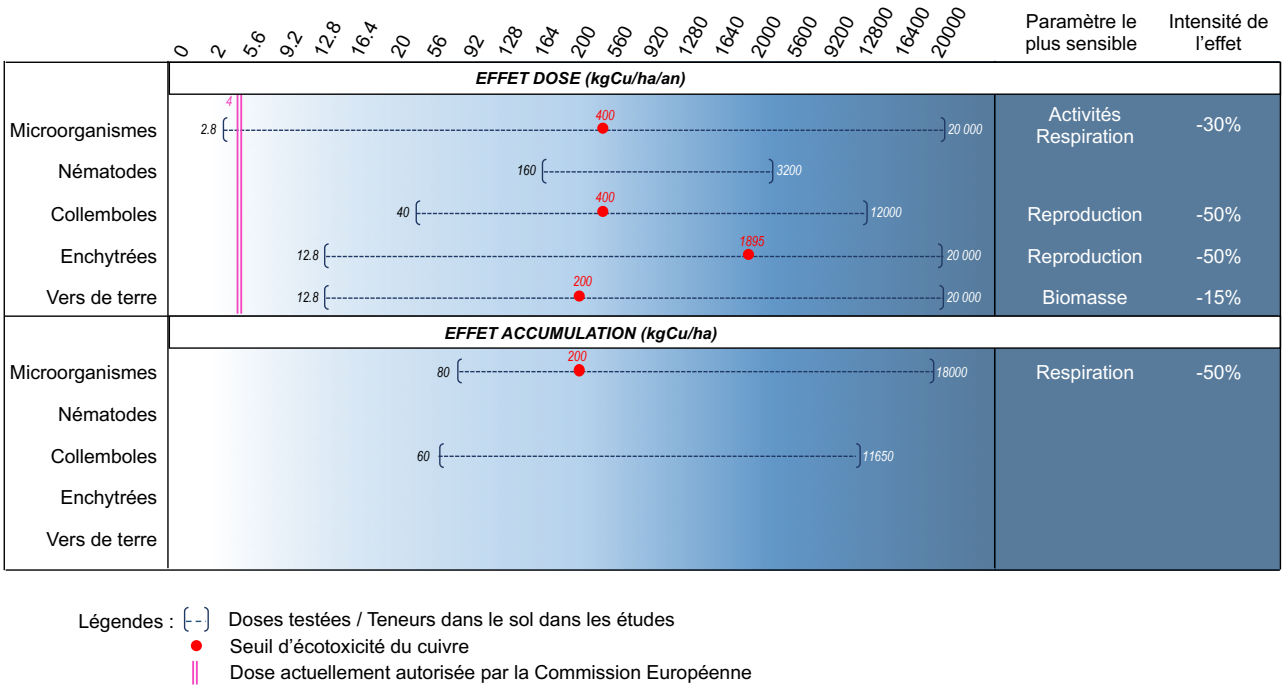


Figure 2 : Synthèse des doses et des teneurs en cuivre testées dans la littérature scientifique académique et des doses minimales pour lesquelles des effets délétères ont été observés sur le paramètre biologique le plus sensible pour chaque groupe biologique du sol.

IV. Sur quelle base la Commission européenne a-t-elle donc statué sur une dose limite de 4 kg/ha/an ?

Cette décision a été rendue suite au rapport de l'EFSA, autorité sanitaire européenne en charge de mener les études d'impacts environnementales des contaminants. Le dernier rapport de l'EFSA en date de 2019 repose sur la littérature académique scientifique publiée entre 2005 et 2014, ainsi que sur des expérimentations commandées par l'autorité sanitaire au début des années 2000 à des chercheurs internationaux. La grande majorité de ces expérimentations, bien que menées dans un cadre académique rigoureux et souvent validées par des experts indépendants, n'ont toutefois pas fait l'objet de publications dans des revues scientifiques académiques. De fait, la diffusion limitée et non-académique de ces résultats n'a pas permis de les intégrer à cette synthèse.

Le seuil de 4 kg/ha/an a été fixé sur la base d'une étude allemande menée par Olaf Klein de 2003 à 2013, à la demande de l'EFSA. Dans cette étude, les vers de terre ont été suivis dans 2 prairies différentes, traitées avec 3 doses différentes (4, 8 et 40 kg/ha/an) pendant 10 ans à raison de 3 applications par an. Les conditions expérimentales de cette étude sont assez proches des conditions réelles d'application par les viticulteurs, à l'exception du fait qu'il s'agit de sols prairiaux n'ayant jamais reçu de cuivre précédemment. Les auteurs de l'étude, ainsi que les 3 experts indépendants ayant évalué ces travaux, ont conclu que les doses de 4 et 8 kg/ha/an n'induisaient aucun effet observable pour des sols de prairies de ce type et que des effets durables étaient survenus sur les vers de terre après 3 ans de traitement à 40 kgCu/ha/an (120 kg/ha au total). Malgré ces résultats scientifiques, l'état rapporteur de la Commission européenne a considéré que les effets observés ponctuellement pour 4 et 8 kg/ha/an, estimés comme non pertinents par les experts, devaient être pris en compte dans l'évaluation. La dose maximum n'induisant

pas d'effet néfaste a ainsi été estimée à 4 kg/ha/an de substance active pour tenir compte des effets « transitoires » sur l'abondance et la biomasse des vers de terre.
L'étude bibliographique présentée ici est en concordance avec la majeure partie des résultats présentés par l'EFSA, à l'exception des expérimentations à son initiative qui n'ont donc pu être inclues dans l'analyse. La principale conclusion est qu'il y a un manque crucial de données concernant les organismes du sol (arthropodes et nématodes principalement) pour des gammes de doses inférieures à 50 kgCu/ha/an appliquées dans des conditions expérimentales similaires aux conditions d'application par la profession agri/viticole. Associé à ce manque de données, les observations effectuées sur les vers de terre dans des sols spécifiques ont été extrapolées pour statuer sur un haut niveau de risque environnemental.

Cette synthèse met en évidence que, sur la base de la littérature scientifique académique actuellement disponible, il est impossible de conclure objectivement à un quelconque impact écotoxicologique des fongicides cupriques appliqués à une dose de 4 kg/ha/an sur la qualité biologique des sols viticoles.

V. Quelles pistes pour les recherches futures ?

Chaque étape de ce travail de synthèse a également mis en évidence des lacunes techniques et scientifiques significatives pour pouvoir légiférer objectivement sur la limitation des doses de cuivre utilisables en viticulture et en agriculture (biologique). Ces lacunes concernent les choix méthodologiques des tests écotoxicologiques (Tableau 1):

Tableau 1 : Comparaison des conditions expérimentales menées dans les études scientifiques à ce jour et des conditions expérimentales à appliquer pour répondre à la question posée.

Critères	Conditions expérimentales choisies dans les études jusqu'à ce jour	Conditions expérimentales à appliquer dans le contexte actuel pour répondre à la question posée
Dose	Généralement >200 kg/ha	Entre 2 et 32 kg/ha soit 0.5 à 8 mg/kg en laboratoire (calculé pour un sol de densité 1.3 sur une profondeur de labour de 30 cm)
Type d'exposition	Aigüe : directe, en 1 fois	Chronique : 4 à 12 fois sur 3 mois, répétée sur plusieurs années
Echelle temporelle de l'évaluation	Court-terme : < 100 jours	Court, moyen et long termes : quelques jours à plusieurs années
Type de sol	1 ou 2 types de sol, généralement sans historique de contamination	Sols sans historique de contamination au cuivre + Sols avec contamination plus ou moins marquée

Une autre lacune concerne la représentativité des groupes biologiques étudiés dans la littérature. Les microorganismes sont les plus étudiés alors qu'ils semblent être les moins vulnérables. En revanche, la faune du sol est peu renseignée, voire pas du tout pour certains groupes. Enfin, il est indispensable de multiplier les études à travers les différents territoires viticoles du monde pour établir des conclusions génériques, c'est-à-dire indépendantes d'un contexte pédo-climatique et expérimental donné.

Table des matieres

TABLE DES FIGURES **12**

TABLE DES TABLEAUX **13**

1. INTRODUCTION GENERALE **15**

2. CONTEXTE **17**

2.1 Le Cuivre (Cu) 17
2.1.1 Indispensable mais toxique 17
Un oligo-élément indispensable aux plantes 17
Toxicité et phytotoxicité 17
2.1.2 Utilisation du cuivre en viticulture 18
Apparition des solutions à base de cuivre 18
Historique d'utilisation du cuivre en viticulture 19
Formulations 21
Application 21
2.2 Le Cuivre dans les sols 21
2.2.1 Sources de cuivre dans les sols 21
Teneur en cuivre dans les sols à l'échelle nationale 24
2.2.2 Comportements du cuivre dans le sol 26
Le cuivre dans les différents compartiments du sol 26
Distribution du cuivre selon la profondeur 26
2.3 Impact ecologique du cuivre 28
2.3.1 Disponibilité et biodisponibilité du cuivre dans le sol 28
Définition 28
Facteurs de variabilité 28
2.3.2 Avis des politiques européennes et françaises 28
2.3.3 Pourquoi évaluer l'impact écotoxicologique du cuivre sur les organismes du sol ? 29
2.3.4 La qualité biologique des sols 29
La biodiversité des sols 29
Relation entre patrimoine biologique et questionnements agricoles 30
Définition de la qualité biologique d'un sol 31
Quelles mesures pour évaluer la qualité biologique des sols 32

3. ÉLEMENTS DE METHODOLOGIE **33**

3.1 La litterature scientifique academique 33
3.2 Methodologie de recherche et d'analyse 33
3.2.1 Les mots-clés 33
3.2.2 Les étapes de filtre 35
3.2.3 Les étapes d'analyse 35

4. RESULTATS : ANALYSE BIBLIOMETRIQUE **36**

5. RESULTATS : ANALYSE DES STRATEGIES EXPERIMENTALES DES ETUDES **39**

5.1 Types d'approches experimentales 40
5.2 Nombre de parcelles etudiees et genericite des resultats 41
5.3 Profondeur d'echantillonnage 42
5.4 Historique des parcelles 43
5.5 Groupes biologiques et parametres mesures 43

5.6 Formes de cuivre appliquees 46
5.7 Frequence d'application du cuivre 46
5.8 Doses de cuivre testees 48
5.9 Adequation entre les etudes scientifiques et la question posee 48
Bilan de l'analyse des stratégies expérimentales 50

6. IMPACTS ECOTOXICOLOGIQUES DU CUIVRE SUR LES ORGANISMES DU SOL 52

6.1 Synthese des connaissances en contexte viticole 52
6.1.1 Effet de la dose de cuivre apportée 52
6.1.2 Effet de la teneur en cuivre dans le sol 54
6.2 Complement d'informations en contexte agricole non viticole 56
6.2.1 Origine des informations 56
6.2.2 Qualité des informations 56
6.2.3 Effet de la dose de cuivre apportée 57
Impact sur les microorganismes 57
Impact sur les communautés bactériennes et fongiques 60
Impact sur les nématodes 61
Impact sur les collemboles 63
Impact sur les enchytrées 65
Impact sur les vers de terre 66
6.2.4 Effet de la teneur en cuivre dans le sol 69
Impact sur les microorganismes 69
Impact sur les collemboles 71

7. SYNTHESE ET DISCUSSION 72

7.1 Synthese des connaissances en vignes/hors vignes 72
7.2 Comment l'EFSA a-t-elle pu statuer sur une dose limite de 4 kg/ha/an ? 74
7.3 Peut-on reellement conclure sur l'impact ecotoxicologique du cuivre sur la biodiversite du sol ? 77

8. QUELLES PISTES POUR LES RECHERCHES FUTURES ? 78

8.1 Les lacunes a combler 78
8.2 Quelles solutions pour combler ces lacunes ? 79
8.2.1 Des approches en microcosmes plus réalistes 80
8.2.2 Vers des sites dédiés à des approches à long terme 80
8.2.3 Au plus près des viticulteurs 81
8.2.4 Des outils de recherche aux bioindicateurs opérationnels 82

9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 83

Table des figures

Figure 1 : Efficacite du cuivre dans la lutte contre les agents phytopathogenes 18
Figure 2 : Historique des reglementations europeennes et françaises sur l'utilisation du cuivre en agriculture 19
Figure 3 : Evolution du tonnage annuel de cuivre commercialise en France pour les usages phytopharmaceutiques professionnels et amateurs entre 2000 et 2016 20
Figure 4 : Historique d'utilisation reelle du cuivre comme fongicide dans les regions viticoles en France 20
Figure 5 : Part des differentes sources d'apports de cuivre aux sols agricoles en France 22
Figure 6 : Quantites de cuivre entrant sur les sols agricoles français par departement 23
Figure 7 : a- Distribution du cuivre dans les sols de France. b- Teneurs en cuivre dans les regions a forte activite viticole 24
Figure 8 : Evolution des teneurs en cuivre extractible dans les sols agricoles français 25
Figure 9 : Facteurs influençant le comportement du cuivre dans le sol en termes de mobilite, de speciation ou de disponibilite. 27
Figure 10 : Distribution du cuivre total dans le sol selon la profondeur 27
Figure 11 : Abondance des organismes vivants dans le sol 30
Figure 12 : Relation entre le patrimoine biologique du sol, ses fonctions biologiques et agronomiques et les questionnements agricoles 31
Figure 13 : Ensemble des parametres biologiques permettant d'evaluer l'impact ecotoxicologique du cuivre sur la qualite biologique des sols viticoles 32
Figure 14 : Diagramme du processus de mise en œuvre d'une synthese bibliographique 34
Figure 15 : Évolution du nombre de publications en lien avec le cuivre, le sol et la biodiversite depuis les annees 80' 36
Figure 16 : Evolution du nombre d'articles traitant de l'ecotoxicologie du cuivre sur les organismes du sol chaque annee 37
Figure 17 : Origine geographique des 48 articles renseignant l'effet ecotoxicologique du cuivre sur la biodiversite du sol en contexte agro-viticole (2000-2020). 38
Figure 18 : Mode d'usage des sols etudies dans les articles. La valeur indique la proportion (en %) d'articles utilisant des sols de chaque mode d'usage. 39
Figure 19 : Illustrations des deux types d'approche experimentale utilisee pour etudier l'impact ecotoxicologique du cuivre sur la biodiversite du sol 40
Figure 20 : Nombre de parcelles etudiees dans les 25 articles du corpus. 41
Figure 21 : Profondeur de sol echantillonne et etudie dans les articles mesurant l'impact ecotoxicologique du cuivre sur la biodiversite du sol 42
Figure 22 : Groupes biologiques pour lesquels l'impact ecotoxicologique du cuivre a ete etudie 44
Figure 23 : Ensemble des parametres biologiques permettant d'evaluer l'impact ecotoxicologique du cuivre sur la qualite biologique des sols viticoles 44
Figure 24 : Formes de cuivre utilisees dans les etudes scientifiques 46
Figure 25 : Representation de l'impact theorique d'une perturbation chronique et d'une perturbation aigüe sur les organismes vivants. 47
Figure 26 : Schema recapitulatif des conditions actuelles d'utilisation du cuivre en viticulture et des conditions experimentales etudiees dans la litterature scientifique. 51
Figure 27 : Nombre d'articles conserves dans le corpus d'articles apres chaque etape de filtre 51
Figure 28 : Schema recapitulatif des impacts ecotoxicologiques dus a un apport de cuivre, observes dans la litterature scientifique 53
Figure 29 : Schema recapitulatif des impacts ecotoxicologiques dus a une accumulation de cuivre dans le sol, observes dans la litterature scientifique 55

Figure 30 : Synthese des doses de cuivre testees sur des sols agricoles dans la litterature academique 57
Figure 31 : Schema recapitulatif des impacts ecotoxicologiques sur les microorganismes totaux dus a un apport de cuivre, observes dans la litterature scientifique 59
Figure 32 : Schema recapitulatif des impacts ecotoxicologiques sur les nematodes dus a un apport de cuivre, observes dans la litterature scientifique. 63
Figure 33 : Schema recapitulatif des impacts ecotoxicologiques sur les collemboles dus a un apport de cuivre, observes dans la litterature scientifique. 64
Figure 34 : Schema recapitulatif des impacts ecotoxicologiques sur les enchytrees dus a un apport de cuivre, observes dans la litterature scientifique. 66
Figure 35 : Schema recapitulatif des impacts ecotoxicologiques sur les vers de terre dus a un apport de cuivre, observes dans la litterature scientifique 68
Figure 36 : Schema recapitulatif des impacts ecotoxicologiques sur les microorganismes dus a une accumulation de cuivre dans le sol, observes dans la litterature scientifique 70
Figure 37 : Synthese des doses et des teneurs en cuivre testees dans la litterature scientifique academique et des doses minimales pour lesquelles des effets deleteres ont ete observes sur le parametre biologique le plus sensible pour chaque groupe biologique du sol. 74
Figure 38 : Schema presentant 3 approches experimentales complementaires permettant d'evaluer l'impact ecotoxicologique du cuivre 79

Table des tableaux

Tableau 1 : Liste des parametres biologiques mesures pour chaque groupe d'organismes. Les valeurs correspondent au nombre d'articles renseignant le parametre. 45
Tableau 2 : Bilan du nombre d'articles renseignant l'impact ecotoxicologique du cuivre sur la qualite biologique du sol selon le contexte, le groupe biologique et le type d'information (Patrimoine, Fonctionnement, Etat de sante) 73
Tableau 3 : Reductions significative dans l'abondance totale des vers de terre aux deux sites etudies par Klein et al, 2015. 76
Tableau 4 : Conditions experimentales appliquees a ce jour avec celles qui devraient etre appliquees pour statuer sur l'impact ecotoxicologique du cuivre dans les conditions actuelles d'utilisation par les viticulteurs 80

1. Introduction générale

Depuis une vingtaine d'années, la société est entrée dans la transition écologique, c'est-à-dire une évolution vers un nouveau modèle économique et social qui adapte les modes de consommation, de production et de travail pour répondre aux grands enjeux environnementaux : le changement climatique, la rareté des ressources, la perte de biodiversité et la multiplication des risques sanitaires environnementaux. Cette transition écologique concerne tout particulièrement le monde agricole (transition agro-écologique) qui doit revoir ses modes de production et ses pratiques pour réduire au maximum son empreinte environnementale. Bien que l'ensemble des pratiques agricoles soit susceptible d'altérer la biodiversité, l'utilisation des pesticides et des herbicides est aujourd'hui la principale cible sur le banc des accusés.

Ainsi depuis le début des années 2000 de nombreux traitements phytosanitaires de synthèse ont fait l'objet de limitations, voire d'interdiction, car ils induisent des répercussions en termes de biodiversité et d'intégrité des écosystèmes. En parallèle, le mode de production biologique s'est fait une place dans le paysage agricole avec une croissance continue des conversions pour atteindre 8.5% des surfaces agricoles en 2019. Le label « Agriculture Biologique » implique, entre autres, que les protections phytosanitaires reposent principalement sur les prédateurs naturels, le choix des espèces et des variétés, la rotation des cultures, les techniques culturales, les procédés thermiques et en cas de menace avérée, des produits phytopharmaceutiques « naturels » tels que le cuivre et le soufre (AB réglementation française CE 889/2008).

Pour les cultures pérennes, principalement en vignes, le cuivre est la seule alternative connue à ce jour pour lutter contre le mildiou en viticulture biologique, de façon suffisamment efficace. Alors que le cahier des charges de l'agriculture biologique limite la dose annuelle à 6 kg/ha depuis 2002, la Commission européenne a réglementé son utilisation à 4 kg/ha/an en 2019. Néanmoins, le rapport de l'EFSA, sur lequel se base la Commission européenne, souligne un manque de données scientifiques pour évaluer précisément l'impact écotoxicologique du cuivre et les principales références citées datent du début des années 2000. De plus, ces études considèrent des doses d'apports bien supérieures à celles appliquées aujourd'hui en viticulture biologique.

La nécessité de mener cette étude a été identifiée par des viticulteurs français pratiquant l'agriculture biologique ou biodynamique dans ce contexte de limitation croissante des doses de cuivre applicables en agriculture par les autorités sanitaires. Ces viticulteurs sont soucieux de connaître l'impact environnemental du cuivre mais également de mieux comprendre les fondements de cette réglementation sur les fongicides cupriques. Ils souhaitent ancrer cette démarche dans la recherche académique afin de répondre de façon objective à la problématique suivante : « *Quels sont les impacts écotoxicologiques du cuivre sur la biodiversité des sols en système viticole, aux doses utilisées actuellement en viticulture biologique ?* ».

Il est possible de répondre à cette question par plusieurs approches méthodologiques :

- La synthèse des connaissances scientifiques déjà disponibles
- La méta-analyse de données existantes non valorisées
- La mise en place d'expérimentations

Dans un premier temps, il nous a paru plus pertinent de s'orienter vers une synthèse des connaissances scientifiques déjà disponibles pour 5 raisons complémentaires :

- Cette approche fournit des premières réponses rapidement (quelques semaines),
- Elle est la moins coûteuse,
- Ce type de synthèse est indépendant et objectif,
- L'avis des experts des autorités sanitaires repose en grande partie sur cette approche de synthèse bibliographique,
- Cette approche est nécessaire pour identifier les expérimentations pertinentes à mettre en œuvre afin de combler des lacunes de connaissances plutôt que de réitérer des expériences déjà menées.

Ce rapport est constitué de 7 parties :

1. Le contexte présente les pré-requis à la problématique posée : qu'est-ce que le cuivre ? pourquoi et comment est-il utilisé en agriculture et en viticulture ? que sait-on de son accumulation dans le sol ? quel est son impact écologique ?
2. La méthodologie de la recherche bibliographique et du travail de synthèse est succinctement expliquée.
3. L'analyse bibliométrique fait le bilan numérique des articles scientifiques associés à la recherche, de leur évolution dans le temps ainsi que de leur origine géographique.
4. L'analyse des stratégies expérimentales des études rend compte de la diversité des approches méthodologiques employées et permet d'identifier la littérature scientifique académique répondant de façon pertinente à la question.
5. L'analyse bibliographique au sens strict restitue les résultats pertinents identifiés dans la littérature. Cette partie présente l'ensemble des impacts écotoxicologiques du cuivre répertoriés sur la biodiversité des sols viticoles. D'abord orientée sur les sols viticoles, cette partie fournit également des informations sur l'impact écotoxicologique du cuivre dans des contextes agricoles non-viticoles, afin de compléter les connaissances sur la question.
6. La synthèse des résultats donne une vision globale des connaissances actuelles. Ces connaissances sont mises en regard du dernier rapport des autorités européennes afin d'établir si les données disponibles sont suffisantes pour légiférer sur l'utilisation du cuivre en agriculture et viticulture.
7. Enfin des pistes de recherche sont proposées afin de combler les lacunes expérimentales et scientifiques mises en évidence par cette synthèse bibliographique.

2. Contexte

2.1 Le Cuivre (Cu)

2.1.1 Indispensable mais toxique

Un oligo-élément indispensable aux plantes

Le cuivre est un oligo-élément essentiel pour les plantes et les animaux et en situation de carence les risques sont élevés pour les organismes. Il est nécessaire à leur métabolisme mais seulement à faible dose. Le cuivre est impliqué dans différents systèmes enzymatiques chez les plantes à l'origine de la photosynthèse, de la respiration, de la croissance, de la production de graines et de la détoxification (Loué, 1993 ; Marschner et al., 1995 ; Clemens, 2001 ; Kabata-Pendias, 2010). Les plantes ont donc développé des mécanismes d'absorption et de transfert du cuivre vers les organes. Une carence ou un excès de cuivre aura des conséquences préjudiciables pour leur croissance. La concentration optimale dans les parties aériennes est comprise entre 2 et 30 mgCu/kg de matière sèche et dépend de l'espèce (Reuter et Robinson, 1997). En cas de carence (< 2 à 5 mg/kgMS), les symptômes sont une altération du développement du pollen, des troubles de l'épiaison sur céréales, une décoloration des jeunes feuilles, un défaut de turgescence des feuilles si les vaisseaux du xylème sont insuffisamment lignifiés, la mort des jeunes pousses et le rabougrissement des arbres (Loué, 1993 ; Kabata-Pendias, 2010). En France, il est rare que la vigne montre des symptômes de carence en cuivre.

Toxicité et phytotoxicité

Le cuivre est non toxique pour les mammifères et les animaux domestiques (lapins, poneys et cochons) tolèrent parfaitement de hautes teneurs en cuivre dans leur alimentation (300 à 800 mg/kg d'aliments secs) (Flemming et Trevors, 1989). Comparé aux mammifères, les organismes aquatiques sont excessivement plus vulnérables au cuivre. Les limites de tolérance toxique chez les mammifères sont 10 à 100 fois plus élevées que celles des poissons et des crustacés et 1000 fois plus élevées que celles des algues. Les poissons et crustacés avec les rapports surface/volume et les fréquences respiratoires les plus importants absorbent plus facilement le cuivre et accentuent leur sensibilité toxique.

Chez les microorganismes, les effets toxiques du cuivre sont très variables selon le milieu (eaux, sédiments, sols), les caractéristiques physico-chimiques et les paramètres mesurés. De hautes concentrations en cuivre peuvent induire la sélection de populations microbiennes naturellement résistantes (Lejon et al., 2010), voire qui sont capables d'accumuler le métal. Les microorganismes sont à la base de la chaîne trophique, ainsi l'entrée du cuivre dans la chaîne trophique et son transfert dans les niveaux trophiques supérieurs (consommateurs et prédateurs) sont facilités.

Chez les plantes, un excès de cuivre (> 15 à 30 mg/kgMS) provoque en premier lieu une rhizotoxicité dont les symptômes sont un brunissement des racines, une réduction de la formation des poils absorbants et une diminution de l'élongation racinaire (Kopittke et Menzies, 2006), un épaississement des racines (Panou-Filotheou et Bosabalidis, 2004) et

une perte de biomasse racinaire (Marschner, 1995). Les parties aériennes sont affectées dans un second temps et les symptômes sont alors une atteinte du feuillage (déformations et décolorations internervaires caractéristiques des chloroses ferriques induites par l'excès de cuivre, Davis et Beckett, 1978), des nécroses, une dégradation du développement de la vigne (Coïc et Coppenet, 1989), allant jusqu'au nanisme (Marcellin, 1974) ou à la mort des souches. La phytotoxicité au cuivre touche principalement les vignes jeunes car les vignes âgées présentent un système racinaire plus développé, descendant dans des horizons plus profonds et non contaminés du sol. Elles sont moins sensibles que les jeunes vignes qui ont des organes plus vulnérables. Cette toxicité dépend également de la biodisponibilité du cuivre dans le sol, elle-même dépendante du statut chimique du sol (CEC, pH).

2.1.2 Utilisation du cuivre en viticulture

Apparition des solutions à base de cuivre

En France, l'utilisation du cuivre en tant que fongicide contre le mildiou remonte à l'invention de la bouillie bordelaise en 1882 par Millardet. En Médoc, un usage ancien consistait à couvrir le feuillage des souches de l'extrémité des rangs de vigne par un mélange de sulfate de cuivre et de chaux pour éloigner les maraudeurs. Millardet observa que les feuilles enduites étaient moins touchées par le mildiou que les autres souches (Branas, 1984). Il proposa donc la pulvérisation de sulfate de cuivre pour lutter contre la maladie à partir de 1883 et la pratique devint systématique en vigne dès 1885. Elle s'est par la suite étendue à l'arboriculture, au maraîchage mais également pour la culture du coton, du houblon, de la chicorée et pour les rosiers.

Grâce à son action non-sélective et polyvalente, le cuivre est utilisé comme produit de contact sur les parties aériennes pour lutter contre les maladies cryptogamiques de la vigne notamment. Ainsi, il permet de combattre plusieurs maladies causées par des agents phytopathogènes différents mais est principalement considéré comme un fongicide. Son efficacité est variable selon la maladie (Branas, 1984 ; Figure 1).

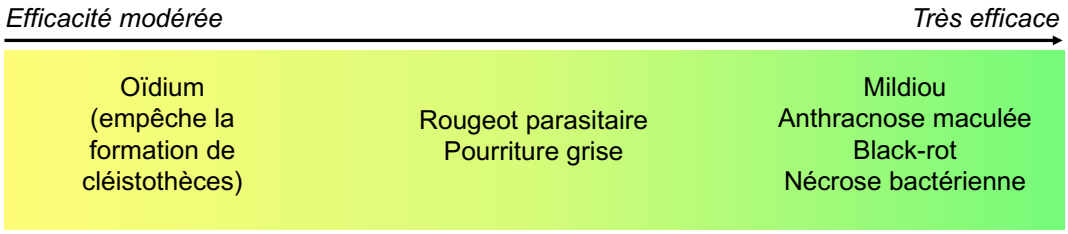


Figure 1 : Efficacité du cuivre dans la lutte contre les agents phytopathogènes selon la maladie (Branas, 1984).

L'effet du cuivre est dû aux propriétés antifongiques et bactéricides de l'ion cuivrique Cu^{2+}. Il intervient à plusieurs niveaux (Rousseau, 1995 ; Michaud et al., 2007) :

- Blocage des processus respiratoires,
- Frein à la biosynthèse des protéines,
- Diminution de l'activité membranaire et du transfert des éléments,
- Catalyse de la production de radicaux libres qui sont de puissants oxydants.

Son efficacité à réguler le développement de populations microbiennes phytopathogènes est avéré uniquement à titre préventif, étant sans effet si l'agent

pathogène est déjà présent dans les tissus végétaux. Il a également été observé que le cuivre empêche la germination des conidies et la pénétration des filaments dans les feuilles, provoquant la mort des zoospores de *Plasmopora viticola* (Branas, 1984).

Historique d'utilisation du cuivre en viticulture

Dans la première moitié du 20ème siècle, la dose de cuivre apportée en vigne était de l'ordre de 15 à 50 kg/ha/an (Gelin et Stengel, 1998). La seconde guerre mondiale a entraîné une pénurie de cuivre tout en accélérant le développement des produits de synthèse. Des progrès dans les formulations ont rendu le cuivre efficace à plus petites doses, grâce à l'ajout d'adjuvants de plus en plus performants. En parallèle, le pulvérisateur fait son apparition et se perfectionne au cours des années permettant un meilleur contrôle de l'application des doses et donc leur diminution. Ainsi au début du 21ème siècle, les doses de cuivre appliquées en viticulture ont été divisées par 5 à 10.

Cette dernière décennie, la prise de conscience des enjeux environnementaux en lien avec l'usage des pesticides, a contraint les institutions européennes et françaises à réglementer l'utilisation du cuivre comme produit phytosanitaire (directive européenne (CE n°1107/2009) au même titre que les produits de synthèse. Ainsi entre 2002 et 2005, la dose maximale autorisée est de 8 kg/ha/an puis de 6 kg/ha/an à partir du 1er janvier 2006 avec un lissage sur 5 ans (Figure 2). En 2013, la commission européenne a reconduit sa décision de limiter la dose annuelle de cuivre à 6kg/ha avec un lissage sur 5 ans. La révision de cette autorisation en 2019 limite désormais cette dose à 4kg/ha/an avec la possibilité d'un lissage sur 7 ans avec probablement comme objectif à l'horizon 2025 d'en interdire totalement l'utilisation.

Indépendamment des directives européennes et françaises, en Agriculture biologique, l'utilisation du cuivre est limitée à des doses de 6 kg/ha/an depuis 2002 (Cahier des charges AB, 2014). La réglementation Demeter fixe quant à elle la dose maximale à 3 kg/ha/an depuis les années 90, avec des apports maximums de 0.5 kg/ha.

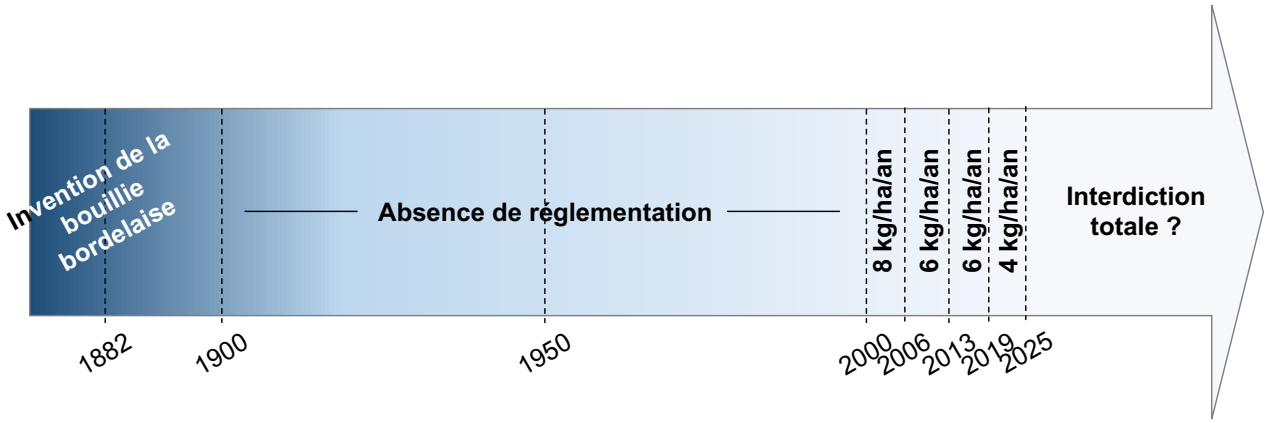


Figure 2 : Historique des réglementations européennes et françaises sur l'utilisation du cuivre en agriculture.

Sur le terrain, les doses appliquées se situent en dessous des recommandations dès 2002. En 2007, l'ADEME publie un rapport montrant que l'utilisation du cuivre a fortement diminué au début des années 2000 (Figure 3 et Figure 4Figure 8), avec des doses moyennes de 1 à 2 kg/ha/an (3 kg/ha/an au maximum). Il faut relativiser ces chiffres selon le contexte de l'époque. Le monde viticole amorce une évolution vers l'agriculture

raisonnée, encouragée par la réduction des doses homologuées pour limiter l'impact du cuivre sur l'environnement. Néanmoins, à l'époque seul 1% des surfaces était en viticulture biologique et l'apparition de nouveaux produits concurrents sur le marché a contribué à une baisse drastique de l'utilisation de cuivre (ADEME, 2007).

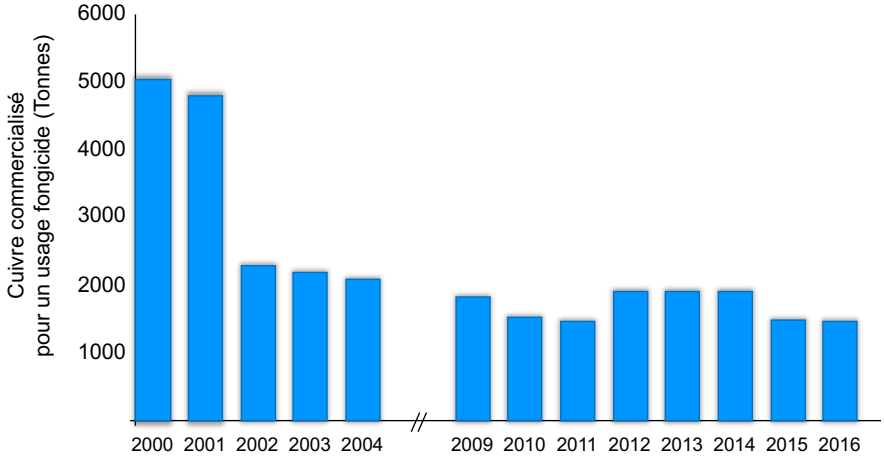


Figure 3 : Évolution du tonnage annuel de cuivre commercialisé en France pour les usages phytopharmaceutiques professionnels et amateurs entre 2000 et 2016. Les données sont manquantes entre 2005 et 2008 (source : UIPP, ANSES – Banque nationale des ventes de produits phytopharmaceutiques réalisées par les distributeurs agréés (BNDV)).

En 2006, la viticulture biologique reste encore peu développée avec seulement 2% des surfaces en vignes. L'application de cuivre dans les vignes françaises s'élève alors 2.2 kg/ha/an en moyenne tout mode de production confondu (Agreste, 2012 ; Figure 4). En 2010, la viticulture biologique représente 6% des surfaces viticoles et consomme en moyenne 3.5 kg/ha/an de cuivre comparé à la viticulture conventionnelle qui est à 1.8 kg/ha/an (Agreste, 2012). En 2013, 8% des surfaces viticoles sont en mode biologique et l'application de cuivre se fait usuellement à doses réduites. Les doses moyennes de traitement contre le mildiou ne se situent qu'à 37% de la dose homologuée contre 83% pour les surfaces traitées en conventionnel. Le sous-dosage est une pratique maîtrisée qui tend également à se répandre en viticulture conventionnelle. Alors qu'elle ne concerne que 37% des traitements en 2006 et 2010, elle s'applique à 45% d'entre eux en 2013 avec des doses représentant en moyenne 58% des doses homologuées (Agreste, 2016). En 2018, la dose moyenne lissée est de 2.98 kg/ha/an en viticulture biologique.

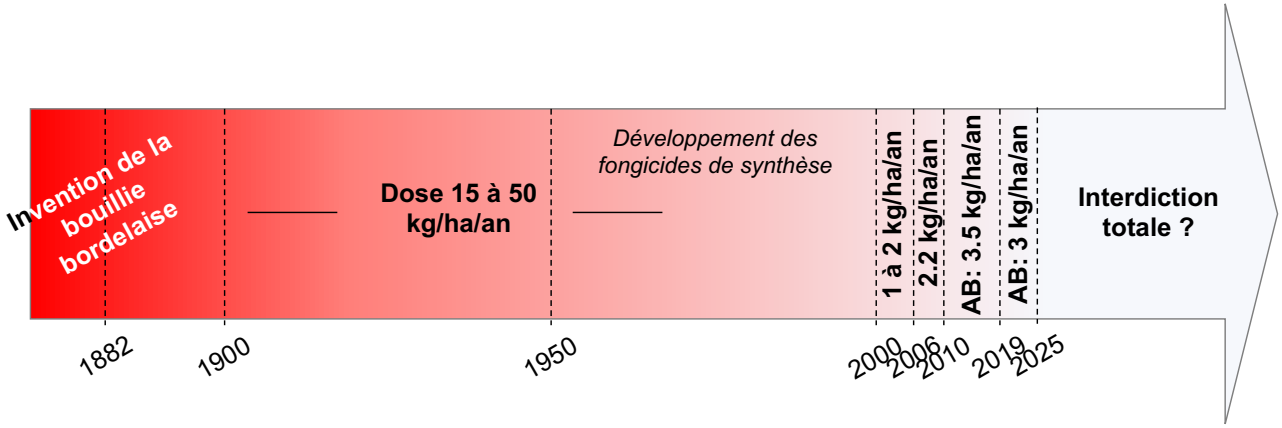


Figure 4 : Historique d'utilisation réelle du cuivre comme fongicide dans les régions viticoles en France. AB renvoie aux doses de cuivre appliquées plus spécifiquement en viticulture biologique.

Formulations

De nombreuses formulations à base de cuivre existent : sulfate de cuivre ($CuSO_4$), hydroxyde de cuivre ($Cu(OH)_2$), oxyde cuivreux (Cu_2O), oxychlorure de cuivre ($CuCl_2$-$3Cu(OH)_2$), chlorure du cuivre ($CuCl_2$), nitrate de cuivre ($Cu(NO_3)_2$). La plus couramment utilisée, la bouillie bordelaise (sulfate de cuivre tribasique) résulte de la neutralisation d'une solution aqueuse de sulfate de cuivre ($CuSO_4$, $5H_2O$) par du lait de chaux ($Ca(OH)_2$). Quelle que soit la forme de cuivre apportée, une neutralisation du pH est nécessaire afin de ne pas brûler les feuilles par l'acidité du produit et de ne pas déséquilibrer le pH du sol. La composition de la bouillie bordelaise varie selon les sels de sulfates de cuivre et les apports calciques (gypse ou plâtre) utilisés. En France, les bouillies bordelaises commerciales sont constituées de 17 à 50% de cuivre. Parmi les autres formes de cuivre, l'hydroxyde de cuivre et l'oxychlorure de cuivre provoquent moins d'effets secondaires pour les plantes (brûlures) (Pietrzak et McPhail, 2004). Seuls le sulfate, l'hydroxyde et l'oxychlorure de cuivre sont autorisés en viticulture biologique.

Application

L'application s'effectue par pulvérisation sur les parties aériennes. Le cuivre a un mode d'action par contact. Son application doit donc être renouvelée en fonction du cycle de développement du pathogène, des conditions climatiques mais aussi de la croissance du végétal et de la sensibilité du cépage à la maladie.

A l'issue de cette application, le cuivre peut finir sa course dans le sol par voie directe ou indirecte (Pietrzak et McPhail, 2004) : i- la pulvérisation aérienne imprécise provoque des dépôts directement sur le sol ; ii- le lessivage des produits lors d'épisodes pluvieux, la chute des feuilles traitées ou la restitution des sarments au sol constituent une entrée indirecte du cuivre dans le sol. Lors de pluies supérieures à 2 mm, jusqu'à 40% du produit cuprique est lessivé vers le sol (Molot, 2003). Les années humides imposent donc plus de traitements, aboutissant *in fine* à un transfert plus important de cuivre dans le sol.

2.2 Le cuivre dans les sols

2.2.1 Sources de cuivre dans les sols

Les concentrations de cuivre dans les sols sont le résultat de l'accumulation de différentes sources :

1- Le cuivre est naturellement présent dans la roche-mère sur laquelle repose le sol et qui est à l'origine de la pédogenèse. Les sols développés sur des roches d'origine sédimentaire contiennent plus de cuivre que les sols développés sur des roches de type schistes ou granites (Fernandez-Calvino et al. 2008), et les roches volcaniques sont les plus concentrées en cuivre (Kabata-Pendias, 2010). Les minéraux cupriques viennent de la dégradation de ces roches parentales. A cela s'ajoutent les minéraux formés au cours des processus géochimiques soit par substitution à d'autres cations métalliques, soit par co-précipitation avec des carbonates magnésiens, des carbonates calciques, ou des oxydes de fer, de manganèse et d'aluminium (McBride, 1981). Ce fond **pédogéochimique** varie donc selon l'origine et la composition de la roche-mère et selon les processus pédogéochimiques, Il correspond à une teneur moyenne en cuivre de 3.2 mg/kg dans les sols sableux, 6.3

mg/kg dans les sols limoneux, 11.6 mg/kg dans les sols équilibrés, 13.3 mg/kg dans les sols argileux et 16.7 mg/kg dans les sols très argileux (Baize, 1994).

2- Les **retombées atmosphériques** qui se déposent sur les sols sont soit d'origine naturelle (érosion éolienne, éruption volcanique, sels marins, feux de forêts) soit d'origine anthropique (activités industrielles, minières, agricoles, incinération de déchets) (Tiller et Merry, 1981 ; Baker et Senft, 1995 ; Bourrelier et Berthelin, 1998). Les retombées atmosphériques en France sont en moyenne de 9 g/ha/an, soit 5% des apports annuels au sol (ADEME, 2007).

3- L'**utilisation agricole** du cuivre (fertilisation, épandages de déjections animales, de boues ou de composts, chaulage, traitements phytosanitaires) constitue également une source importante pour le sol (Figure 5). Le cuivre est utilisé en élevage pour accroître la performance mais étant peu assimilé par les animaux, il est éliminé dans les déjections. Lors de l'épandage des effluents d'élevage le cuivre est transféré au sol. En France, les déjections animales représentent 53% des apports annuels de cuivre au sol. Comme décrit précédemment, le cuivre est également utilisé comme fongicide. Efficace contre de nombreuses maladies des plantes, son usage est généralisé en production biologique et fréquent en conventionnel. Les traitements phytosanitaires représentent donc 34% des sources d'apport de cuivre dans le sol (ADEME). L'apport de cuivre au sol par l'épandage des boues est réglementé depuis 1998 et se limite à 15 kgCu/ha sur 10 ans. Dans les régions viticoles (Sud-Ouest, Vallée de la Loire, Bourgogne-Beaujolais, Languedoc-Roussillon, Provence), jusqu'à 90% du cuivre trouvé dans le sol est attribuable à l'usage de pesticides (Figure 6).

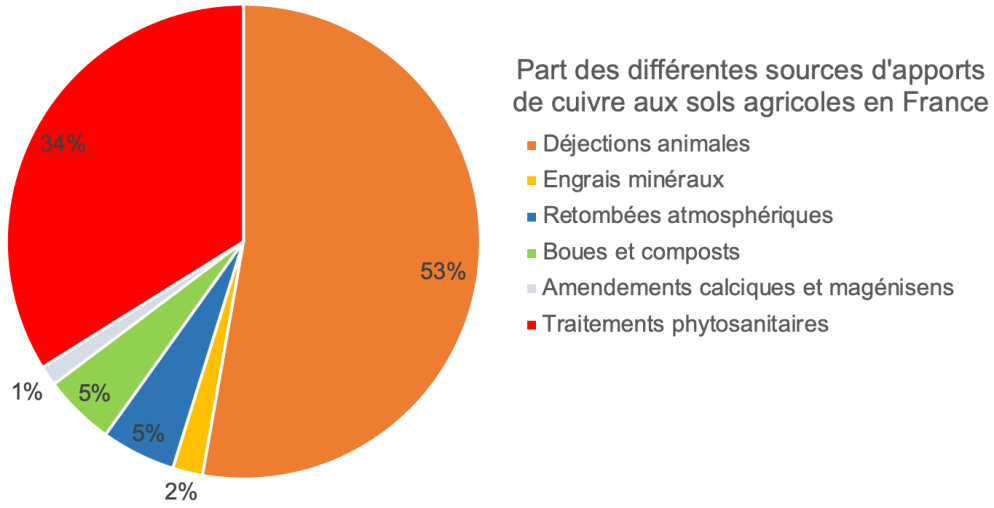


Figure 5 : Part des différentes sources d'apports de cuivre aux sols agricoles en France (ADEME, 2007)

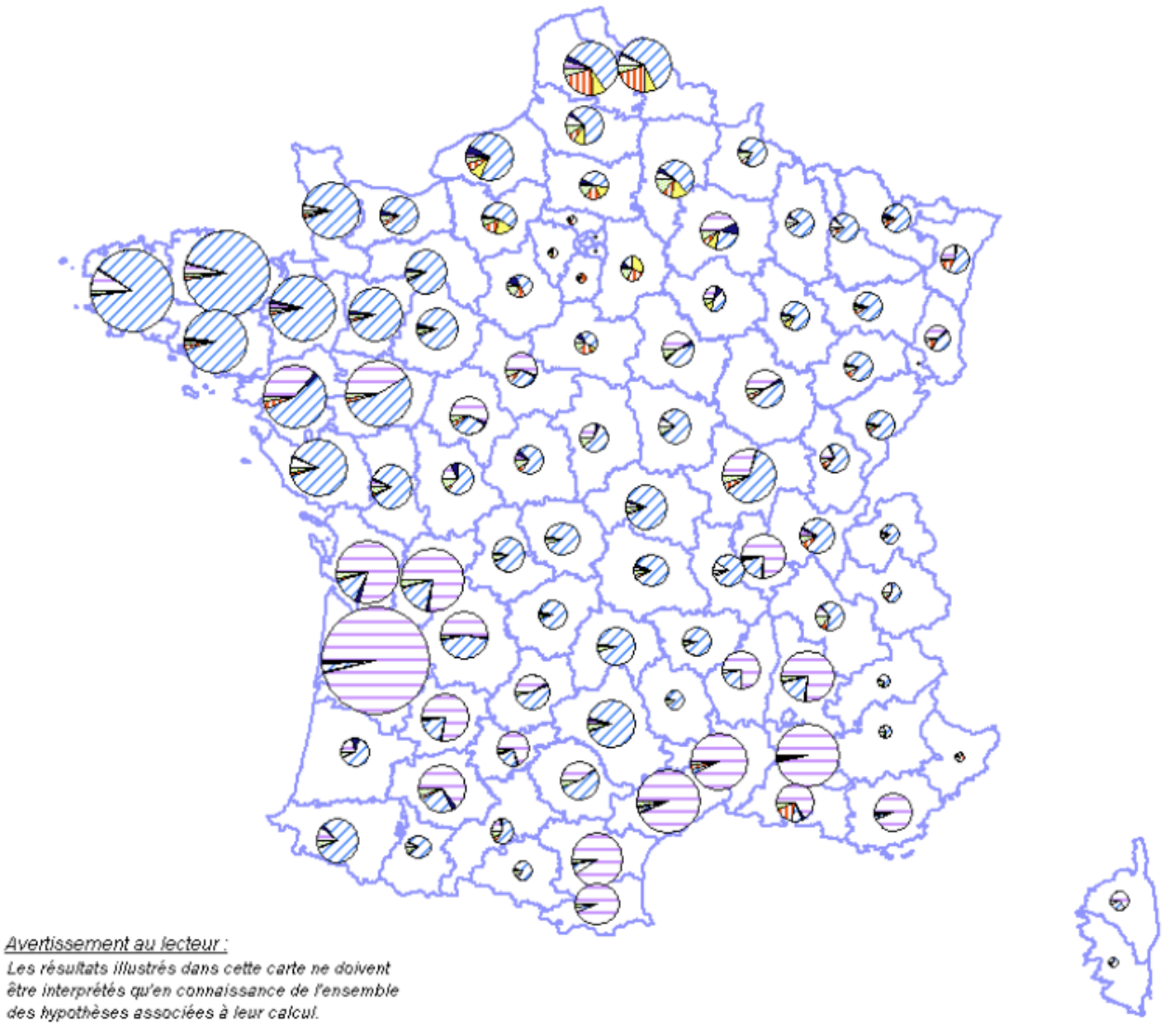


Figure 6 : Quantités de cuivre entrant sur les sols agricoles français par département

2.2.2 Teneur en cuivre dans les sols à l'échelle nationale

Le Réseau de Mesure de la Qualité des Sols, qui correspond au référentiel national sur les sols, indique une teneur moyenne en cuivre total de 20 mg/kg de sol sec. Cette teneur varie entre 5 et 36 mg/kg pour 90% des sols français, tout type d'usage confondu (source GISSOL, Figure 7a). Dans certains cas, elle peut dépasser 500 mg/kg. 53% des fortes teneurs (plus de 100 mg/kg) se trouvent dans des zones occupées à plus de 20% par des vignes et des vergers (Figure 7b).

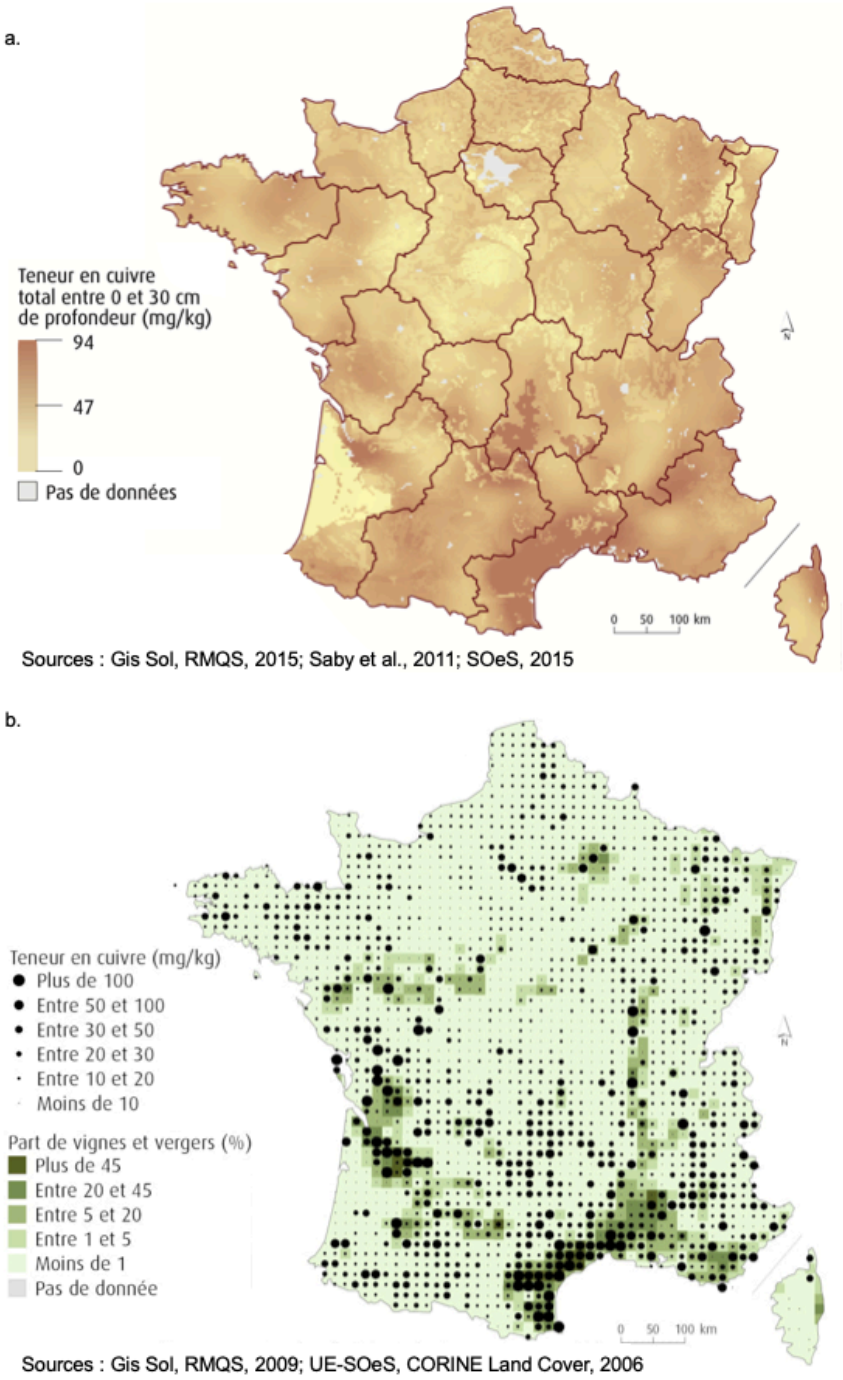


Figure 7 : a- Distribution du cuivre dans les sols de France. b- Teneurs en cuivre dans les régions à forte activité viticole

A l'échelle du territoire, les sols viticoles présentent des teneurs moyennes en cuivre de 64 mg/kg, soit des teneurs 4 fois plus élevées que dans les autres sols agricoles (14 mg/kg en moyenne) (Joimel et al., 2016). Le niveau de contamination dans les sols viticoles est comparable à celui des sites miniers et industriels (Joimel et al., 2016) et atteint fréquemment des valeurs largement supérieures à 100 mg/kg (ADEME, 2020). La Figure 7b met en évidence que les sols viticoles les plus contaminés se situent dans la région de Bordeaux et l'Occitanie. En général, la teneur en cuivre des sols augmente avec le caractère humide du climat et surtout par cumul des quantités de cuivre apportées aux vignes. Celle-ci est d'autant plus importante que la vigne est implantée depuis longtemps.

Les teneurs en cuivre observées dans les sols viticoles français sont similaires à celles des autres régions historiquement viticoles dans le monde, comme l'Allemagne (Cetois et al., 2003), l'Espagne (Arias et al., 2005), le Portugal (Pessanha et al., 2010), la Croatie (Romić et al., 2004) ou encore la Suisse (Celardin et al., 2004). En revanche, les nouveaux pays producteurs, comme l'Afrique du Sud (Eijsackers et al., 2005), le Canada (Franck et al., 1976), la Chine (Lai et al, 2010), l'Australie (Wightwick et al., 2008 et 2010) ou les USA (Taschenberg et al., 1961) semblent moins touchés par cette accumulation dans les sols viticoles, probablement du fait d'un historique d'application plus récent et bénéficiant de l'expérience des précédents.

La Base de Données d'Analyses des Terres (BDAT), qui réunit les résultats pour plus de 2 millions d'échantillons de sols agricoles en France, rend compte de l'évolution des teneurs en cuivre extractible à l'EDTA (Ethyle Diamine Tetra-Acétique) dans les sols depuis 1990 (Figure 8). L'évolution des teneurs en Cuivre indique que cette contamination reste stable depuis les années 90, voire même diminue dans le Bordelais. Cette observation est cohérente avec la réduction des doses appliquées en viticulture depuis le début des années 2000.

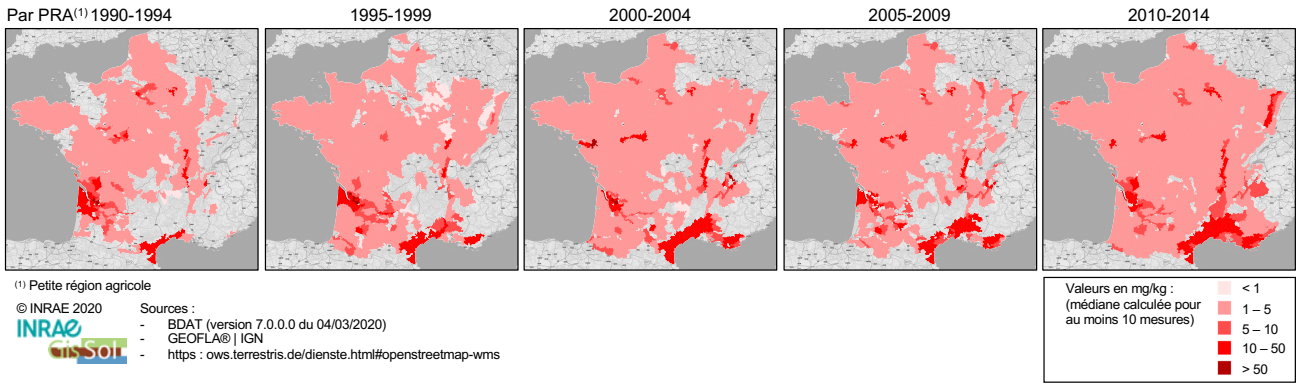


Figure 8 : Evolution des teneurs en cuivre extractible dans les sols agricoles français. Les valeurs correspondent à la médiane calculée pour les petites régions agricoles (PRA) pour lesquelles au moins 10 mesures étaient disponibles.

2.2.3 Comportement du cuivre dans le sol

Le cuivre dans les différents compartiments du sol

L'accumulation et la distribution du cuivre dépend de la composition minérale et organique des sols et de leurs caractéristiques pédoclimatiques (température, humidité, pH, etc., Figure 9).

Le cuivre se retrouve majoritairement dans la phase solide puisqu'il se complexe très rapidement à de nombreux éléments, limitant ainsi sa mobilité et sa biodisponibilité. Seul 1 à 2% du cuivre total se trouve en solution (Sauvé et al., 1998). Dans la phase solide, il peut se complexer à la matière organique, aux oxydes et hydroxydes de fer, de manganèse ou d'aluminium. Il peut également être adsorbé sur les charges négatives des argiles, précipité avec des carbonates ou inclus dans des minéraux. Une fois adsorbé, le cuivre peut passer en solution sous certaines conditions physico-chimiques. La rétention du cuivre dans la phase solide du sol est essentiellement due à ces interactions avec la matière organique et les hydroxydes, et est fortement liée au pH (Celardin et al., 2003 ; Lair et al., 2007 ; Bravin, 2008). Le cuivre se fixe par liaison électrostatique à tous les constituants portant des charges négatives. Il est alors en compétition avec les autres cations présents en solution, notamment le proton H^+ et la calcium Ca^{2+}. Ceci explique sa forte interaction avec le pH d'une part et la capacité d'échange cationique (CEC) d'autre part.

En résumé :

i- Plus le taux de matière organique est élevé, plus le cuivre va se fixer.

ii- Plus un sol est acide, plus le cuivre est mobile.

iii- Plus la CEC est importante, plus les cations cuivreux sont fixés par la matière.

Cependant, le cuivre présente un comportement complexe en réaction au pH. D'un côté, c'est un métal plus soluble en milieu acide qu'en milieu basique mais il est complexé par des matières organiques solubles à des pH supérieurs à 6.5. Ainsi dans certains cas, l'effet direct du pH peut être masqué par l'influence de la matière organique du sol (Michaud et al., 2007).

Dans la solution du sol, le cuivre est sous forme complexée à de la matière organique dissoute, adsorbée sur des colloïdes, liée à des ligands inorganiques ou sous forme ionique libre. Cette spéciation est dominée par la complexation avec la matière organique dissoute car la forte affinité entre les ligands organiques et le cuivre rend l'interaction plus stable. La spéciation du cuivre en ions Cu^{2+} est minoritaire et dépend fortement du pH de la solution du sol.

Distribution du cuivre selon la profondeur

Dans le sol, le cuivre est un élément avec une faible mobilité. Lorsqu'il y a contamination, la concentration est plus forte en surface car le cuivre se fixe sur les matières organiques qui s'y accumulent et l'immobilisent (Brunetto et al., 2018). A l'inverse, les anomalies géochimiques naturelles sont souvent atténuées en surface et sont essentiellement identifiables en profondeur. Selon l'horizon considéré les teneurs en cuivre peuvent donc énormément varier au sein d'un même profil de sol avec, le plus souvent, un effondrement des teneurs lorsque la profondeur de travail du sol est atteinte (20-30 cm, voir Figure 10) (Romic et al., 2014 ; Brunetto et al., 2018).

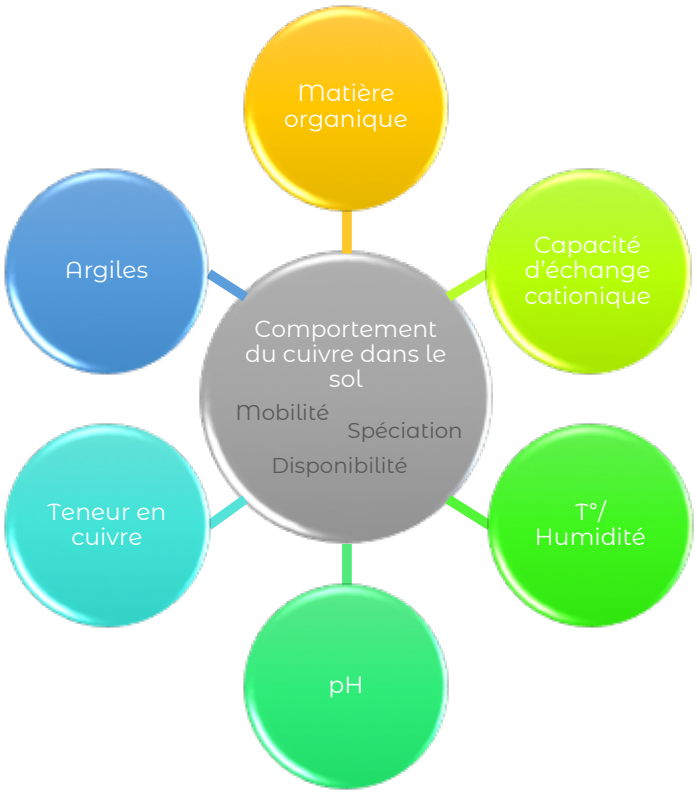


Figure 9 : Facteurs influençant le comportement du cuivre dans le sol en termes de mobilité, de spéciation ou de disponibilité.

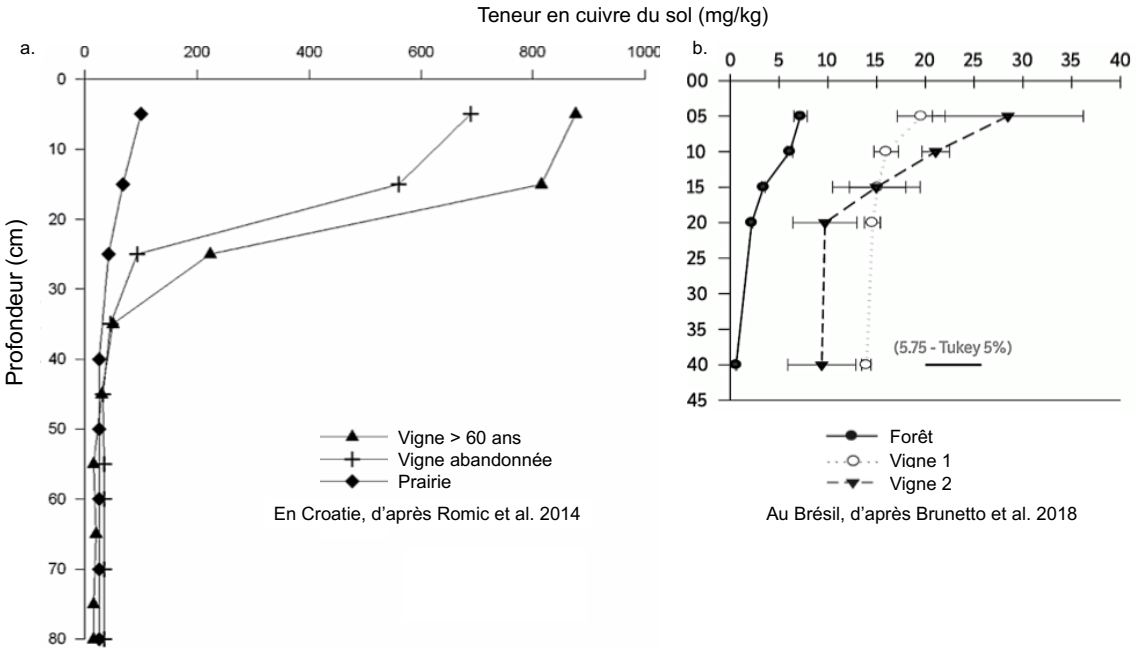


Figure 10 : Distribution du cuivre total dans le sol selon la profondeur. a- Exemple pour 1 sol de prairies et 2 sols viticoles en Croatie (traduit d'après Romic et al. 2014). b- Exemple pour 1 sol de forêt et de 2 sols viticoles au Brésil (traduit d'après Brunetto et al. 2018).

2.3 Impact écologique du cuivre

2.3.1 Disponibilité et biodisponibilité du cuivre dans le sol

Définition

La disponibilité est la capacité d'un composé chimique à passer d'un compartiment à l'autre du sol en fonction de processus physico-chimiques de désorption (Harmsen et al., 2005 ; Bravin, 2008). La disponibilité d'un élément déterminera en partie sa biodisponibilité. La biodisponibilité se définit comme le « degré avec lequel les contaminants chimiques présents dans un sol peuvent être absorbés ou métabolisés par un humain ou un récepteur écologique ou sont disponibles pour une interaction avec des systèmes biologiques » (ISO DIS 11074). Ces processus varient selon l'organisme étudié et le milieu. Ainsi, les quantités de cuivre prélevées par les plantes résultent du transfert de l'élément de la phase solide à la solution du sol (disponibilité) puis aux tissus de la plante (biodisponibilité).

Facteurs de variabilité

Les facteurs liés au sol qui contrôlent le transfert du cuivre vers la plante sont les mêmes que ceux qui influencent sa mobilité, sa concentration et sa spéciation dans la solution du sol : le pH, la capacité d'échange cationique (en lien avec la matière organique et l'argile) et le potentiel d'oxydo-réduction (Trémel-Schaub et Feix, 2005). Cela se traduit par une augmentation des concentrations en cuivre dans les racines des végétaux (Brun et al., 2001, Michaud et al., 2007). Pour des sols comparables et des concentrations en cuivre total et biodisponible équivalentes, tous les organismes ne prélèvent et n'accumulent pas les mêmes quantités. Certaines cultures comme la vigne accumulent peu le cuivre comparativement à d'autres plantes (blé, maïs, betterave par exemple) (Chopin et al., 2008). A cela s'ajoute un très faible coefficient de transfert entre les racines fines qui prélèvent l'élément depuis l'horizon supérieur du sol vers les organes aériens.

Même en forte quantité, un contaminant peut ne pas affecter les organismes vivants s'il est fixé à la matrice, peu disponible, ou sous une forme non-assimilable. Les effets écologiques du cuivre dépendent donc de la quantité de cuivre présent, de son état en lien avec les caractéristiques du sol et surtout de la capacité de l'organisme considéré à tolérer le cuivre.

2.3.2 Avis des politiques européennes et françaises

En Europe, les réglementations sur l'utilisation du cuivre en agriculture reposent sur les rapports d'expertise rendus par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA en anglais pour *European Food Safety Authority*) tous les 4 à 7 ans, le dernier datant de 2018. A l'échelle de la France, l'Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) conduit également une veille de phytopharmacovigiliance et a produit une synthèse des données de surveillance nationale concernant le cuivre en 2018. Selon ces 2 autorités sanitaires, les composés cuivrés utilisés comme fongicides et bactéricides sont approuvés au titre du règlement n° 1107/2009, depuis le 01/12/2009 et jusqu'au 31/12/2025. Les composés cuivrés ne sont pas

classés (règlement n°1272/2008). Ils sont candidats à la substitution du fait de leurs propriétés de persistance et de toxicité pour les organismes aquatiques.

Cette décision repose sur des mesures de teneurs en cuivre dans les sols, les eaux de surfaces, les eaux souterraines et les produits végétaux et animaux de consommation. Elle repose également sur des données d'impact écotoxicologique issues de la recherche et de la littérature scientifiques publiques. **Sur cette base, l'EFSA et l'ANSES ont toutes deux conclu à un manque important de données pour évaluer le risque lié à l'utilisation du cuivre comme produit phytopharmaceutique sur les oiseaux, les mammifères, les organismes aquatiques, les abeilles, les arthropodes terrestres, les vers de terres et les autres organismes du sol. En dépit de ce manque de connaissances scientifiques, il a néanmoins été statué que toutes les utilisations significatives du cuivre, c'est-à-dire en viticulture, arboriculture et maraîchage, représentent un haut risque pour les oiseaux, les mammifères, les organismes aquatiques et les organismes du sol, ces derniers représentant un domaine critique de préoccupation.**

2.3.3 Pourquoi évaluer l'impact écotoxicologique du cuivre sur les organismes du sol ?

La première destination du cuivre après son application sur les plantes est le sol. Dans le sol, il se concentre dans la couche superficielle (5 premiers centimètres) jusqu'à un labour qui va le répartir sur toute la profondeur de la couche travaillée (30 cm environ). Le cuivre étant fortement lié à la matière organique, il est très faiblement mobile et les quantités disponibles dans la solution du sol sont faibles. De fortes teneurs en cuivre peuvent néanmoins avoir des conséquences sur le compartiment biologique du sol. L'altération de la qualité biologique du sol se traduit par la remise en cause des services rendus par les sols et donc des productions agricoles et viticoles qui en dépendent.
La contamination des eaux de surface par les eaux de ruissellement et de drainage n'est pas considérée comme une voie de contamination importante. Cependant un transfert de cuivre associé à un mouvement de matériaux solides, à l'érosion et au transport particulaire par ruissellement peut être une voie d'entrée importante du cuivre vers les eaux de surface. En effet, bien que ne se dégradant pas, le cuivre complexé à de nombreuses particules minérales et organiques ou sous forme de sels solubles peut se retrouver dans les systèmes aquatiques de surface. Il n'est pas possible de quantifier précisément ces transferts. Une transformation photochimique dans l'air ou un transfert du cuivre vers l'air depuis la surface des plantes ou du sol sont très peu probables (source ANSES, Autorisation de mise sur le marché 2007).
Ainsi, la faible mobilité du cuivre limite fortement son transfert dans d'autres milieux que le sol, faisant des organismes du sol les principales cibles concernées par une contamination, et des organismes aquatiques et aériens des cibles secondaires.

2.3.4 La qualité biologique des sols

La biodiversité des sols

Les sols représentent un des plus gros réservoirs de biodiversité en abritant plus de 25% des espèces animales et végétales connues mais également une diversité microbienne 4 fois plus élevée que dans les autres milieux (Thompson et al., 2017). La diversité biologique

des sols englobe la macro-faune telle que les larves d'insectes, les araignées, les myriapodes et les vers de terre ; la méso-faune qui comprend les collemboles et les acariens ; la micro-faune principalement représentée par les nématodes ; et les microorganismes avec les bactéries, les archées et les champignons (Figure 11). Les microorganismes sont les plus nombreux avec une abondance de 10 000 milliards d'individus/m^3 de sol pour seulement un millier d'organismes visibles à l'œil nu.

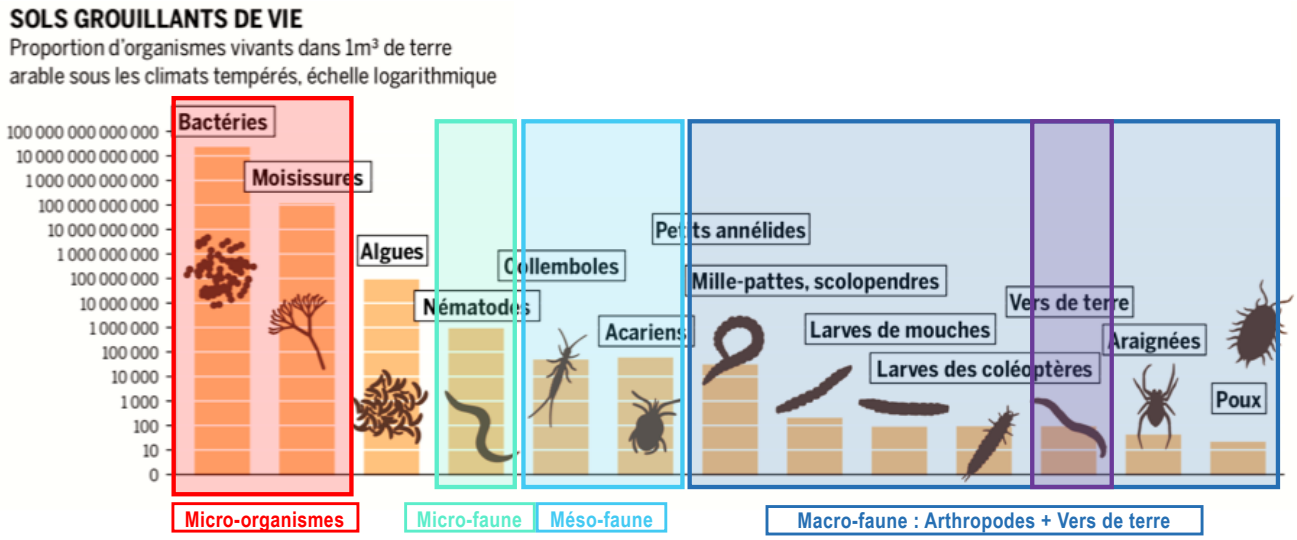


Figure 11 : Abondance des organismes vivants dans le sol (source : modifié à partir de Atlas du sol 2016).

Toute cette biodiversité contribue à la qualité du sol en participant aux fonctions écologiques comme la dégradation de la matière organique, la structuration physique du sol, la régulation des ressources, la dégradation des contaminants et la barrière aux pathogènes et aux populations invasives. Les différents groupes biologiques sont catégorisés selon leur rôle écologique :

- Les ingénieurs physiques, comme les vers de terre et certains insectes, sont les architectes de la structure du sol et régulent la répartition spatiale des ressources (matières organiques, eau) le long du profil de sol ;
- Les régulateurs comme les nématodes, les collemboles et les acariens sont au cœur du réseau trophique du sol et contrôlent la dynamique des populations microbiennes ;
- Enfin, les décomposeurs ou ingénieurs chimiques, c'est-à-dire les microorganismes, transforment la matière organique en éléments nutritifs facilement assimilables par les plantes.

Relation entre patrimoine biologique et questionnements agricoles

Cet exceptionnel patrimoine biologique est essentiel au bon fonctionnement du sol qui sera ainsi capable de rendre des services profitables aux productions agricoles et viticoles (Figure 12). Les services et fonctions d'importance dans les systèmes viticoles sont :

- La fertilité physique, chimique, biologique : un sol structuré, équilibré en nutriments et avec un niveau optimal de diversité biologique aura une meilleure portance pour la culture et fournira les réserves et les conditions favorables à une production végétale quantitative et qualitative.

- La protection des cultures : la diversité microbiologique d'un sol constitue une barrière contre les pathogènes et la faune du sol est une source de candidats pour une lutte biologique contre les bioagresseurs.
- La régulation du cycle de l'eau et de l'érosion : les macro-agrégats (sous l'action des vers de terre) et les micro-agrégats (modelés par les microorganismes) créent un réseau de circulation des flux hydriques et atmosphériques, stabilisent la structure du sol et réduisent ainsi les risques d'érosion.
- La décontamination : les microorganismes du sol ont la capacité de dégrader un grand nombre de polluants métalliques, organiques et inorganiques (par ex. les pesticides), et ainsi à mitiger la contamination des sols et des eaux.
- Le patrimoine génétique : la diversité génétique est l'assurance d'un large panel de fonctions potentielles des sols. Elle lui confère une résistance et une capacité de résilience face aux perturbations. Elle est également une source d'innovation technologique potentielle.

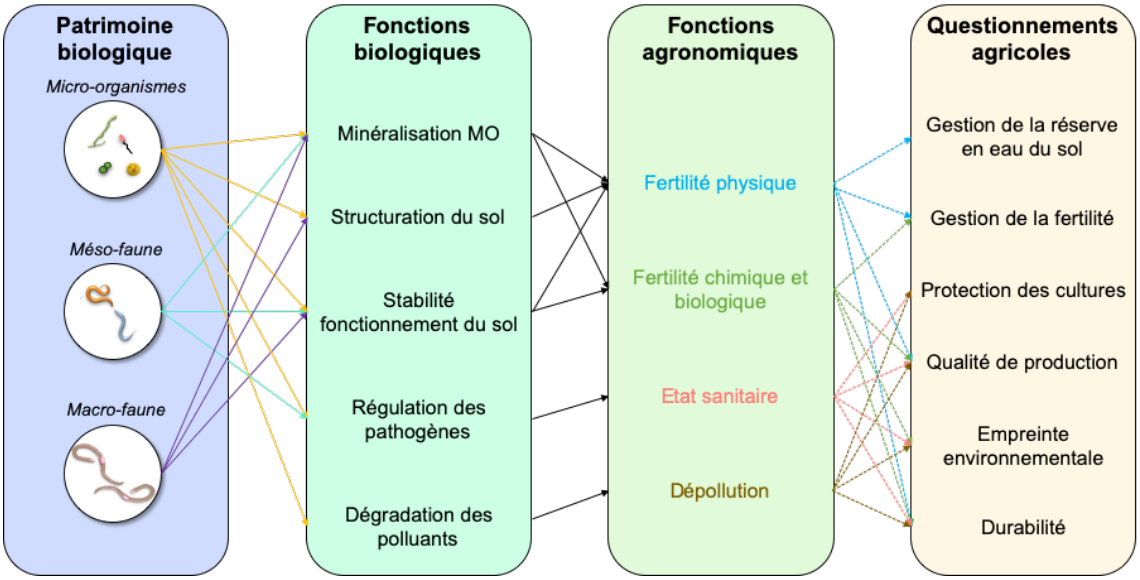


Figure 12 : Relation entre le patrimoine biologique du sol, ses fonctions biologiques et agronomiques et les questionnements agricoles (Ranjard, 2015).

Définition de la qualité biologique d'un sol

La qualité biologique d'un sol se définit donc par sa capacité à héberger une grande quantité (abondance) et diversité d'organismes vivants. Cette vision opérationnelle de la biodiversité d'un sol est reliée au fait que plus il y a de biodiversité dans un sol plus il est capable de remplir des grandes fonctions biologiques qui peuvent être traduites en fonctions agronomiques qui elles-mêmes sont à la base des grandes problématiques agricoles (Karimi et al., 2020).

Porter atteinte à cette qualité biologique signifie altérer le bon fonctionnement de l'agroécosystème. Il est donc crucial d'établir clairement l'impact du cuivre sur la qualité biologique des sols viticoles afin d'orienter les futures pratiques phytosanitaires le plus pertinemment possible dans une démarche de durabilité environnementale et des productions viticoles.

Quelles mesures pour évaluer la qualité biologique des sols

Les différents groupes biologiques constituant la biodiversité du sol peuvent être caractérisés par des paramètres variés, renseignant soit le patrimoine biologique, soit le fonctionnement du sol, soit son état sanitaire (Figure 13).

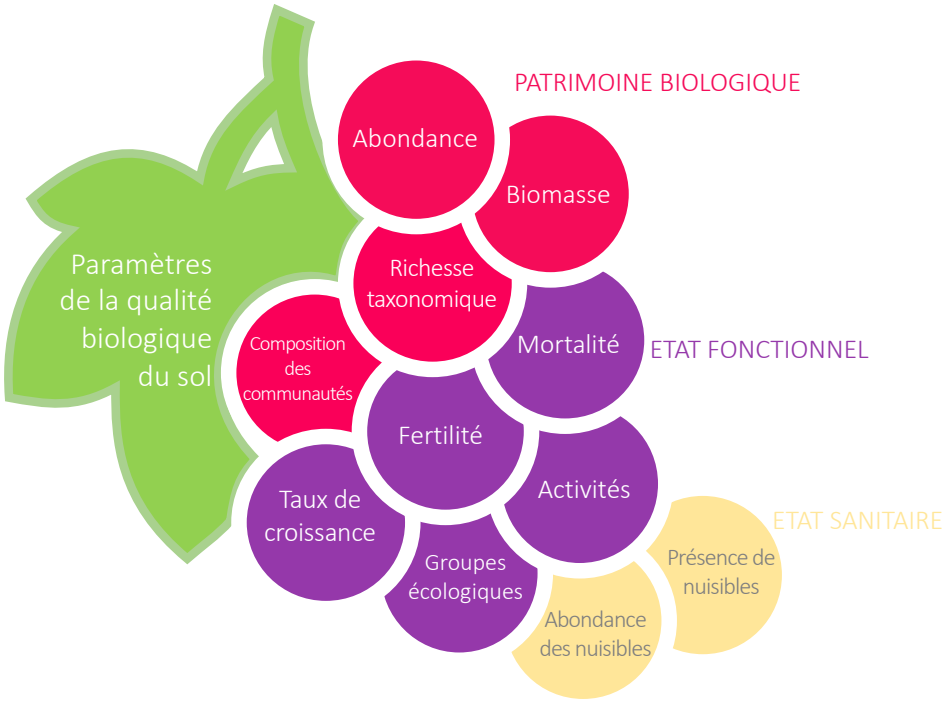


Figure 13 : Ensemble des paramètres biologiques permettant d'évaluer l'impact écotoxicologique du cuivre sur la qualité biologique des sols viticoles

Des mesures d'abondance, de biomasse, de diversité (en termes de nombre d'espèces présentes, aussi appelé richesse taxonomique) et de composition des communautés (quelles sont les espèces présentes et leur abondance relative) rendent compte de l'état du patrimoine biologique. Le fonctionnement biologique du sol est estimé grâce à des mesures de dynamique des populations telles que la mortalité, la fertilité et le taux de croissance d'une part, par des mesures directes d'activités (respiration, métabolisme enzymatique, comportement) ou par l'abondance de certains groupes écologiques (les mycorhizes chez les champignons par exemple, les anéciques / endogés / épigés chez les vers de terre, les bactérivores / fongivores / herbivores / omnivores / prédateurs chez les nématodes, etc.). Enfin, la présence et l'abondance des espèces nuisibles à la culture dans le sol traduit l'état sanitaire du sol. Par exemple, le mildiou de la vigne est une maladie causée par *Plasmopora viticola*, un oomycète (faux champignon) pathogène qui se maintient en hiver sous une forme de résistance, les oospores, à la surface des feuilles malades tombées au sol. Le black-rot est une maladie causée par *Guignardia bidwellii*, un champignon qui se conserve sous forme de périthèces sur les baies malades tombées au sol. Enfin la verticilliose est une maladie cryptogamique de la vigne dont le champignon pathogène responsable, *Verticillium dahliae*, vit dans le sol sous la forme de mycélium compact appelé microsclérote et contamine la plante en pénétrant par les racines lorsque les conditions climatiques sont favorables.

3. Éléments de méthodologie

3.1 La littérature scientifique académique

Des informations sur les impacts écotoxicologiques du cuivre sur la biodiversité des sols viticoles sont susceptibles d'être diffusées dans une large gamme de documents, que l'on peut classer en 2 catégories (Figure 14) :

- La littérature grise qui consiste en tout support de présentation des résultats produits par diverses instances (institut technique, chambre, revue technique, etc...) et n'ayant pas nécessairement fait l'objet d'une validation scientifique par des pairs. Elle englobe les rapports de stage, les compte-rendus d'essai, les conférences, les plaquettes d'information, les revues techniques, etc.
- La littérature scientifique académique internationale, c'est-à-dire les articles scientifiques publiés après un processus de validation par un comité de lecture internationale et disponibles sur le web *via* des moteurs de recherche dédiés.

Dans le présent rapport, nous nous concentrerons sur les informations provenant de la littérature scientifique académique internationale car contrairement à la littérature grise, elle respecte les conditions *sine qua none* pour un bilan scientifique, rigoureux et objectif :

- Les stratégies, dispositifs expérimentaux et méthodologies employés dans les études ont été vérifiés par des chercheurs indépendants experts dans le domaine,
- La robustesse des résultats exposés repose sur un nombre de répétitions nécessaire et suffisant et des tests statistiques adaptés,
- La sur-interprétation et le parti-pris sont contrôlés et prohibés lors de la publication dans les revues scientifiques dédiées.

La recherche a été effectuée sur *Web Of Science*, un des moteurs de recherche scientifique les plus exhaustifs à disposition avec 1,7 milliard de références issues de plus de 34000 revues. L'accès aux revues est soumis à un abonnement payant. Dans ce rapport, les références complètes des articles identifiés comme source d'information sont fournies.

3.2 Méthodologie de recherche et d'analyse

3.2.1 Les mots-clés

Etant donné la problématique posée, la combinaison de mots clés ayant servi à la recherche est :

Soil ET *copper*
ET (**bio** OU **diversity* OU **organism**)
ET (*vineyard** OU *viticultur** OU *vine** OU *grapevine**)

où « ET » indique que les mots doivent apparaître simultanément dans les résultats de la recherche, « OU » indique que l'un des termes au moins doit apparaître dans les résultats, et * indique que la recherche concerne tous les mots contenant la suite de lettre donnée associée à un préfixe si * est situé avant et/ou associée à un suffixe si * est situé après (ex. :

bio incluera *biodiversity*, *biology* et *microbiology*, mais également *antibiotic* ou *biochar* ou *biofilm*).

Ainsi pour qu'un article apparaisse dans les résultats de notre recherche, la combinaison de mots-clés que nous avons choisie doit être présente dans les mots-clés de l'article proposés par les auteurs lors de la publication ou dans les mots-clés *Plus* qui correspondent aux mots fréquemment employés dans l'article. Il a été décidé de ne pas limiter la recherche en termes de date de publication, d'origine géographique, de groupes biologiques (la seule condition est qu'ils soient inféodés au sol), ni de méthodologie des dispositifs expérimentaux ou de mesures afin d'assurer l'exhaustivité de notre travail de synthèse.

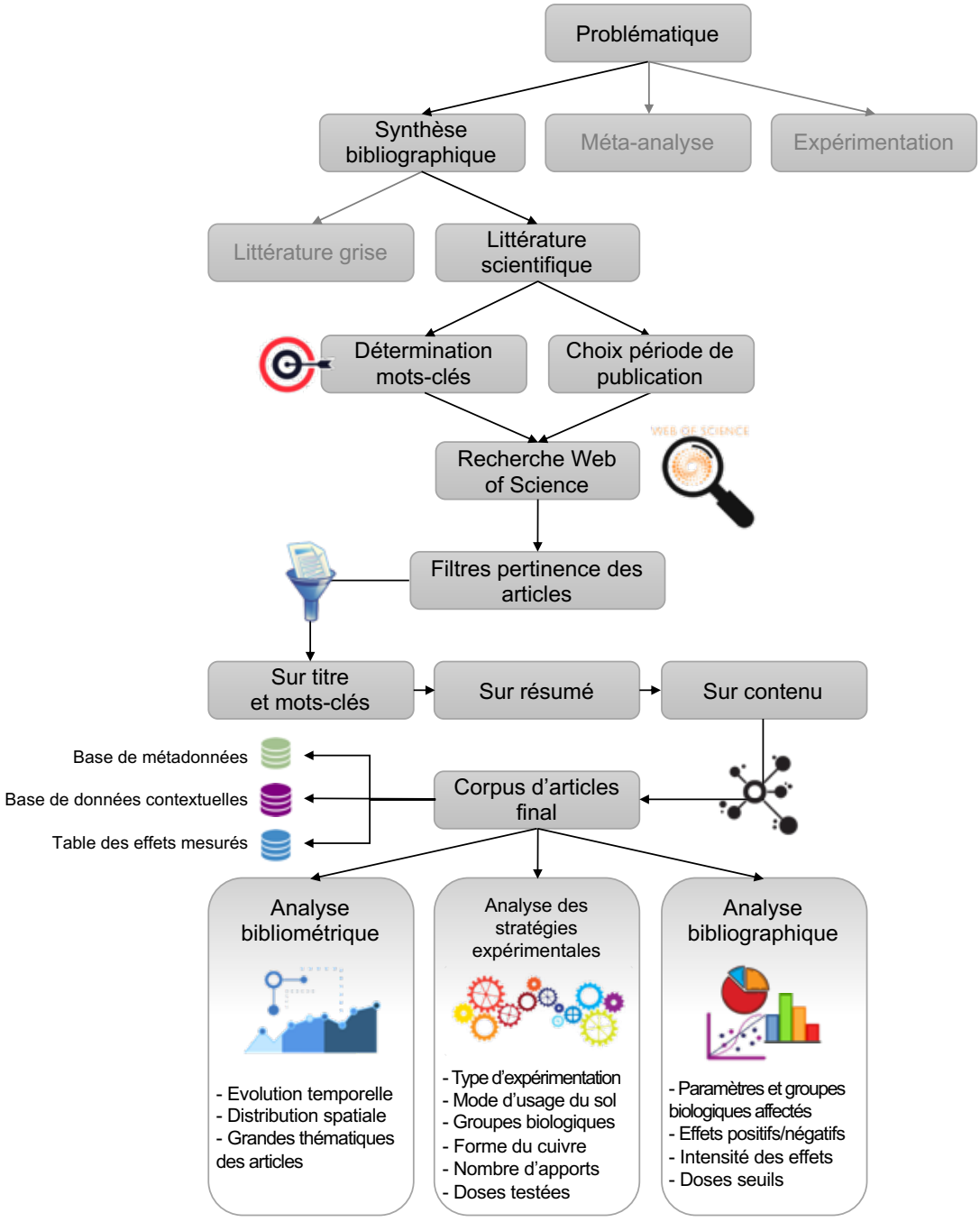


Figure 14 : Diagramme du processus de mise en œuvre de l'étude bibliographique.

3.2.2 Les étapes de filtre

L'identification des articles scientifiques apportant une réponse pertinente à la problématique a nécessité plusieurs étapes de filtre. Alors que les premières étapes demandent peu de temps et permettent un nettoyage rapide du corpus d'articles, les dernières consomment beaucoup de temps. C'est pour cela que l'épuration du corpus nécessite plusieurs étapes (Figure 14) :

- Analyse des mots-clés et du titre
- Analyse du résumé de l'article
- Le contenu de l'article présente-t-il des données originales ?
- Ces données sont-elles en adéquation avec la problématique ?

Les articles conservés dans le corpus final sont enregistrés dans une base de métadonnées référençant la provenance de l'article, les auteurs, la date de publication et les informations sur la revue scientifique source. Lors de la lecture des articles, une base de données est créée avec les informations contextuelles de chaque article : localisation, type de sol, type de stratégies expérimentales, dates de mise en place du dispositif et de mesures, nombre de sites et de répétitions, pratiques de routine, modalités testées, groupes biologiques et paramètres mesurés. Associée à cette base, une table des effets est créée afin d'enregistrer les résultats extraits de chaque article. Cette table conserve les informations sur les groupes biologiques et les paramètres mesurés, la forme de cuivre utilisée, les doses de cuivre, la durée de l'expérience, mais surtout les effets mesurés par rapport au témoin (Figure 14).

3.2.3 Les étapes d'analyse

Le corpus d'articles est analysé selon 3 points de vue (Figure 14) :

- L'analyse bibliométrique : Elle pose un cadre spatio-temporel à l'étude et donne un aperçu de l'évolution de la problématique dans la recherche scientifique internationale.
- L'analyse des stratégies expérimentales : Elle se concentre sur les aspects méthodologiques des articles et fait le bilan des contextes dans lesquels les données ont été récoltées.
- L'analyse bibliographique : Elle consiste à faire la synthèse des effets observés dans la littérature d'un point de vue qualitatif (effets positifs ou négatifs, type de paramètres biologiques affectés, groupes biologiques sensibles) et quantitatif (intensité des effets, doses à partir desquelles l'impact est statistiquement significatif).

Ces différentes analyses permettent également d'identifier les thématiques les plus abordées et celles orphelines qui souffrent d'un manque d'intérêt de la part de la communauté scientifique. Il est possible d'évaluer la généricité des résultats issus de la littérature selon le nombre d'articles qui traitent de la thématique mais également selon le nombre de sites d'étude (ou parcelles) sur lequel reposent les articles (Karimi et al., 2020).

4. Résultats : Analyse bibliométrique

En date du mois de juin 2020, une recherche systématique globale sur *Web of Science* rapporte un total de 8282 articles contenant les mots-clés {*cuivre* ET *sol* ET (**bio** OU **diversité* OU **organisme**)}. Parmi eux, 908 contiennent les mots-clés rattachés au contexte agricole (*agric** OU *ferme* OU *arable* OU *verger** OU *vignoble** OU *vitic** OU *vigne**) en contexte agricole et seulement 234 sont rattachés au contexte viticole. Dans la suite de l'analyse, nous nous focaliserons sur ces 234 articles.

La Figure 15 montre que ces combinaisons de mots clés apparaissent dans la littérature scientifique académique à partir des années 90. Les premières publications rattachées à un contexte agricole datent des années 2000. Même si le nombre de publications est en augmentation constante depuis 2015, il reste relativement faible (moins d'une centaine d'articles par an), particulièrement en contexte viticole. Cela suggère que malgré un intérêt croissant de la communauté scientifique pour cette problématique, il n'y a pas pour l'heure une production intensive de données et de connaissances sur l'impact écotoxicologique du cuivre sur les sols.

Les 234 articles rattachés au contexte viticole sont originaires de 26 pays différents, distribués sur les 6 continents (Europe, Asie, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Afrique, Océanie). Cependant 2/3 des articles sont produits par des chercheurs de 5 pays uniquement : Brésil, France, Espagne, Italie et Chine.

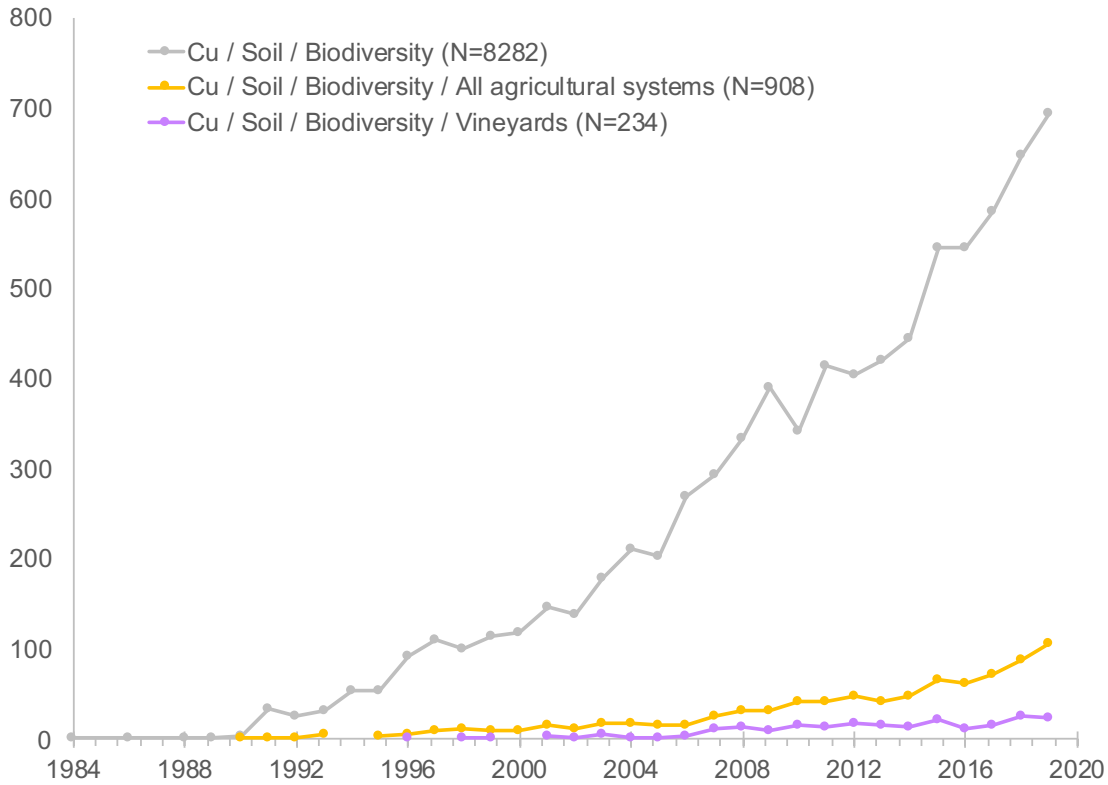


Figure 15 : Évolution du nombre de publications en lien avec le cuivre, le sol et la biodiversité depuis les années 80' (source : Web of Science 2020)

Le bilan des grandes thématiques abordées porte uniquement sur 152 des 234 articles car 82 n'abordent pas directement la question du cuivre mais les polluants ou les éléments traces métalliques de façon générale. Sur les 152 articles conservés, 5 grandes thématiques sont traitées :

- L'écotoxicologie du cuivre (72 articles) : dose, effet historique d'usage du sol, forme, interaction avec d'autres pratiques
- La biogéochimie du cuivre (40 articles) : distribution, accumulation, fractionnement, spéciation
- La disponibilité du cuivre (47 articles) : disponibilité, biodisponibilité, bioaccumulation, transfert
- La remédiation du cuivre (26 articles) : immobilisation, phyto-extraction, phyto-stabilisation, bioréduction, biosorption
- Les alternatives au cuivre (3 articles)

Les 72 articles traitant de l'écotoxicologie du cuivre s'intéressent à l'impact sur différents organismes :

- Les organismes du sol (48 articles)
- Les plantes (23 articles) : vignes jeunes ou âgées, autres cultures, herbacées
- Autres organismes : gastéropodes, arthropodes aériens.

Finalement seuls 48 articles concernent l'écotoxicologie des organismes du sol, soit 20% des 234 articles issus de la recherche systématique. La majorité de ces articles a été publiée après 2005 (Figure 16), à raison de 3 articles par an en moyenne (minimum de 1 article, maximum de 7 articles). Il faut noter que 70% des articles sont parus au cours de ces 10 dernières années, or le dernier avis de l'EFSA repose sur la littérature et les données de confirmation (expérimentations menées à la demande du comité d'évaluation) disponibles en 2014 (EFSA, 2013, 2018).

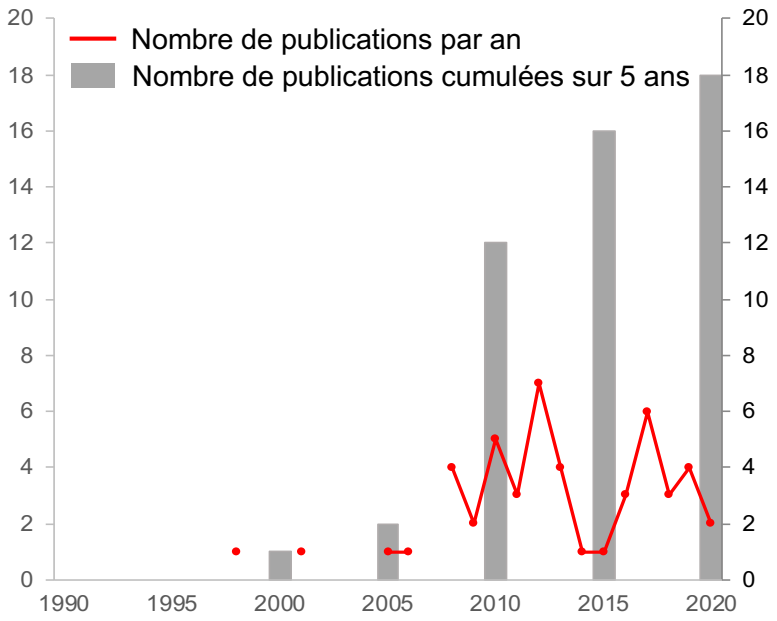


Figure 16 : Évolution du nombre d'articles traitant de l'écotoxicologie du cuivre sur les organismes du sol chaque année (courbe rouge, nombre total d'articles = 48). Les barres grises représentent le nombre d'articles cumulé par période de cinq ans.

Environ 60% de ces articles ont été produits par des équipes de recherche françaises, espagnoles, italiennes et chinoises (Figure 17). Cela concorde avec l'historique viticole très ancien de l'Italie, de la France et de l'Espagne et leur position en tête du classement des pays producteurs de vin au monde (OIV, 2019). En effet, l'utilisation du cuivre depuis la fin du XIXème siècle a pour conséquence une accumulation du métal dans les sols, ce qui constitue une situation critique pour le patrimoine biologique des sols. La question de l'écotoxicologie du cuivre est donc plus prégnante au sein des laboratoires de recherche dans ces pays.

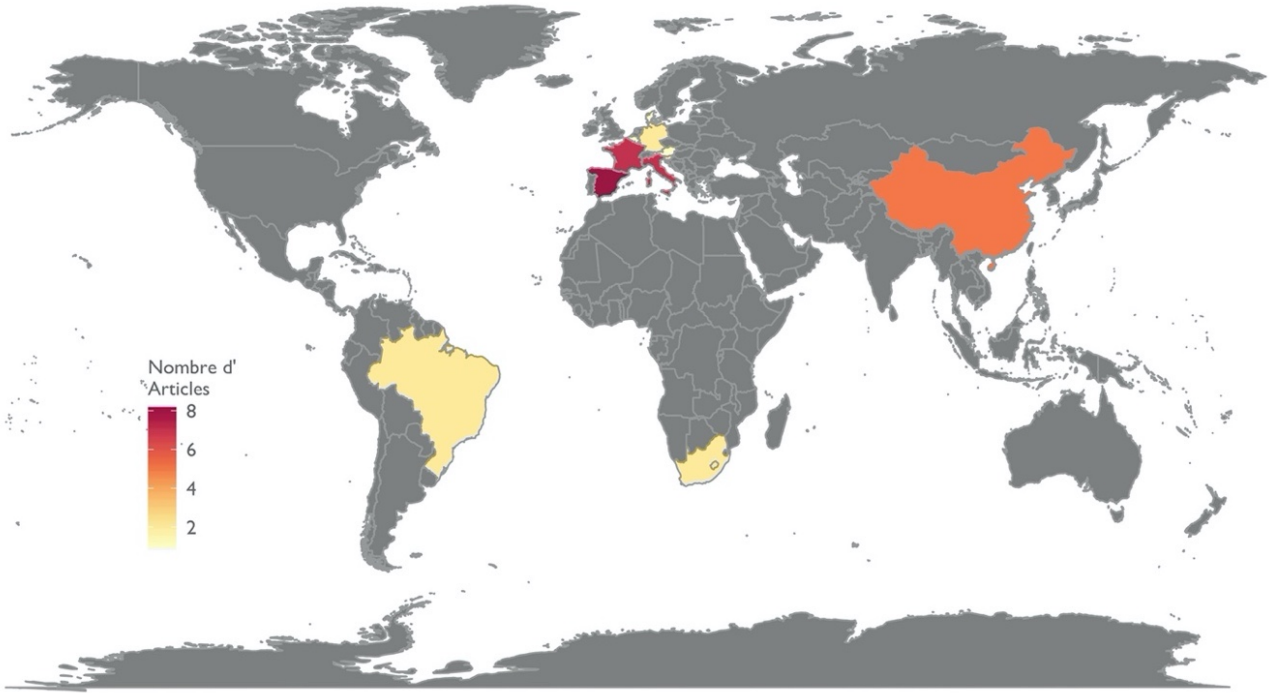


Figure 17 : Origine géographique des 48 articles renseignant l'effet écotoxicologique du cuivre sur la biodiversité du sol en contexte agro-viticole (2000-2020).

Globalement, sur les 48 articles réunis, la plupart date des 10 dernières années et vient d'un des 3 pays historiquement viticoles : l'Italie, la France et l'Espagne. Ces pays sont les principaux producteurs de vin mais sont également fortement concernés par l'accumulation de cuivre dans leurs sols. La question de l'utilisation du cuivre en viticulture représente donc un enjeu majeur pour eux.

5. Résultats : Analyse des stratégies expérimentales des études

La lecture de la section « Méthodologie » des 48 articles a permis de faire un bilan des stratégies expérimentales employées par les chercheurs pour étudier l'impact écotoxicologique du cuivre sur les organismes du sol. Douze des 48 articles ont dû être écartés pour les raisons suivantes :

- Pas de données en lien avec la biodiversité du sol
- Pas de données en lien avec le cuivre
- Pas de données, article d'idées
- Données trop élaborées, pas de données brutes
- Peu d'information sur le design expérimental
- Résultats déjà présentés dans un autre article

Sur les 36 articles restant, 25 traitent réellement de sols viticoles (Figure 18). Bien qu'ils ne traitent pas de sols viticoles, les 11 autres articles sont apparus dans les résultats de la recherche bibliographique car les auteurs font référence à l'utilisation du cuivre pour le traitement des vignes dans les sections Introduction et/ou Discussions de l'article. Dans 9 de ces articles, les chercheurs travaillent sur des sols de grandes cultures, de vergers, de prairies (pâturées ou non) ou de jachères. Dans 3 d'entre eux, des sols « naturels » correspondant généralement à des sols forestiers sont étudiés ou utilisés comme situation « témoin sans contamination ». Dans une des études, un sol est artificiellement reconstitué afin de s'assurer de sa non-contamination. Enfin une dernière étude présente des résultats d'expérimentations menées sans aucune matrice sol.

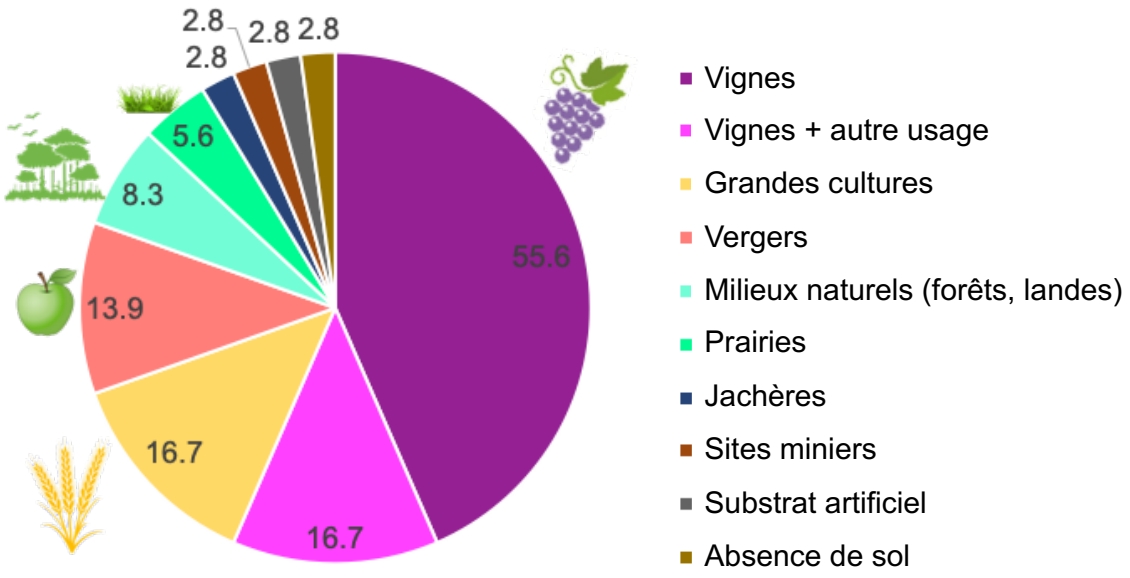


Figure 18 : Mode d'usage des sols étudiés dans les articles. La valeur indique la proportion (en %) d'articles utilisant des sols de chaque mode d'usage.

5.1 Types d'approches expérimentales en système viticole

Parmi les 25 études en contexte viticole, 18 sont des expérimentations de terrain, appelées « *in situ* », et 7 des expérimentations de laboratoire, appelées « en microcosmes » (Figure 19). Chaque approche présente des avantages et des inconvénients :

- *In situ*, les résultats représentent mieux l'hétérogénéité pédoclimatique et intègrent les conditions agronomiques et climatiques historiques et au moment de l'expérience. Parmi les expérimentations *in situ*, une seule a consisté à appliquer un traitement choisi sur des parcelles d'essai. Les autres ont eu pour objectif de mesurer l'impact du cuivre historiquement accumulé dans les sols sur la biodiversité. Cette approche terrain est adéquate pour mesurer des effets sur l'abondance, la diversité, la composition et l'activité des communautés néanmoins, elle rend plus complexe des mesures de mortalité, de reproduction ou de taux de croissance des populations.
- En microcosmes, il est plus facile d'évaluer l'effet dose car l'ensemble des conditions expérimentales sont contrôlées (un type de sol, pas de variations des autres pratiques viticoles, température et humidité régulées). En contrepartie, les résultats sont peu extrapolables à d'autres conditions que celles de l'expérience et ne disent rien de la sensibilité des organismes au terrain. Cette approche « labo » permet d'évaluer la réponse des organismes en termes de mortalité, de reproduction, d'activités et de taux de croissance. En revanche, la mesure des paramètres d'abondance, de diversité et de composition des communautés n'est possible que pour les microorganismes. Pour les macroorganismes (vers de terre, collemboles), l'expérience repose généralement sur le choix d'une espèce modèle, inoculée dans le sol à raison de quelques individus par unité expérimentale.

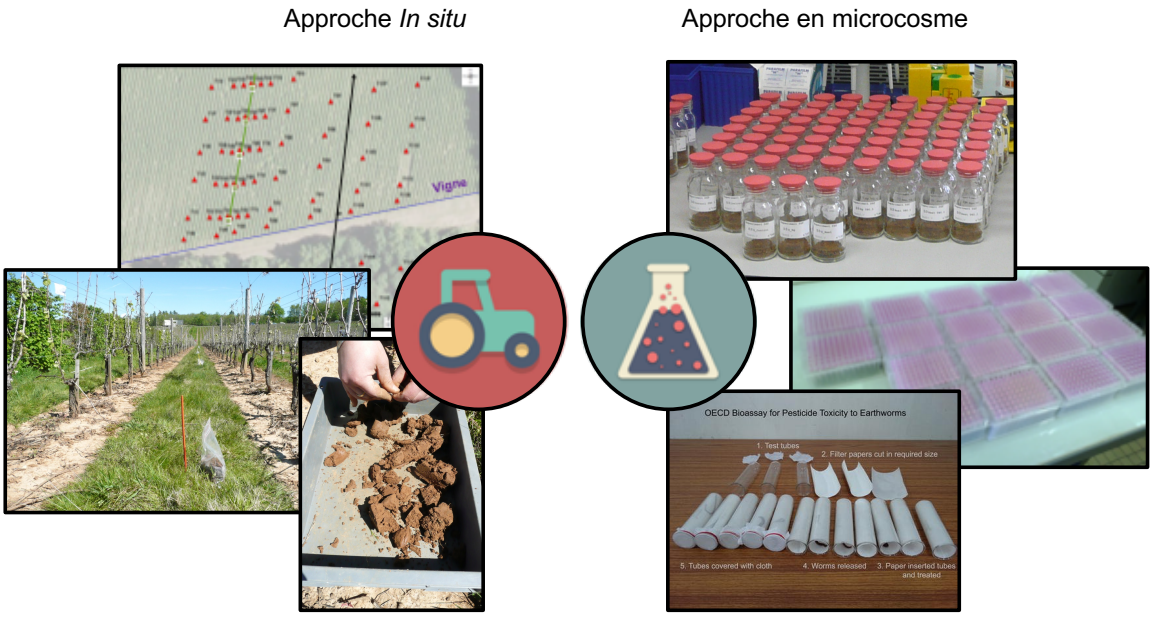


Figure 19 : Illustrations des deux types d'approches expérimentales utilisées pour étudier l'impact écotoxicologique du cuivre sur la biodiversité du sol : à gauche, l'approche terrain dite in situ ; à droite, l'approche en laboratoire dite en microcosmes.

5.2 Nombre de parcelles étudiées et généricité des résultats

Concernant le nombre de parcelles étudiées, trois types de stratégies ont été recensés :

- Pour les expérimentations en microcosmes, généralement le sol d'un ou deux sites est prélevé pour y appliquer le traitement en conditions contrôlées.
- Dans le cas d'essais contrôlés *in situ*, un nombre restreint de sites est choisi et le traitement est testé sur chaque site. Ce type d'essai est une solution appropriée pour valider et généraliser des résultats mais demande une mise en œuvre lourde, limitant rapidement le nombre de sites (souvent 1 seul).
- Les expérimentations *in situ* reposent parfois sur des réseaux de parcelles. Ce sont les dispositifs qui regroupent le plus grand nombre de sites (quelques dizaines). Les traitements ne sont pas contrôlés et dépendent entièrement des choix des viticulteurs exploitants. Les sites sont statistiquement agrégés selon les pratiques en vigueur, la teneur en cuivre dans le sol, ou la localisation. Même si ces réseaux fournissent les résultats les plus généralisables, peu d'articles reposent sur ce type de stratégie.

Il est possible d'identifier un gradient croissant de robustesse allant des parcelles en réseaux aux essais *in situ,* associé à un gradient de généricité inverse. Sur les 25 articles étudiés, plus de la moitié a été obtenue sur 1 ou 2 sites (Figure 20). 70% des articles reposent sur des dispositifs expérimentaux avec moins de 10 sites, impliquant que les résultats qui en sont issus dépendent du contexte d'étude. Huit articles, soit 30%, reposent sur des réseaux de 20 à 150 parcelles conférant aux résultats une bonne généricité.

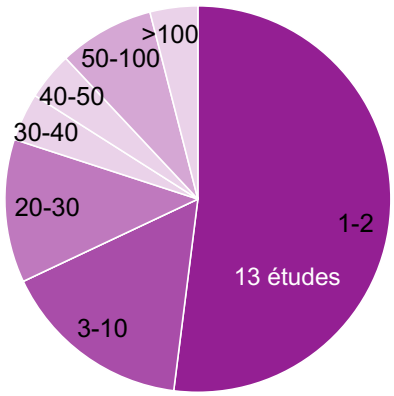


Figure 20 : Nombre de parcelles étudiées dans les 25 articles du corpus.

Étant donné la diversité des stratégies expérimentales présentées ci-dessus, une règle de décision a été instaurée pour évaluer le potentiel de généricité des résultats. Pour chaque combinaison traitement x paramètre biologique, le nombre d'articles présentant des résultats et le nombre total de parcelles sur lesquelles les expérimentations ont été menées ont été comptabilisés. La multiplication des 2 valeurs est utilisée comme une notation de la généricité. Trois classes de valeurs ont été fixées d'après une analyse fine des dispositifs présentés dans les articles :

- Une valeur inférieure ou égale à 10 indique des résultats non génériques. Cette valeur correspond à des résultats provenant d'un faible nombre d'articles qui sont eux-mêmes basés sur peu de parcelles expérimentales. Par exemple : 1 seule étude

avec 10 parcelles, 3 études avec 2, 3 et 5 parcelles ou encore à 10 études avec 1 seule parcelle chacune.

- Une valeur comprise entre 11 et 50 indique une généricité faible. Il s'agit souvent d'un seul article avec un petit réseau de parcelles échantillonnées.
- Une valeur supérieure à 50 correspond à une généricité forte. Ici, soit le résultat provient d'un seul article basé sur un réseau de parcelle important, soit le résultat repose sur plusieurs articles dont au moins un basé sur un réseau de parcelles.

5.3 Profondeur d'échantillonnage

Aucune des études passées en revue dans notre recherche et s'intéressant à la biologie du sol ne descend en dessous de 30 cm de profondeur. Cette couche est considérée comme la plus active biologiquement parlant et accueillant la plus grande partie de la biodiversité du sol. Sur les 25 articles, 40% s'intéressent à l'horizon 0-20 cm (Figure 21). Cette profondeur correspond à la profondeur de travail du sol pour une vigne en place. Cette profondeur d'investigation est pertinente car le cuivre, naturellement peu mobile dans le sol et s'accumulant dans les 5 à 10 premiers centimètres, est redistribué et dilué sur l'ensemble de la couche labourée. L'ensemble des organismes vivants sur cette profondeur de sol sont donc susceptibles d'être affectés par le cuivre. 20% des articles se concentrent sur les 5 ou 10 centimètres les plus superficiels, horizon d'accumulation du cuivre en l'absence de labour. Dans le cas d'expérience en microcosmes, sans traitement autre que l'application de cuivre, cette profondeur d'investigation est pertinente pour les microorganismes mais pas pour certains macroorganismes (vers de terre par exemple) qui sont mobiles dans toute la couche arable du sol. Dans ¼ des articles, la profondeur d'échantillonnage n'est pas précisée, induisant une incertitude dans l'interprétation des résultats.

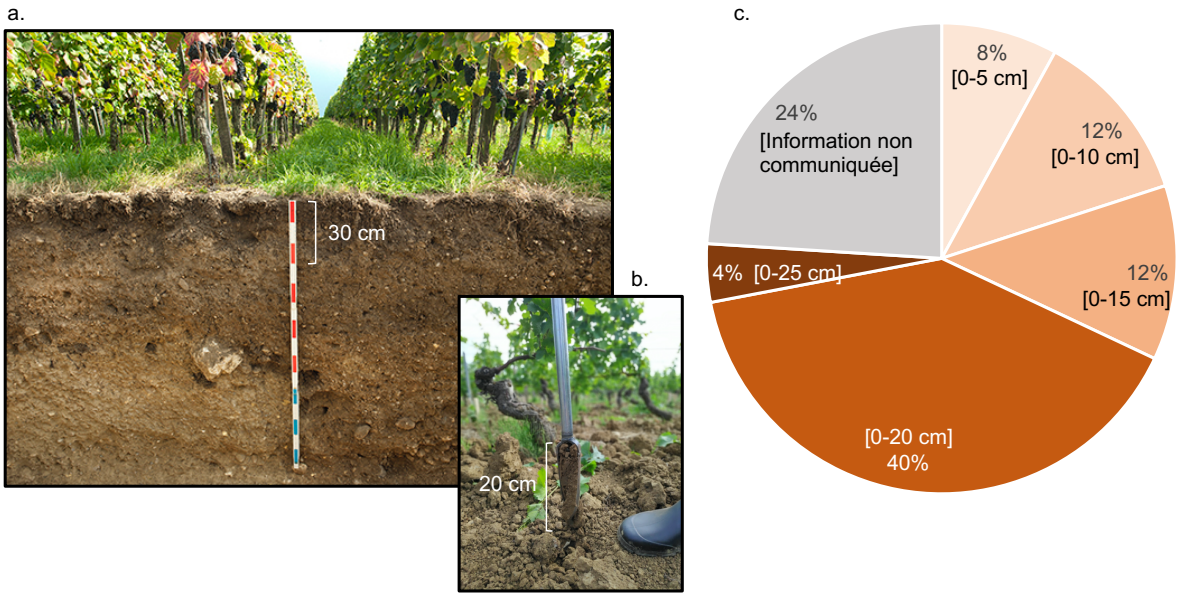


Figure 21 : Profondeur de sol échantillonnée et étudiée dans les articles mesurant l'impact écotoxicologique du cuivre sur la biodiversité du sol. a. Fosse pédologique présentant le profil de sol. Aucune étude ne descend en dessous de 30 cm. b. Prélèvement d'un échantillon de sol à la tarière sur une profondeur de 20 cm. La plupart des études se situe sur cette profondeur de sol. c. Le nombre d'études concernées par chaque profondeur est donné en proportion (%). L'information n'a pas été communiquée dans 6 des 25 articles.

5.4 Historique des parcelles

L'historique des parcelles concerne d'une part leur usage viticole et d'autre part leur conversion en production biologique. L'historique d'usage est renseigné dans 10 articles et les parcelles sont âgées de 1 à 77 ans. Cette thématique est plus particulièrement étudiée dans 1 article qui compare une parcelle de 2 ans à une de 25 ans (Viti et al., 2008). L'historique de conversion est renseigné dans 8 articles et varie entre 2 et 35 ans. L'effet de l'âge de conversion en agriculture biologique est investigué dans 4 articles :

- 2 articles comparent des parcelles en AB depuis 7, 11 et 17 ans.
- 1 article compare des parcelles en AB depuis 3, 10 et 35 ans.
- 1 article compare 16 parcelles en AB depuis 2 à 18 ans.

Globalement, peu d'informations sur l'historique des parcelles sont communiquées dans les articles, et 70% d'entre eux ne donnent aucun élément sur l'histoire de la parcelle. Étant donné le comportement d'accumulation du cuivre dans le sol, connaître l'histoire de la parcelle en termes d'usage viticole et de pratiques d'application de cuivre peut améliorer la compréhension de la réponse écotoxicologique observée des organismes (développement de tolérance au contaminant, sélection d'organismes résistants, changement des communautés, etc). Dans cette étude bibliographique, cette interprétation fine des résultats est donc fortement limitée.

5.5 Groupes biologiques et paramètres mesurés

En vignes, l'impact écotoxicologique du cuivre a été majoritairement étudié sur les microorganismes, soit dans leur ensemble (communauté microbienne totale), soit en ciblant les bactéries et/ou les champignons de façon distincte. Ainsi plus de 80% des résultats concernent les communautés microbiennes (Figure 22). Concernant la faune, les vers de terre (aussi appelés lombrics dans la suite de ce rapport) sont les organismes les plus investigués. Ces organismes sont connus pour être sensibles à de nombreux contaminants et à des perturbations environnementales variées et plusieurs espèces modèles de vers de terre sont utilisés en écotoxicologie (*Eisenia fetida*, *Eisenia andrei*, *Apporectodea caliginosa*, *Allolobophora chlorotica*). L'idée que les vers de terre sont particulièrement sensibles au cuivre est assez répandue mais encore insuffisamment étayée par des résultats scientifiques. Il est donc primordial de valider ou d'infirmer cette idée. Les nématodes ne sont étudiés que dans 2 études et les enchytrées sont représentés de façon marginale. Une grande partie de la biodiversité faunistique n'est pas représentée dans les travaux existants. Ainsi, l'impact écotoxicologique du cuivre sur les arthropodes et les microarthropodes (collemboles et acariens) des sols est une thématique totalement orpheline en contexte viticole malgré le rôle de ces organismes dans le fonctionnement biologique du sol.

Pour chaque groupe biologique, des paramètres standards ou des paramètres spécifiques sont mesurés. Les paramètres standards sont par exemple l'abondance et la biomasse, car ils sont mesurés pour la plupart des groupes biologiques. Les activités enzymatiques ou les groupes écologiques sont des paramètres spécifiques à un groupe d'organismes. Dans le Tableau 1, les paramètres standards sont présentés dans la première partie, puis les paramètres mesurés spécifiques à chaque groupe sont listés. Les

paramètres standards les plus renseignés sont **la biomasse, l'abondance et la composition des communautés**. La richesse taxonomique, le taux de croissance, la reproduction et la mortalité sont très ponctuellement mesurés pour un groupe biologique. Concernant les microorganismes, la respiration est la mesure de fonctionnement du sol la plus fréquente. De nombreuses activités enzymatiques en lien avec les cycles du carbone, de l'azote, du phosphore ou du soufre sont également mesurées en parallèle de mesures d'activité métabolique globale (Activité déshydrogénase, Activité protéase). Pour les nématodes et les vers de terre, les paramètres spécifiques concernent les groupes écologiques propres à chaque organisme. Les indices nématodes, au nombre de 7, sont des paramètres rendant compte du fonctionnement du sol.

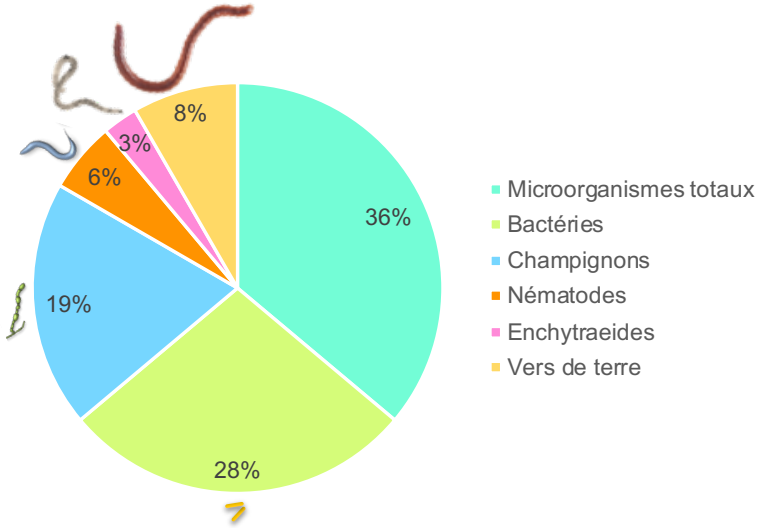


Figure 22 : Groupes biologiques pour lesquels l'impact écotoxicologique du cuivre a été étudié. Le nombre d'articles est exprimé en proportion (%) des 25 articles du corpus.

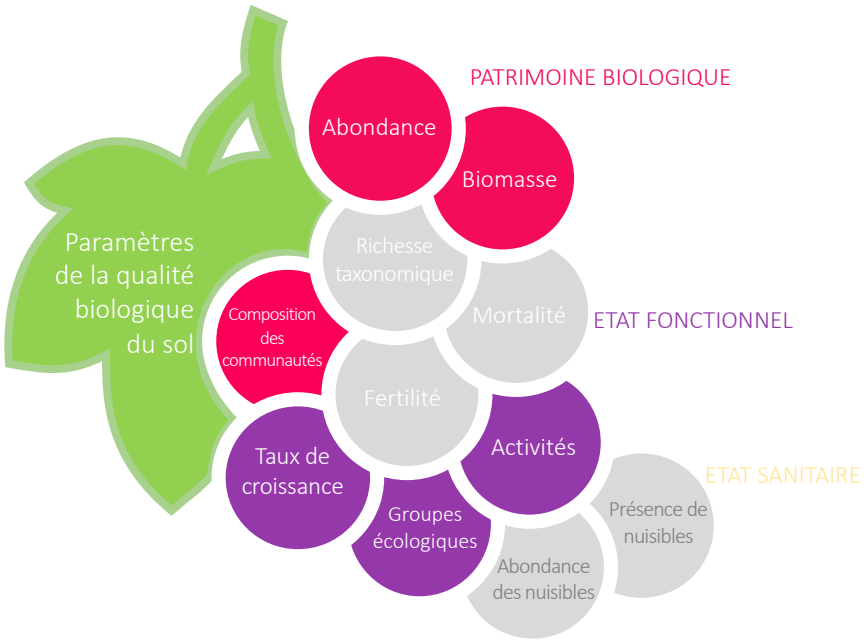


Figure 23 : Ensemble des paramètres biologiques permettant d'évaluer l'impact écotoxicologique du cuivre sur la qualité biologique des sols viticoles

Ce bilan des paramètres étudiés dans la littérature scientifique permet d'ores-et-déjà d'identifier certaines lacunes dans les données disponibles. La Figure 23 reprend la Figure 13 présentée en introduction de ce rapport et indique en couleur les paramètres effectivement étudiés et en gris ceux pour lesquels les données sont manquantes. Ainsi, nous pouvons déjà conclure que la littérature scientifique disponible ne permet pas de conclure quant à l'effet du cuivre sur le niveau de diversité biologique dans les communautés, sur la mortalité et la fertilité des différentes populations, ni sur l'état sanitaire des sols viticoles.

Tableau 1 : Liste des paramètres biologiques mesurés pour chaque groupe d'organismes. Les valeurs correspondent au nombre d'articles renseignant le paramètre.

Paramètres biologiques	Microorganismes	Bacteries	Champignons	Nématodes	Enchytréides	Vers de terre	Total
Abondance		2	3	2		4	11
Biomasse	6	6	2			5	19
Richesse taxonomique			1				1
Diversité de Shannon		1	1				2
Composition de communauté	1	2	2	1			6
Taux de croissance	1	1	1				3
Reproduction					1		1
Mortalité						1	1
Respiration	4						4
Consommation d'O_2	1						1
Activité Deshydrogenase	3						3
Activité Beta Glucosidase (cycle C)	3						3
Activité Invertase (cycle C)	1						1
Activité Xylanase (cycle C)	1						1
Activité Urease (cycle N)	4						4
Abondance bactéries nitrifiantes (cycle N)		1					1
Taux de nitrification potentiel (cycle N)	1						1
Activité Phosphomonoesterase acide (cycle P)	2						2
Activité Phosphomonoesterase alcaline (cycle P)	1						1
Activité Phosphatase (cycle P)	2						2
Activité Arylsulfatase (cycle S)	1						1
Activité Catechol-oxidase	1						1
Activité Protease	1						1
Activité métabolique globale	1						1
Diversité Fonctionnelle	1						1
Abondance des bactérivores				2			2
Abondance des fongivores				2			2
Abondance des herbivores				2			2
Abondance des omnivores et prédateurs				2			2
Indice de chaîne trophique				1			1
Ratio de chaîne trophique				1			1
Indice d'enrichissement				1			1
Indice de maturité				1			1
Indice Plante-Parasite				1			1
Indice de structure				1			1
Abondance des anéciques						2	2
Biomasse des anéciques						2	2
Abondance des endogés						2	2
Biomasse des endogés						2	2
Abondance des épigées						1	1
Biomasse des épigées						1	1
Activité d'enfouissement						1	1

5.6 Formes de cuivre appliquées

Les traitements phytopharmaceutiques à base de cuivre sont formulés à partir de différentes formes de cuivre ionique. Dans la plupart des études, le sulfate de cuivre est utilisé soit dans la bouillie bordelaise, soit dans une autre formulation (Figure 24). Le dichlorure et l'oxychlorure sont utilisés dans 3 études chacun et l'hydroxyde ou l'oxyde sont minoritaires. Seuls le sulfate de cuivre, l'oxyde cuivreux, l'hydroxyde de cuivre et l'oxychloride de cuivre sont autorisés en viticulture biologique car ils ont peu, voire pas, d'effets secondaires sur la plante.

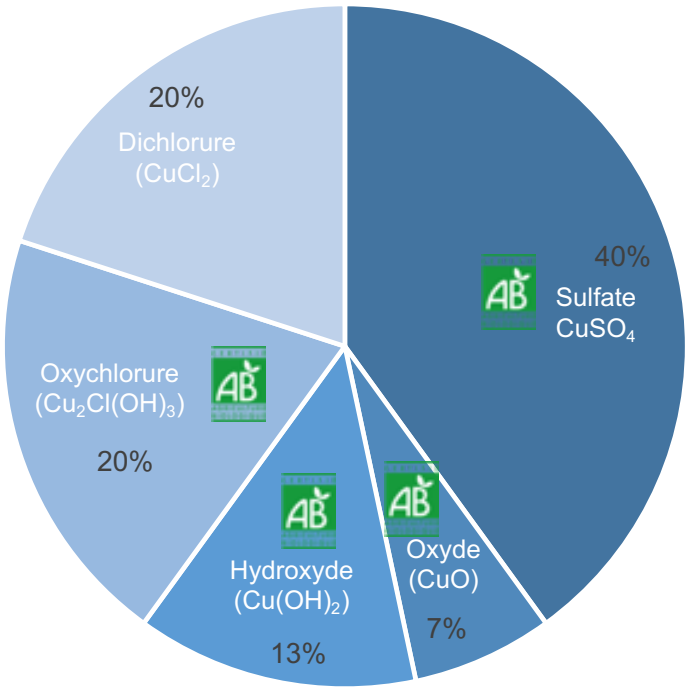


Figure 24 : Formes de cuivre utilisées dans les études scientifiques. Le logo AB indique les formes autorisées en viticulture biologique.

Il est fort probable que la forme de cuivre appliquée joue un rôle dans l'intensité de son effet sur les organismes du sol puisque selon sa forme, sa mobilité et sa biodisponibilité dans le sol peuvent varier. Une seule étude, très récente, s'intéresse à l'impact écotoxicologique du cuivre selon sa forme (Vazquez-Blanco et al., 2020) et compare l'utilisation du cuivre en sels (sulfate ou nitrate) et en formulation à base de sulfate, d'hydroxyde ou de dichlorure. Alors que les sels ont des effets 2 fois plus importants sur les communautés microbiennes que les fongicides commerciaux, la différence d'effet entre les 4 fongicides est très peu marquée sur les bactéries comme sur les champignons. L'effet des sels est attribuable à la forte acidification du sol en l'absence de solution tampon.

5.7 Fréquence d'application du cuivre

Aujourd'hui les viticulteurs privilégient un traitement antifongique en plusieurs passages au cours de la saison en appliquant de très petites doses à chaque fois. Cette méthode permet de lutter plus efficacement contre la maladie. En effet, le pathogène est

susceptible de recoloniser la plante hôte à chaque pluie, ce qui signifie que la vigne a besoin d'une protection durable dans le temps et non ponctuelle. Le nombre d'applications au cours de l'année varie donc selon le climat, selon la pression parasitaire et également selon les fongicides utilisés par le viticulteur. Il varie en général de 4 à 12 passages, avec des doses pouvant se limiter à 100 g/ha par apport.

Dans la littérature, **les expérimentations sont conduites avec un unique apport**, en début d'expérience, avec la dose totale de cuivre testée directement appliquée au sol. Cette différence implique que l'on mesure une réponse à une perturbation aigüe alors que la perturbation est chronique dans la réalité viticole. En écotoxicologie, il est largement reconnu que ces deux types de perturbations peuvent avoir des effets différents (Figure 25). Une exposition chronique, plus modérée mais répétée dans le temps, peut être un moteur d'adaptation et d'évolution des communautés biologiques et son impact est généralement tangible à moyen et long terme (Ranjard et al., 2006 ; Bressan et al., 2008 ; Karimi et al., 2016). L'exposition aigüe au contaminant, très intense et ponctuelle, a souvent un impact direct sans aucun temps de latence et laisse peu de place à l'adaptation. Les études basées sur un apport de cuivre mesurent l'effet d'une exposition aigüe alors que les études *in situ* évaluant l'impact du cuivre accumulé historiquement dans le sol mesurent l'effet d'une exposition chronique.

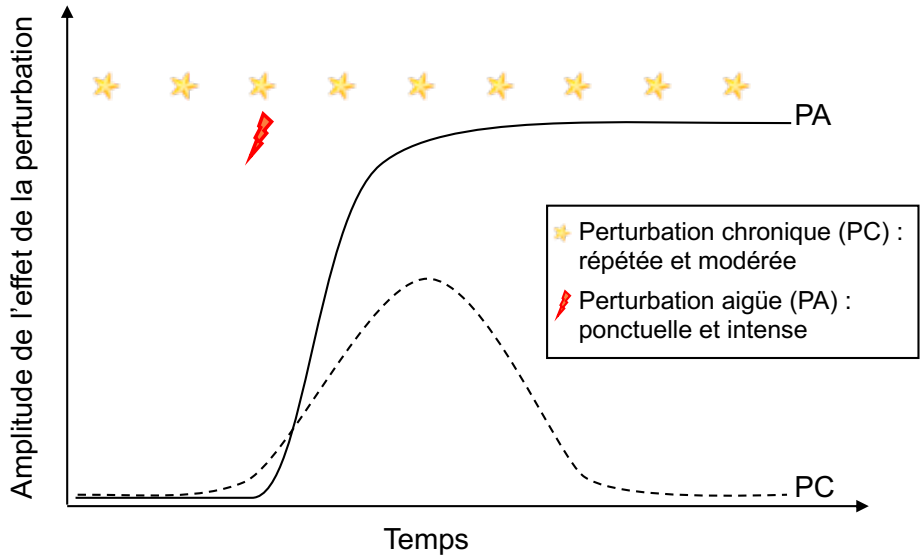


Figure 25 : Représentation de l'impact théorique d'une perturbation chronique et d'une perturbation aigüe sur les organismes vivants.

Il faut noter que, hors contexte viticole, de rares études s'attachent à ce critère. Une étude *in situ* a veillé à être en adéquation avec les pratiques réelles en apportant la dose totale testée en 8 fois sur une période de 2 mois (Ranjard et al., 2006). Une autre étude a comparé l'effet d'une exposition aigüe (1 seul apport) à celui d'une exposition chronique (6 apports au cours de l'année) en laboratoire. Les auteurs ont confirmé qu'une exposition chronique impacte moins l'activité microbienne, avec 35 à 40% d'activité supplémentaire par rapport à une exposition aigüe après un an (Liu et al., 2017).

5.8 Doses de cuivre testées

Rappelons que depuis 2006, les traitements phytopharmaceutiques à base de cuivre sont autorisés avec une dose annuelle limitée à 6 kg/ha. Les doses appliquées historiquement depuis son apparition à la fin du XIXème siècle n'ont jamais dépassé les 50 kg/ha/an d'après ce qui est rapporté. Ainsi il serait cohérent de trouver des études testant des doses inférieures ou égales à 50 kg/ha/an. La dose autorisée depuis 2019 étant de 4 kg/ha/an et les doses actuelles appliquées par les viticulteurs descendant en moyenne à 3 kg/ha/an, nous nous attendons même à trouver des études incluant ces doses, permettant ainsi de justifier les conclusions de la dernière évaluation des autorités sanitaires et la réglementation mise en œuvre.

La revue de la littérature en contexte viticole fait état de doses testées en microcosmes s'étalant de 60 à 2029 mgCu/kg de sol sec, soit des doses de 240 à 8120 kg/ha/an pour un sol d'une densité de 1.3 et d'une profondeur de 30 cm. Il faut également tenir compte du fait qu'en conditions réelles, la solution de cuivre est pulvérisée sur la vigne et ensuite lessivée au sol, impliquant que la quantité de cuivre entrant dans le sol ne correspond pas à la dose totale appliquée. En situation expérimentale en microcosmes, la dose totale est directement appliquée au sol.
La seule étude testant l'apport de cuivre au terrain utilise des doses de 14, 25, 47 et 84 kgCu/ha/an (Rodriguez-Salgado et al., 2017), néanmoins le cuivre étant apporté sous la forme de déchets issus du processus de vinification (perlite issue de la filtration ou bentonite issue de la clarification), les effets observés sur la biodiversité du sol ne peuvent pas être clairement imputés au cuivre. Cette étude est donc exclue de l'analyse.

Aucune des études publiées et analysées ici ne prend en compte les doses correspondant à la législation ni même à la réalité d'utilisation dans le monde agricole et viticole, posant alors la question de la justification scientifique et objective des seuils imposés.

5.9 Adéquation entre les études scientifiques et la question posée

Ce travail de synthèse vise à établir l'impact écotoxicologique du cuivre, ce qui revient à étudier l'effet de la dose de cuivre sur les organismes vivant dans le sol. Cette question peut être résolue soit en mesurant l'effet induit par l'apport de cuivre en doses variables sur les paramètres biologiques, soit en établissant la relation entre la teneur en cuivre des sols et les paramètres biologiques. Dans les deux cas, les études doivent faire la preuve directe de l'effet, sans facteur confondant, sur-interprétation, ni extrapolation, afin de déterminer clairement la dose seuil à partir de laquelle un effet délétère est statistiquement significatif. Pour cela, la question de l'effet de la dose ou de la teneur en cuivre doit être la question centrale de l'étude. Dans le corpus d'articles analysé, **un certain nombre d'études s'intéresse à une problématique intimement liée à celle qui est posée ici, mais n'apporte pas de preuve directe.**

Concernant l'effet dose apportée, 2 études sont des sources exploitables de données (Ruyters et al., 2013 ; Vazquez-Blanco et al., 2020). Six autres articles étudient des questions annexes :

- Effet du sol/du mode d'usage (Eijisackers et al., 2005) : l'impact d'un sol de vignes et d'un sol de prairie est mesuré sur une espèce de vers de terre inoculée.
- Effet du type d'amendement organique (Lejon et al., 2008 et 2010) : l'impact de plusieurs types d'amendement apportés en même temps que 250 mgCu/kg est mesuré sur les communautés microbiennes du sol.
- Caractérisation de souches bactériennes résistantes (Andreazza et al., 2012a) : à partir de sol rhizosphérique, 4 souches bactériennes tolérantes sont extraites et leur résistance est évaluée en milieu liquide.
- Facilitation de la biolixiviation (Andreazza et al., 2012b) : la stimulation de la lixiviation d'origine biologique est testée par ajout de $FeSO_4$ ou H_2SO_4. Elle est attribuée à un changement de composition de la communauté microbienne.
- Impact des produits de préservation du bois de construction (Lasota et al., 2019) : un traitement biocide à base de cuivre, triazole et composés ammoniacaux quaternaires, est appliqué sur du bois et les changements dans les communautés bactérienne et fongique à l'interface bois-sol sont évalués.

Ajoutés à cela, 2 articles reposant sur le même dispositif expérimental et étudiant l'effet dose sur la composition des communautés microbiennes du sol ont dû être exclus du fait d'incohérence dans les descriptions des protocoles et des doses testées (Fernandez-Calvino et al. 2011, 2012).

Concernant l'effet teneur dans le sol, 2 études apportent des réponses directes (Fernandez-Calvino et al., 2010a ; Soler-Rovira et al., 2013). En parallèle 4 études posent la question de l'effet historique des parcelles :

- Historique de conversion en Agriculture Biologique (Coll et al., 2011 et 2012 ; Likar et al., 2017) : ces trois études ne mesurent pas la teneur en cuivre des sols et ne permettent pas d'établir le lien direct entre le cuivre et l'état biologique du sol.
- Historique de plantation de la parcelle en vignes (Viti et al., 2008) : la teneur en cuivre des sols est mesurée mais l'étude ne compare que 2 sols viticoles (âgés de 2 et 25 ans) et inclut un sol forestier et un sol de verger.

D'autres études abordent de façon encore plus indirecte la question du cuivre dans les sols :

- Effet mode d'usage/type de culture (Paoletti et al., 1998 ; Ruyters et al., 2013 ; Cavani et al., 2016) : la situation en vignes est comparée d'autres usages (vergers, vignes abandonnées).
- Effet mode de production (Beni et Rossi, 2009 ; Van Geel et al., 2017) : des parcelles en gestion conventionnelle ou biologique sont comparées. Une des études s'intéresse également à l'âge de conversion en agriculture biologique. Les deux études établissent la relation entre état biologique du sol et mode de production et/ou âge des parcelles. Le lien direct avec le cuivre n'est pas montré.
- Effet pratiques (Zehetner et al., 2015) : 3 parcelles gérées différemment en termes de fertilisation, couverture du sol et traitements phytosanitaires sont comparées. Les différences ne sont pas directement imputables à l'utilisation du cuivre ou au cuivre accumulé dans les sols.
- Effet terroir (Fernandez-Calvino et al., 2010b) : 6 régions viticoles espagnoles et portugaises sont comparées. Les teneurs en cuivre des sols sont très variables au

sein de chaque région. Un effet terroir (type de sol, climat, géographie) est observé mais le lien direct entre cuivre du sol et état biologique n'est pas démontré.

- Variabilité intra-parcellaire (Dell'Amico et al., 2008 ; Mackie et al., 2013) : Alors que l'une compare 2 zones d'une même parcelle 20 ans après la cessation d'activité, une autre établit une cartographie complète de la parcelle après 17 ans de traitement au cuivre à raison de 3 kg/ha/an. Même si cette dernière étude est intéressante étant donné la dose apportée, elle n'inclut pas de témoin sans apport ou avec une dose plus élevée. Les résultats ne peuvent donc pas être relativisés.

Bilan de l'analyse des stratégies expérimentales

Cette analyse a mis en évidence que :

1 - Peu d'études existent en système viticole.

2 - Elles consistent soient en des expérimentations en microcosmes pour tester l'effet de doses de cuivre, soit en des mesures *in situ* pour évaluer l'effet des teneurs en cuivre des sols.

3 – Les expérimentations en microcosmes sont peu génériques car elles portent sur 1 ou 2 types de sol uniquement alors que les études *in situ* font preuve d'une bonne généricité car elles reposent sur des réseaux de parcelles.

4- Lorsque le cuivre du sol est mesuré, peu d'informations sur l'historique de la parcelle sont données. D'autre part, le cuivre est rarement mesuré quand l'étude s'intéresse à l'effet de l'historique de la parcelle.

5 - Généralement, la biodiversité est étudiée sur les 20 premiers centimètres, ce qui correspond à la couche arable.

6 - La biodiversité est majoritairement étudiée sous le prisme des microorganismes. La biomasse microbienne renseigne sur le patrimoine biologique du sol et les mesures de respiration et d'activités microbiennes évaluent l'état fonctionnel du sol. Aucune information sur l'impact du cuivre sur le niveau de diversité microbienne n'est disponible à ce jour. De même, aucune donnée n'existe concernant l'impact du cuivre sur les nématodes, les collemboles et les acariens, les vers de terre, et les arthropodes dans les sols viticoles.

7 – Et enfin, la littérature académique n'apporte aucune information pertinente sur l'effet écotoxicologique du cuivre dans les conditions actuelles d'utilisation en vignes (doses et fréquences d'application irréalistes, Figure 26).

A ce stade de l'analyse, il apparaît que très peu de travaux publiés dans la littérature internationale permettent d'apporter des éléments robustes pour répondre à la question posée et de constituer un socle de connaissances scientifiques indispensables à la justification des injonctions fixant la limitation voire la suppression de l'utilisation du cuivre. Il nous paraît toutefois essentiel de faire la synthèse de ces données de la littérature pour déterminer les doses à partir desquelles des effets ont été observés, les paramètres biologiques sensibles et l'intensité des effets induits par le cuivre. Cette synthèse concerne finalement 4 articles scientifiques qui répondent de façon pertinente à la question de l'impact écotoxicologique du cuivre sur la biodiversité des sols viticoles comme cela est présenté sur la Figure 27. Pour compléter les informations apportées par ces 4 articles, une recherche bibliographique élargie à tous les usages agricoles et ciblant

la faune du sol (nématodes, collemboles, vers de terre et arthropodes) a été menée. Nous avons également balayé la littérature pour tenter d'acquérir des données sur des doses inférieures à 400 kg/ha.

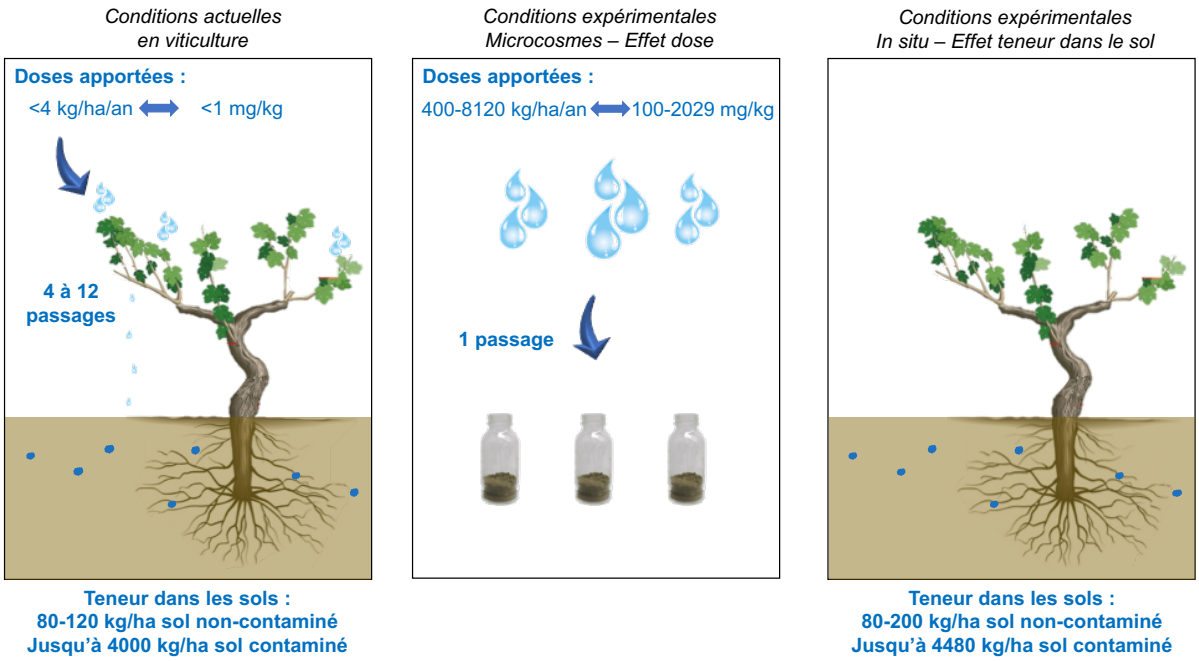


Figure 26 : Schéma récapitulatif des conditions actuelles d'utilisation du cuivre en viticulture et des conditions expérimentales étudiées dans la littérature scientifique.

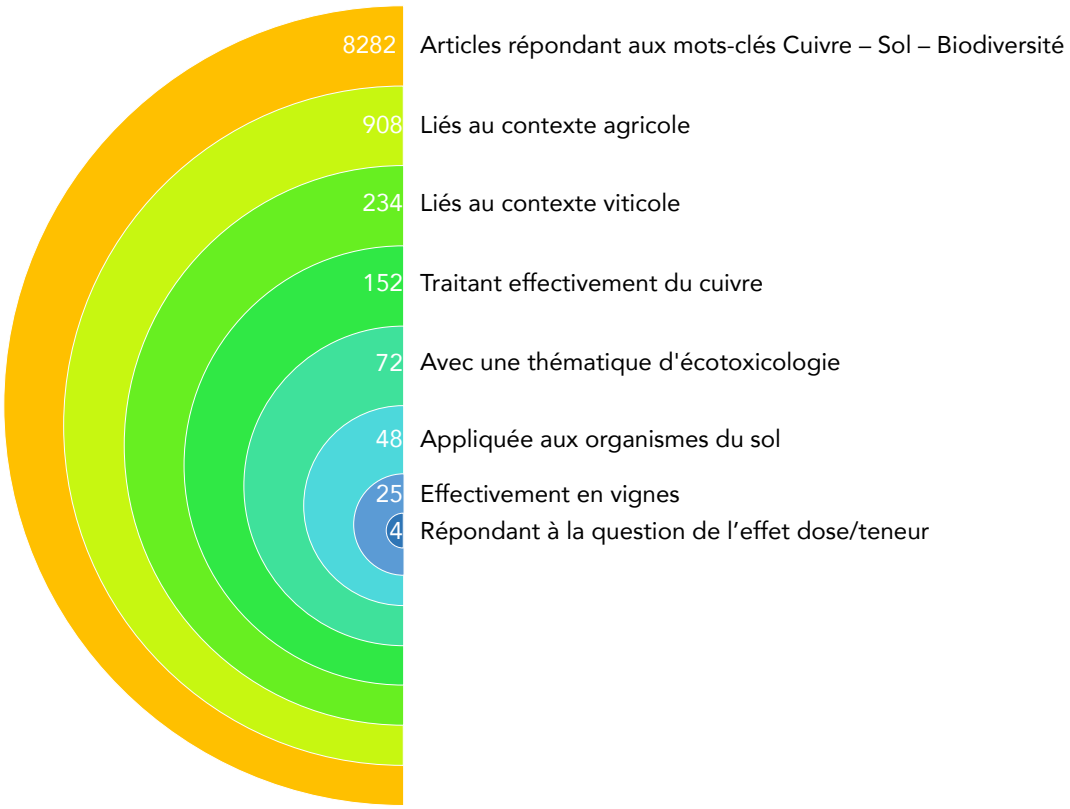


Figure 27 : Nombre d'articles conservés dans le corpus d'articles après chaque étape de filtre.

6. Impacts écotoxicologiques du cuivre sur les organismes du sol

6.1 Synthèse des connaissances en contexte viticole

6.1.1 Effet de la dose de cuivre apportée

Deux articles apportent des réponses sur l'impact écotoxicologique du cuivre. Les gammes de doses testées sont :

- 100 – 200 – 400 – 800 – 1600 mgCu/kg soit 400 – 800 – 1600 – 3200 – 6400 kgCu/ha (Ruyters et al., 2013)
- 2 – 4 – 8 – 16 – 32 mmolCu/kg équivalent à 127 – 254 – 507 – 1014 – 2028 mgCu/kg soit 508 – 1016 – 2028 – 4056 – 8112 kgCu/ha (Vasquez-Blanco et al., 2020).

Dans le 1er cas, le dispositif expérimental repose sur 6 sols prélevés en Europe (France, Italie, Allemagne) et mesure la sensibilité des communautés microbiennes en termes de taux de nitrification potentiel (selon le test ISO14238-1, 1997) et la sensibilité des enchytrées en termes de reproduction (selon le mode opératoire 220 de l'OCDE, 2004). Ici, la réponse des organismes est évaluée par l'EC50, la dose efficace médiane, c'est-à-dire la dose qui induit 50% de l'effet maximal observable (par ex. 50% de mortalité ou perte de 50% des espèces).
Dans le second cas, le dispositif étudie l'effet de 4 fongicides cupriques commerciaux différents (1 sulfate, 1 hydroxyde, 2 oxychlorures) sur les communautés microbiennes d'un seul sol, en termes de respiration et de taux de croissance bactérien et fongique.

Les effets observés sont les suivants (Figure 28) :

- La reproduction des enchytrées diminue de 50% pour des doses allant de 1896 à 2468 kgCu/ha en fonction des sols.
- Le taux de nitrification potentiel baisse de 50% à partir de 1096 kgCu/ha. Cependant dans certains types de sol, cette diminution n'est observée que pour 4156 kgCu/ha.
- La respiration microbienne baisse de 30% pour des doses de 508 à 8112 kgCu/ha. L'augmentation de la dose n'induit pas une augmentation de la réponse.
- Le taux de croissance des bactéries baisse de 50% pour la dose minimale testée de 508 kgCu/ha et décroît pour atteindre -86% pour la dose maximale de 8112 kgCu/ha.
- Le taux de croissance des champignons n'est pas affecté pour les plus petites doses testées (508 et 1016 kgCu/ha). Une réduction de 20% est observée pour une dose de 2028 kgCu/ha et elle s'accentue jusqu'à -45% pour la dose maximale de 8112 kgCu/ha.

Globalement, les effets surviennent à des doses extrêmement élevées, de 0.5 à 8 TCu/ha apportées en une seule fois, doses qui ne sont et n'ont jamais été appliquées en agriculture. Alors que la reproduction des enchytrées peut être diminuée de moitié pour ces fortes doses, leur mortalité n'a pas significativement augmentée. Concernant les microorganismes, seule leur activité a été étudiée, sous plusieurs aspects. L'évolution des taux de croissance indique que l'activité bactérienne est plus sensible que l'activité fongique. A l'échelle de la communauté microbienne globale, la respiration est moins affectée que la nitrification potentielle : l'activité liée au cycle du carbone est seulement ralentie de 30% et ce quelle que soit la dose de cuivre à partir de 508 kg/ha ; l'activité liée au cycle de l'azote diminue avec une augmentation de la dose de cuivre de 400 et 6400 kg/ha et peut atteindre - 90%. D'un point de vue écologique, ce résultat est cohérent avec la redondance fonctionnelle associée à chaque activité : presque tous les microorganismes ont une activité respiratoire en lien avec la dégradation de la matière organique alors que seules certaines populations sont fonctionnellement impliquées dans le cycle de l'azote.

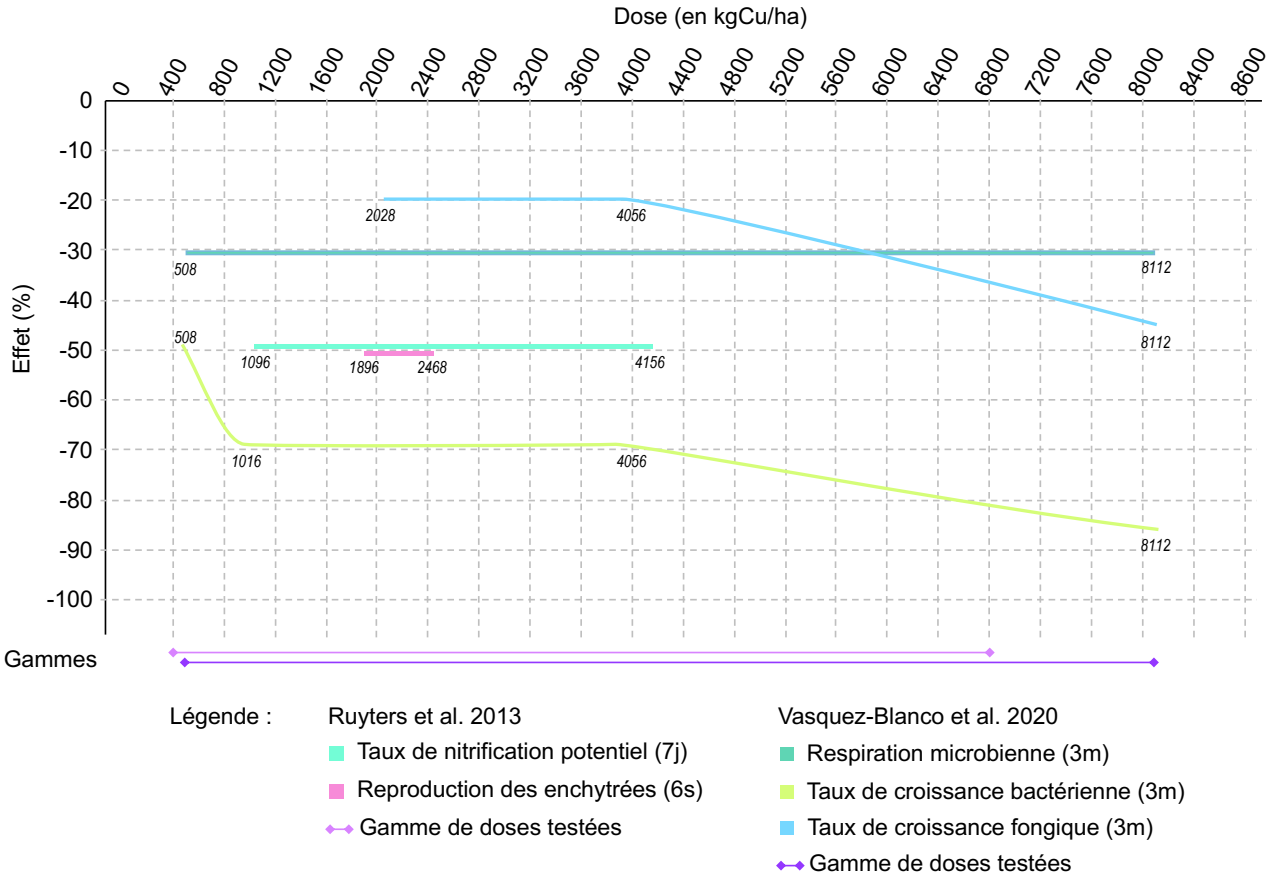


Figure 28 : Schéma récapitulatif des impacts écotoxicologiques dus à un apport de cuivre, observés dans la littérature scientifique. Les effets sont donnés en % du témoin sans apport de cuivre. Les doses de cuivre, apportées en une seule fois, sont en kg/ha. Dans la légende, les valeurs entre parenthèses indiquent la durée de l'expérience, entre l'application de la dose et la mesure de son effet ; m = mois, s=semaines, j=jours.

6.1.2 Effet de la teneur en cuivre dans le sol

Deux articles étudient l'effet de la teneur en cuivre du sol sur la biodiversité (Fernandez-Calvino et al., 2010a ; Soler-Rovira et al., 2013). Ils reposent sur le même réseau de parcelles viticoles distribuées dans 7 régions viticoles espagnoles et portugaises. Dans son intégralité, le réseau compte 170 parcelles : 36 à Monterrei, 24 à Rias Baixas, 18 à Ribeira Sacra, 25 à Ribeiro, 24 à Valdeorras, 25 à O Bierzo et 18 à Vinhos Verdez (Fernandez-Calvino et al., 2009). En 2010, l'étude a porté sur 145 parcelles, localisées dans 6 des régions, et pour lesquelles les activités enzymatiques intervenant dans les cycles du carbone, de l'azote et du phosphore ont été mesurées. En 2013, seules 95 parcelles ont été analysées en termes de respiration, de taux de croissance et d'activité métabolique microbienne globale. Ces 2 études donnent un bon aperçu de l'impact du cuivre accumulé dans les sols viticoles méditerranéens sur l'état fonctionnel microbiologique du sol. Les sols analysés, variés en termes de caractéristiques physico-chimiques, sont caractérisés par des teneurs en cuivre allant de 15 à 666 mgCu/kg soit 60 à 2664 kgCu/ha, correspondant également à la teneur en cuivre dans la grande majorité des sols viticoles de France. Les sols contenant moins de 200 kgCu/ha (soit 50 g/kg) sont considérés comme étant non-contaminés et sont utilisés comme situation de référence pour évaluer l'effet des teneurs supérieures. Six niveaux de contamination ont été établis afin de déterminer les seuils de contamination critiques concernant la qualité biologique des sols. Ces 6 niveaux correspondent aux catégories suivantes : 200-400 kgCu/ha < 400-600 kgCu/ha < 600-800 kgCu/ha < 800-1000 kgCu/ha < 1000-1200 kgCu/ha < 1200 kgCu/ha.

Les effets observés sont les suivants (Figure 29) :

- Le taux de croissance microbien n'est pas affecté par le cuivre contenu dans le sol.
- La respiration microbienne décroit de 40% dans les sols contenant 200 à 400 kgCu/ha. Cette diminution est relativement stable quand la teneur en cuivre augmente et atteint au maximum 58% pour des teneurs supérieures à 1200 kg/ha.
- L'activité métabolique de la communauté microbienne, évaluée par la méthode appelée « Respiration induite par substrat » (SIR pour *Substrate-Induced Respiration* en anglais), n'est pas sensible à des teneurs inférieures à 600 kgCu/ha. Au-delà, l'activité microbienne est réduite de 65 à 75%. Ceci est confirmé par l'activité déshydrogénase, une autre mesure de l'activité globale.
- L'activité beta-glucosidase, une enzyme impliquée dans la dégradation de la matière organique et le cycle du carbone, n'est pas sensible à la teneur en cuivre des sols, même pour les teneurs les plus élevées.
- L'activité uréase, enzyme impliquée dans le cycle de l'azote, répond de façon versatile à la teneur en cuivre du sol. Cette activité est réduite de 45 à 55% dans des sols contenant 200 à 400 kgCu/ha et 600 à 800 kgCu/ha. En revanche, dans les sols à plus fortes teneurs, l'activité uréase ne diffère pas de celle mesurée dans les sols de référence.
- L'activité phosphatase, enzyme impliquée dans le cycle du phosphore, est uniquement sensible aux teneurs supérieures à 600 kgCu/ha. L'activité phosphatase est réduite de 48% au maximum dans les sols les plus contaminés.

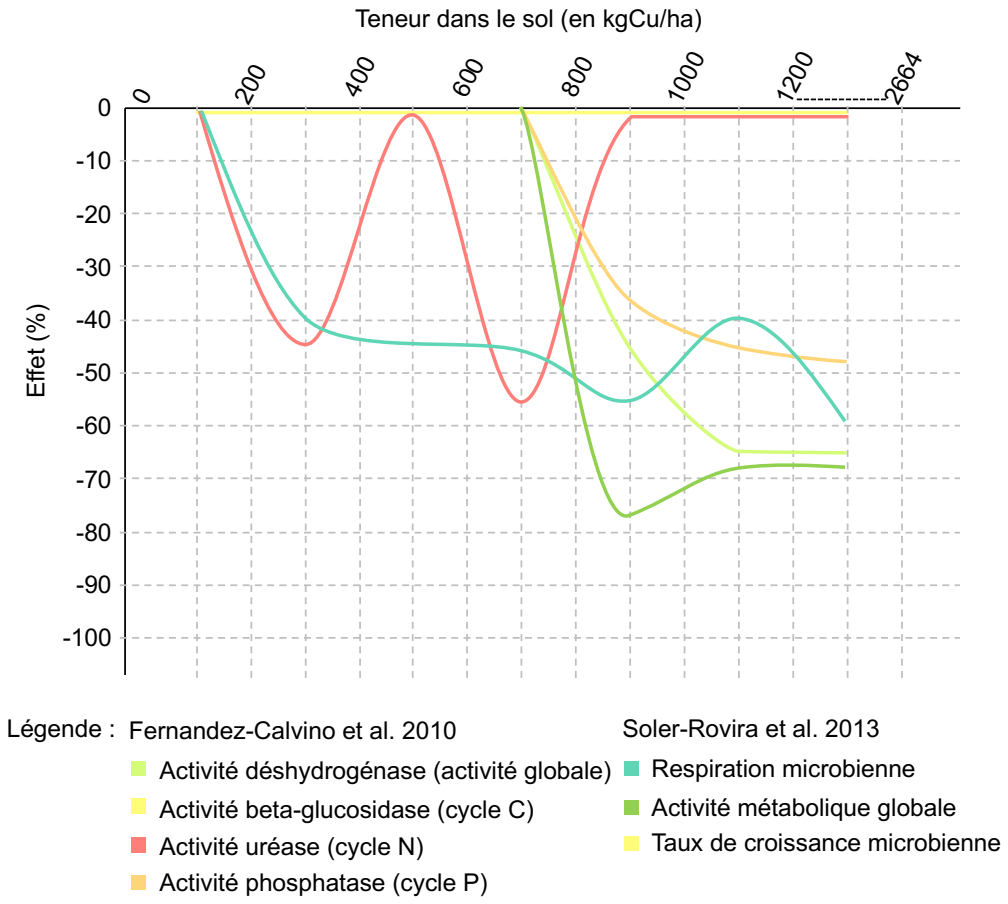


Figure 29 : Schéma récapitulatif des impacts écotoxicologiques dus à une accumulation de cuivre dans le sol, observés dans la littérature scientifique. Les effets sont donnés en % du témoin à faible teneur en cuivre. Les teneurs en cuivre dans le sol sont exprimées en kg/ha.

Globalement, le fonctionnement microbien du sol commence à être altéré pour des sols ayant accumulés plus de 200 kgCu/ha (équivalent à 50 mg/kg de sol sec). Le premier paramètre affecté est la respiration microbienne et peut être réduit de moitié. De façon surprenante, le taux de croissance des microorganismes n'est pas affecté. L'article suggère que ce paramètre microbien est plus sensible à la teneur en matière organique et aux types de matières organiques disponibles dans le sol qu'à la contamination en cuivre. L'activité microbienne décroît pour des teneurs supérieures à 800 kgCu/ha, hormis pour les activités beta-glucosidase et uréase qui sont peu ou pas affectées. En Espagne, la teneur moyenne en cuivre dans les sols est de 628 kg/ha, avec 70% des sols contenant 200 à 800 kg/ha de cuivre (Fernandez-Calvino et al., 2009). Les teneurs en cuivre dans les sols viticoles français sont similaires à celles des sols viticoles ibériques avec une moyenne de 620 kgCu/ha et 70% des sols présentant des teneurs inférieures à 800 kg/ha (données non publiées, L. Ranjard - INRAE).

6.2 Complément d'informations en contexte agricole non viticole

Considérant le faible nombre d'articles scientifiques répondant à la question posée en contexte viticole, il a paru important d'apporter un complément d'informations acquises dans des contextes agricoles non viticoles.

6.2.1 Origine des informations

Comme précédemment, la recherche d'informations en contexte agricole est restée dans le cadre de la littérature scientifique académique, pour conserver la rigueur et l'objectivité des conclusions de notre étude. A la différence de la précédente recherche bibliographique, l'exhaustivité des résultats disponibles n'est pas recherchée, excepté pour les groupes biologiques non-renseignés en contexte viticole (nématodes, microarthropodes, arthropodes, vers de terre). Les mots-clés utilisés pour les recherches ont donc inclus le nom de chaque groupe d'organismes afin d'être sûr d'identifier tous les articles sur la thématique.

6.2.2 Qualité des informations

Quinze articles répondant pertinemment à la question ont été recueillis :

- Ils traitent de sols soumis à divers usages agricoles : 10 cultures annuelles, 3 prairies, 2 cultures pérennes, 1 jachère, 1 substrat constitué de fumier de bovin sec (sans urine).
- Les études ont été menées dans 11 pays différents, essentiellement en Europe mais également en Chine et aux USA.
- Pour 87% d'entre elles, il s'agit d'expérimentations en microcosmes testant l'effet de différentes doses de cuivre apportées. Seulement 4 études ont été menées *in situ*, parmi lesquels 2 s'intéressent à l'impact du cuivre accumulé dans le sol et 2 testent l'effet de différentes doses de cuivre apportées au terrain. Un des articles combine expérimentations *in situ* et en microcosmes (Ranjard et al., 2006).
- Les profondeurs échantillonnées sont les mêmes qu'en contexte viticole, soit entre 0 et 30 cm au maximum, mais avec la plupart des prélèvements effectués sur une profondeur de 20 cm.
- Lorsque le cuivre est apporté expérimentalement, il l'est sous forme de sulfate dans 50% des cas, et l'apport s'effectue quasi systématiquement en 1 seule fois. L'apport est fractionné dans une seule étude, avec 8 passages en 8 semaines (Ranjard et al., 2006).
- Les doses apportées s'échelonnent entre 2.8 et 20000 kg/ha (soit 0.7 et 5000 mgCu/kg) et sont synthétisées sur la Figure 30. Dans la plupart des études, les doses testées se situent au-delà de 40 kg/ha et dépassent rarement 4000 kg/ha. **Comme en contexte viticole, les doses testées ici n'ont rien de commun avec les doses actuelles apportées par les agriculteurs engagés en agriculture biologique. Elles sont généralement 10 à 1000 fois supérieures, et parfois elles correspondent à plus de 5000 fois la dose apportée par les agriculteurs.**

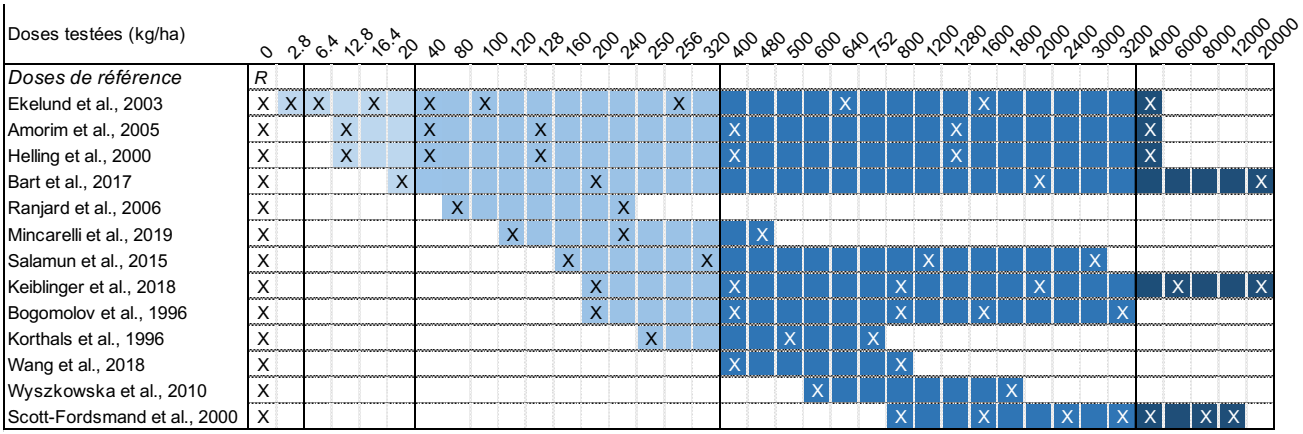


Figure 30 : Synthèse des doses de cuivre testées sur des sols agricoles dans la littérature académique. Les croix indiquent les doses expérimentales, la zone grisée représente l'amplitude du test écotoxicologique. La première croix fait référence à la dose de référence, utilisée comme témoin non-contaminé. Les 4 traits verticaux représentent les seuils de 4, 40, 400 et 4000 kgCu/ha.

Encore une fois, les résultats issus de la littérature scientifique académique ne permettront pas d'évaluer l'impact écotoxicologique du cuivre tel qu'il est actuellement utilisé par les viticulteurs. Cependant faire le bilan des effets de ces fortes doses donnera un aperçu de la sensibilité des organismes du sol au cuivre et identifiera ceux qui sont les plus sujets à conséquence lors d'une utilisation trop intensive du cuivre comme produit phytopharmaceutique. En contexte non-viticole, ce bilan est d'autant plus important qu'il apporte des informations sur des groupes biologiques pour lesquels aucune étude n'existe en contexte viticole. C'est par exemple le cas des nématodes, des collemboles et des vers de terre. De nouveaux résultats sur les microorganismes et les enchytrées viennent également compléter les effets déjà observés en vignes. En revanche, au sein de la macrofaune du sol, le groupe des arthropodes reste orphelin de toute étude scientifique.

6.2.3 Effet de la dose de cuivre apportée

Impact sur les microorganismes

Comme en contexte viticole, les microorganismes sont le groupe biologique le plus étudié en contexte non-viticole avec 5 articles qui s'y intéressent. Chacun d'eux porte sur un ou 2 sols différents, avec un historique de prairies ou de grandes cultures. Sur l'ensemble des études, on compte au total 8 sols différents venant d'Europe (Autriche, Danemark, France, Pologne) et des USA. Les gammes de doses testées sont très variables et s'échelonnent entre 2.8 et 20000 kgCu/ha. Les microorganismes sont les seuls organismes sur lesquels des doses agronomiques ont été testés. La biomasse microbienne est un paramètre biologique quasi-systématiquement mesuré (dans 4 études sur 5 ; Bogomolov et al., 1996 ; Ekelund et al., 2003 ; Ranjard et al., 2006 ; Keiblinger et al., 2018). Les autres paramètres évalués correspondent principalement à la respiration (Bogomolov et al., 1996 ; Ekelund et al., 2003 ; Keiblinger et al., 2018) ou à des activités métaboliques en lien avec les différents cycles des nutriments (betaglucosidase et péroxydase pour le cycle du carbone ; uréase pour le cycle de l'azote ; phosphatase acide ou alcaline pour le cycle du phosphate ; arylsulfatase pour le cycle du soufre ; Bogomolov et al., 1996 ; Wyszkowska et al., 2010 ; Keiblinger et al., 2018). Une des études mesure également l'abondance totale

des microorganismes (Ekelund et al., 2003). La biomasse et la respiration microbienne sont les 2 seuls paramètres pour lesquels les résultats de différentes études peuvent être confrontés pour en tirer une tendance générale.

Les résultats mettent en évidence une variabilité en fonction du sol :

- La biomasse microbienne répond négativement à la dose de cuivre à partir de 800, 2000 ou 4000 kg/ha selon le sol (Keiblinger et al., 2018 ; Ekelund et al., 2003), même si cela n'est pas systématique (Bogomolov et al., 1996, pas d'effet pour des doses allant jusqu'à 3200 kgCu/ha). Des doses entre 2.8 et 800 kgCu/ha n'ont aucun effet sur la biomasse microbienne (Ranjard et al., 2006 ; Ekelund et al., 2003). Quand elle a lieu, la perte de biomasse est de l'ordre de 40 à 60% aux doses les plus élevées.
- Comme pour la biomasse, la dose de cuivre la plus faible induisant une baisse significative de la respiration microbienne est différente selon le sol : 400, 640, 1600 ou 2000 kg/ha. Dans certains sols, une augmentation de la respiration est même observée pour certaines des doses testées (à 200, 2000 et 6000 kgCu/ha dans Keiblinger et al., 2018 ; à 400 kgCu/ha dans Bogomolov et al., 1996). Aux doses « efficaces » comprises entre 400 et 3200 kgCu/ha, la respiration diminue de 20 à 50%. La dose maximale testée de 20 000 kgCu/ha induit une réduction de 62% de la respiration (Keiblinger et al., 2018).
- Alors que l'activité peroxydase est stimulée pour des doses de 2000 à 20000 kgCu/ha 28 jours après l'apport, elle est réduite de 30 à 90% à long terme (106 jours après l'apport) pour des doses supérieures à 400 kgCu/ha (Keiblinger et al., 2018). L'activité bêta-glucosidase, elle aussi impliquée dans le cycle du carbone, est un peu moins affectée avec une diminution de 16 et 20% pour des doses de 600 et 1800 kgCu/ha respectivement (Wyszkowska et al., 2010). Alors que la bêta-glucosidase est nécessaire à la dégradation des composés cellulosiques, la peroxydase est impliquée dans la digestion de la lignine. La réduction de ces activités enzymatiques suggère un ralentissement de la capacité des communautés microbiennes à dégrader la matière organique et principalement la matière récalcitrante formée de ces 2 molécules complexes (lignine et cellulose).
- L'activité uréase est réduite de 50% pour une dose de 3200 kgCu/ha. Elle n'est pas affectée aux doses inférieures (Bogomolov et al., 1996).
- Les activités phosphatases acides et alcalines subissent une réduction de 20 à 30% pour une dose de 600 kgCu/ha, et de 45 à 55% pour une dose de 1800 kgCu/ha (Wyszkowska et al., 2010).
- L'activité arylsulfatase subit la plus forte diminution avec -35% à 600 kgCu/ha et -60% à 1800 kgCu/ha (Wyszkowska et al., 2010).
- L'abondance des microorganismes n'est pas significativement affectée par des doses allant de 2.8 à 4000 kgCu/ha (Ekelund et al., 2003).

Globalement ces résultats mettent en évidence que les communautés microbiennes tolèrent parfaitement le cuivre jusqu'à des doses de 400 kgCu/ha. La plupart des paramètres biologiques sont réduits de 30 à 60% pour une gamme de dose de 1600 à 3200 kgCu/ha (Figure 31), soit des doses 400 à 800 fois plus élevées que les doses apportées par les viticulteurs sur une année. Les activités enzymatiques sont les paramètres microbiens les plus sensibles : les enzymes en lien avec les cycles du carbone et du soufre semblent plus touchées que celles en lien avec les cycles de l'azote et du phosphore. Ceci peut se traduire par une altération de la capacité du sol à stocker le carbone ou à recycler les éléments nutritifs. La biomasse et la respiration sont moins sensibles que les activités enzymatiques, et l'abondance microbienne ne répond pas à la dose de cuivre apportée. Bien qu'il soit important d'évaluer la réponse des microorganismes pris dans leur intégralité, connaître l'impact écotoxicologique du cuivre nécessite de mesurer cette réponse en termes de diversité et de composition des communautés bactériennes et fongiques.

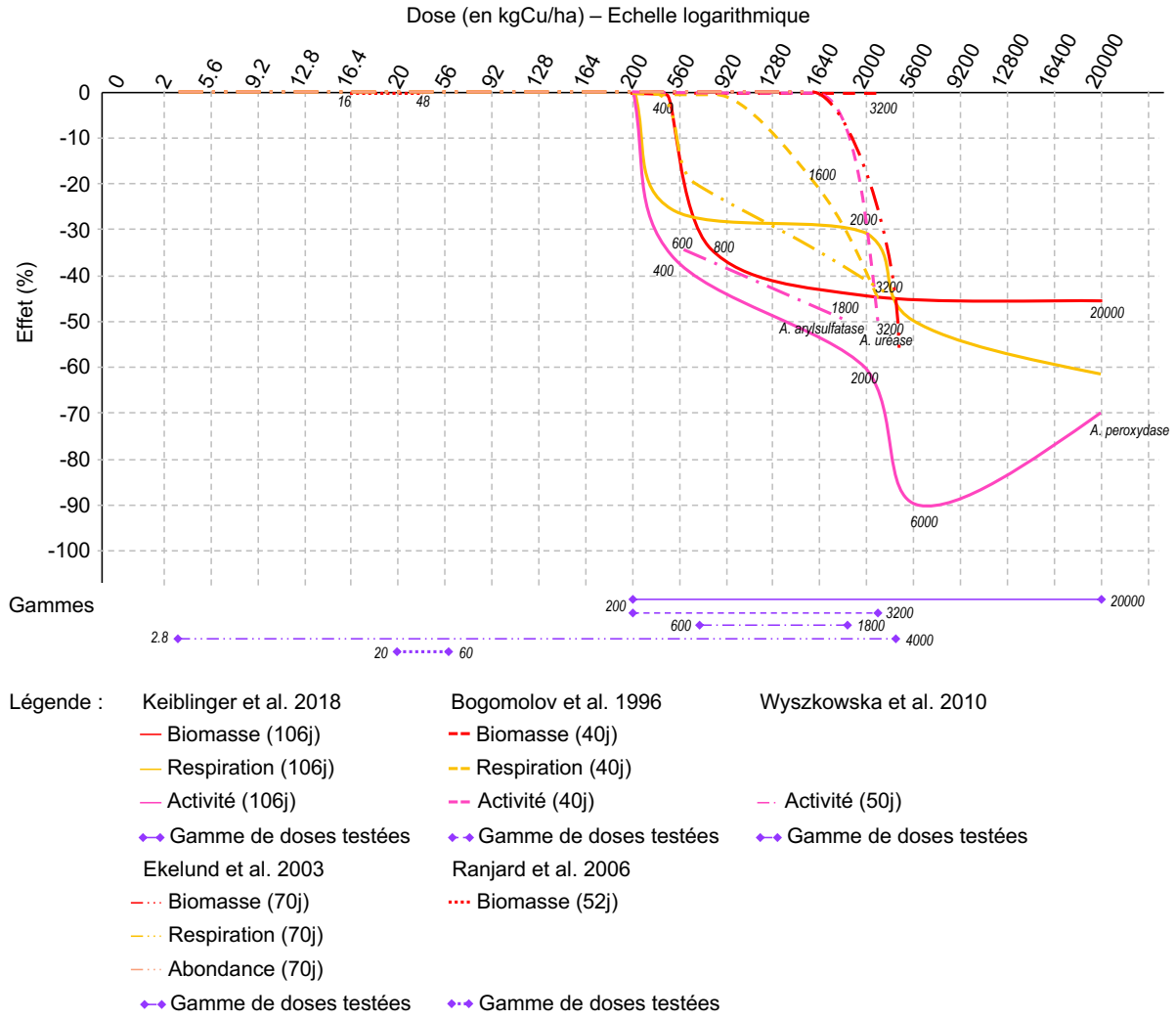


Figure 31 : Schéma récapitulatif des impacts écotoxicologiques sur les microorganismes totaux dus à un apport de cuivre, observés dans la littérature scientifique. Les effets sont donnés en % du témoin sans apport de cuivre. Les doses de cuivre, apportées en une seule fois, sont en kg/ha. Dans la légende, les valeurs entre parenthèses indiquent la durée de l'expérience, entre l'application de la dose et la mesure de son effet ; j=jours.

Impact sur les communautés bactériennes et fongiques

Les communautés bactériennes et/ou fongiques sont plus précisément investiguées dans 2 articles (Ranjard et al., 2006 ; Keiblinger et al., 2018). Ces études sont toutes les deux menées sur 2 types de sols agricoles différents, en France et en Autriche respectivement. La 1ère étude renseigne les changements dans la composition des communautés de bactéries et de champignons lors d'un apport *in situ* et en microcosmes. L'expérimentation *in situ* consiste en l'application de doses de 16 et 48 kg/ha en 8 fois (nombre d'applications similaire aux pratiques des viticulteurs), l'effet étant mesuré à moyen terme (1 an après l'apport). En microcosmes, l'effet de ces doses est mesuré à court terme, 52 jours après l'apport. La 2nde étude mesure l'abondance, la diversité et la composition des communautés de champignons 106 jours après l'apport en microcosmes.

Ces études montrent que :

- En microcosmes, la composition de la communauté bactérienne change par rapport à son état d'origine quels que soient la dose et le sol. Chaque dose induit à moyen termes un profil de communauté spécifique le long d'un gradient de la plus faible à la plus élevée. Dans l'expérimentation *in situ*, les communautés sont à nouveau similaires dès 4 mois après la contamination, indiquant un processus de résilience chez les bactéries (Ranjard et al. 2006).
- En microcosmes, la composition de la communauté de champignons est moins réactive que celle des bactéries mais à moyen terme le même gradient de changement de la communauté se dessine entre le sol non contaminé et le sol le plus contaminé (240 kgCu/ha). Cependant, selon le type de sol, certaines doses de cuivre n'induisent pas systématiquement de modifications de la communauté, que ce soient les doses les plus faibles testées (80 kgCu/ha dans Ranjard et al., 2006 ; ≤2000 kgCu/ha dans Keiblinger et al. 2018) ou les plus élevées (≥6000 kgCu/ha dans Keiblinger et al., 2018). *In situ*, comme pour les bactéries, les communautés fongiques sont à nouveau similaires dès 4 mois (Ranjard et al., 2006).
- L'abondance des champignons dans le sol montre une réponse inverse à celle de la composition. Alors qu'à court terme, l'abondance des champignons est réduite pour les doses les plus faibles testées (200 kgCu/ha), à moyen terme aucune différence d'abondance n'est notable quelle que soit la dose entre 200 et 20 000 kgCu/ha (Keiblinger et al., 2018).
- La diversité des champignons du sol est estimée en termes de richesse. La richesse correspond au nombre de taxons, chaque taxon regroupant des organismes dont le génome est similaire à plus de 97%. Le cuivre n'a aucun impact sur le niveau de diversité en champignons quel que soit le sol et quelle que soit la dose entre 200 et 20 000 kgCu/ha (Keiblinger et al., 2018).

La synthèse des données existantes montre que l'abondance et la richesse en champignons du sol ne semble pas affectée par le cuivre même à des doses très élevées. La composition de la communauté des champignons est susceptible d'évoluer selon la dose mais ce résultat reste dépendant du type de sol. Dans certains cas, une dose de 20 000 kgCu/ha n'impacte pas la communauté. En revanche la composition des communautés bactériennes semble être plus sensible au cuivre, même à des doses relativement moins élevées. Globalement, peu de résultats sont disponibles sur la réponse des communautés bactériennes et fongiques et ceux présentés ici ne permettent pas de conclure de façon robuste concernant l'impact du cuivre sur la diversité et la composition des communautés microbiennes.

Impact sur les nématodes

Trois articles renseignent l'impact de la dose de cuivre apportée sur les nématodes. Deux d'entre eux sont basés sur des expérimentations en microcosmes (Bogomolov et al., 1996 ; Salamun et al., 2015) et un sur une expérimentation *in situ* (Korthals et al., 1996). Dans l'expérimentation *in situ*, la réponse de la communauté est mesurée à long-terme, 10 ans après avoir appliqué le traitement alors qu'en microcosmes, les réponses sont mesurées à court terme (30-40 jours). Dans tous les cas, les nématodes sont analysés à l'échelle de la communauté totale. Le paramètre biologique systématiquement mesuré est l'abondance totale des nématodes. Selon les études, la diversité (en termes de richesse générique), l'abondance des différents groupes écologiques (herbivores, bactérivores, fongivores, omnivores/prédateurs) ou les indices écologiques (structure, enrichissement, maturité, phytoparasitismes, voies de décomposition) sont également évalués.

La sensibilité des nématodes au cuivre varie selon que l'expérimentation a lieu en microcosmes ou *in situ* (Figure 32) :

- En microcosmes, l'abondance des nématodes n'est pas affectée par l'ajout de cuivre (sol à pH compris entre 5.3 et 6.5), même à des doses de 3000 ou 3200 kg/ha. *In situ*, après 10 ans, leur abondance n'est pas affectée par des doses de 250 ou 500 kgCu/ha. A une dose de 750 kgCu/ha, elle est divisée par 3 dans des sols très acides (pH<5) mais ne change pas dans des sols à pH acido-neutre (pH entre 5 et 7).
- L'abondance des différents groupes écologiques de nématodes n'a été évaluée que dans l'étude *in situ* (Korthals et al., 1996). Chaque groupe se caractérise par un régime trophique différent. Les herbivores, c'est-à-dire les nématodes se nourrissant d'organes végétaux, et les fongivores (se nourrissant du mycélium de champignons) ne sont pas sensibles à l'apport de cuivre, quelle que soit la dose et le pH du sol. Les bactérivores sont significativement réduits de 66% dans les sols très acides (pH=4) dix ans après l'apport de 750 kgCu/ha mais ils ne sont pas affectés dans les autres sols. Les nématodes omnivores, à régime alimentaire généraliste et incluant également des prédateurs d'organismes plus gros (larves d'insectes par exemple), sont les plus touchés avec une perte de 90% des individus pour la même dose, mais dans des sols à pH neutre (pH=6.1). Cette plus faible abondance des bactérivores et des omnivores suggère que les deux extrémités de la chaîne trophique peuvent être perturbées à de très fortes doses de cuivre dans

des conditions physico-chimiques spécifiques, et que cet effet perdure à long terme.

- Les indices écologiques sont évalués dans une étude en microcosme uniquement (Salamun et al., 2015). Ces indices sont calculés à partir de la composition de la communauté et de l'abondance des groupes écologiques expliquée précédemment. Ici, trois indices ont été calculés. L'indice de maturité, qui mesure la réponse à une perturbation ou une contamination de l'environnement, n'est pas négativement affecté par le cuivre, même à une dose de 3000 kgCu/ha. En revanche, il augmente de 17% pour 160 kgCu/ha. De même, l'indice de structure qui évalue la stabilité de la communauté et la complexité trophique de l'écosystème n'est pas sensible au cuivre, mise à part une augmentation de stabilité de 26% pour une dose de 160 kgCu/ha apportée. Ces résultats suggèrent qu'à une telle dose, le cuivre est favorable à la nématofaune en améliorant sa stabilité et la complexité de la communauté.
- La richesse en genres de nématodes n'est pas sensible à des doses jusqu'à 1200 kgCu/ha, mais elle baisse de 30% pour une dose de 3000 kgCu/ha (Salamun et al., 2015).

Globalement, les nématodes sont très peu affectés par l'apport de cuivre, même à des doses de 3000 kgCu/ha, en microcosmes. Des doses inférieures à 200 kg/ha peuvent même stimuler les communautés. Néanmoins dans des sols très acides (pH<5), leur abondance et la structure de la communauté peuvent être fortement perturbées, probablement en raison d'une augmentation de la solubilité du cuivre à ces pH. Il faut rappeler que le pH des sols agricoles est généralement situé entre 6.5 et 7.5, valeurs pour lesquelles la fertilité du sol et la croissance végétale sont optimum. Lorsque les sols sont naturellement plus acides ou acidifiés par les pratiques agricoles, un chaulage permet de rééquilibrer le pH. L'utilisation du cuivre dans des conditions de sols très acides est donc peu probable de la part des professionnels de l'agriculture.

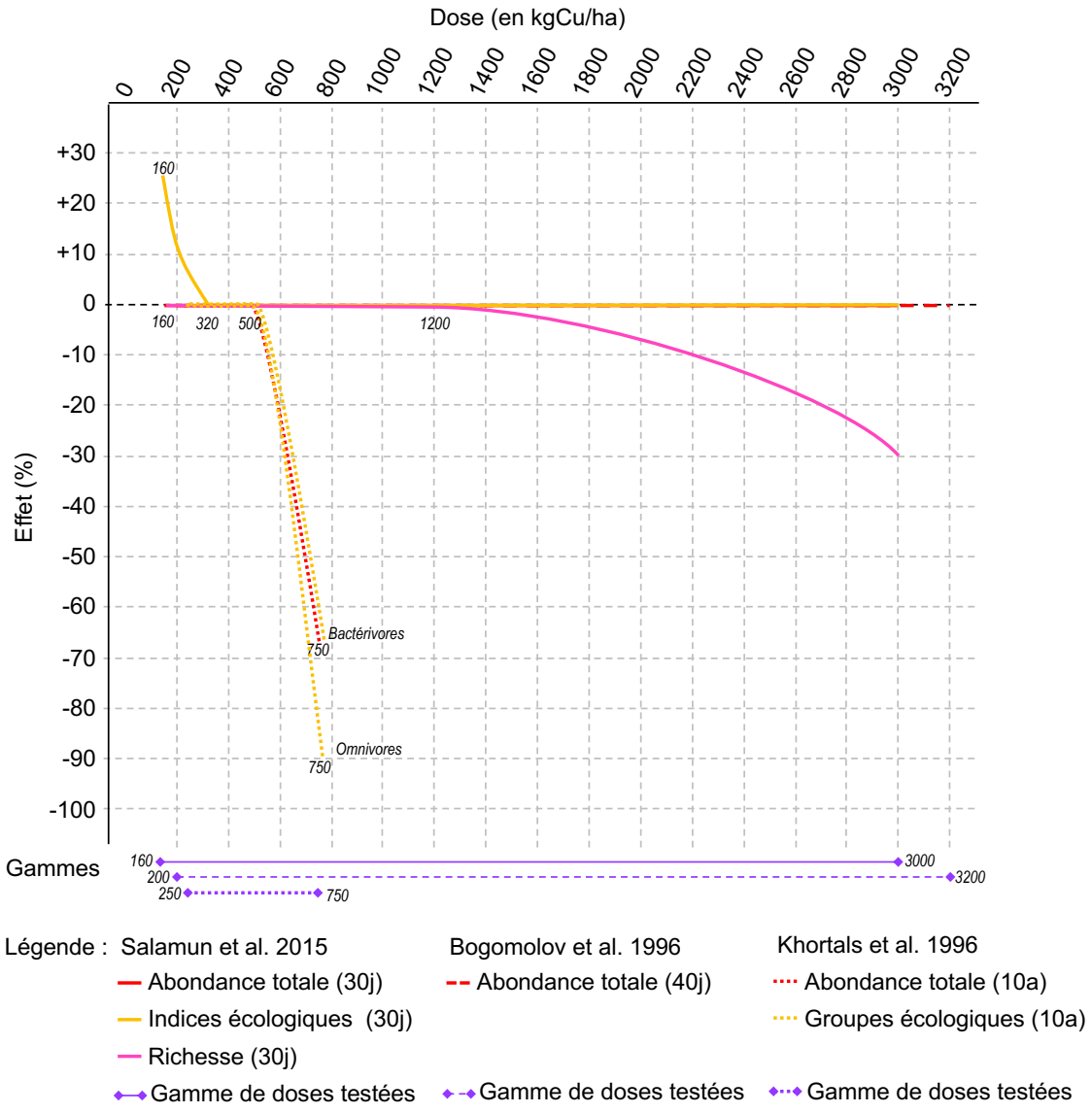


Figure 32 : Schéma récapitulatif des impacts écotoxicologiques sur les nématodes dus à un apport de cuivre, observés dans la littérature scientifique. Les effets sont donnés en % du témoin sans apport de cuivre. Les doses de cuivre, apportées en une seule fois, sont en kg/ha. Dans la légende, les valeurs entre parenthèses indiquent la durée de l'expérience, entre l'application de la dose et la mesure de son effet ; j=jours, a= ans.

Impact sur les collemboles

Deux articles renseignent l'impact de la dose de cuivre apportée sur les collemboles. L'un d'entre eux se base sur 9 sols dont 7 sols agricoles allemands ou portugais, un sol naturel allemand et un sol standard de l'OCDE (Organisation pour la coopération et le développement économique) utilisé pour les tests écotoxicologiques homologués par l'organisation (Amorim et al., 2005). La seconde étude a été menée sur un sol de jachère au Danemark (Scott-Fordsmand et al., 2000). Dans les 2 études, la survie et la reproduction d'espèces modèles de collemboles (*Folsomia candida* ou *Folsomia fimetaria* selon l'étude) a été suivie. Une des deux études mesure également l'abondance de collemboles. Ces tests écotoxicologiques ont consisté à déterminer les doses effectives, c'est-à-dire les doses pour lesquels le paramètre biologique mesuré subit une diminution de 10 et/ou 50%.

L'impact du cuivre sur les collemboles dépend du type de sol et de l'espèce (Figure 33) :

- La survie des collemboles est réduite de 50% pour des doses allant de 3476 à 8000 kgCu/ha selon le sol.
- La reproduction des collemboles est réduite de 50% pour des doses allant de 408 à plus de 4000 kgCu/ha selon le sol et l'espèce. A 8000 kgCu/ha, la reproduction est arrêtée (Scott-Fordsman et al., 2000).
- Leur abondance n'est pas affectée par des doses allant de 800 à 12000 kgCu/ha dans le sol testé.

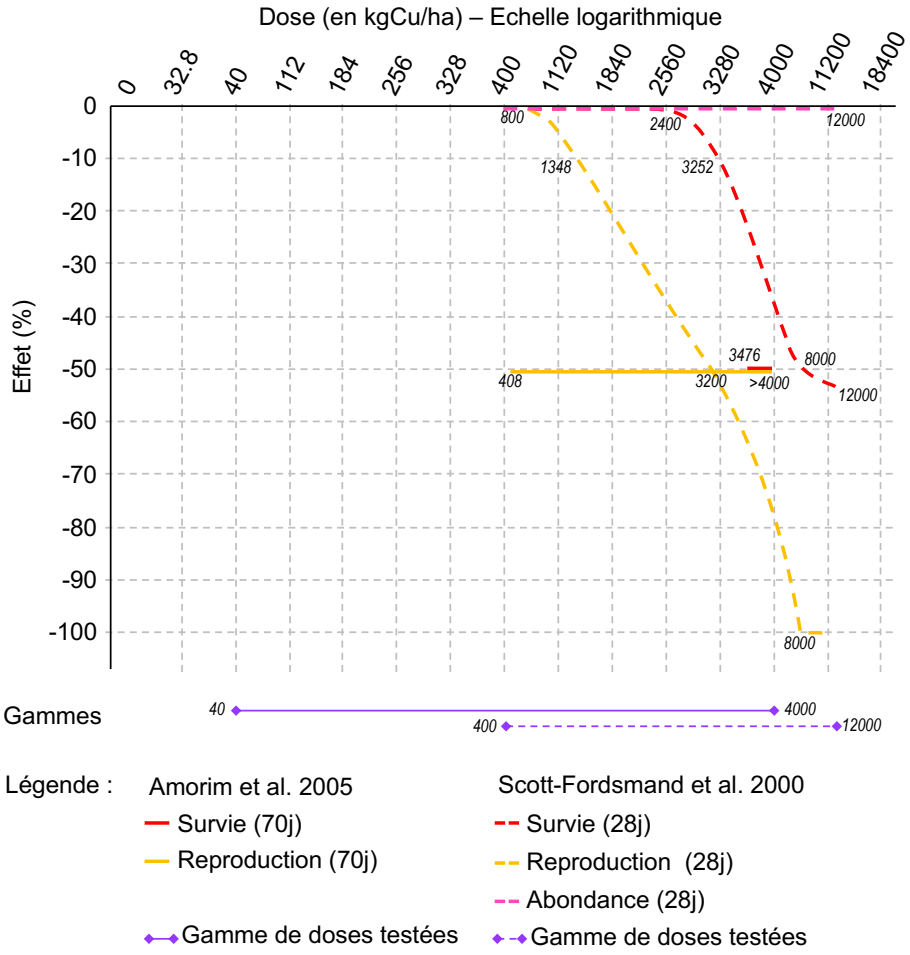


Figure 33 : Schéma récapitulatif des impacts écotoxicologiques sur les collemboles dus à un apport de cuivre, observés dans la littérature scientifique. Les effets sont donnés en % du témoin sans apport de cuivre. Les doses de cuivre, apportées en une seule fois, sont en kg/ha. Dans la légende, les valeurs entre parenthèses indiquent la durée de l'expérience, entre l'application de la dose et la mesure de son effet ; j=jours.

Les collemboles peuvent être très impactés par l'apport de cuivre au sol, mais seulement à partir de 400 kgCu/ha. L'intensité de la réponse dépend du type de sol puisqu'un même effet (-50% de reproduction par exemple) est observée à des doses allant du simple au décuple (400 à 4000 kg/ha). Il est important de noter ici que la dose seuil de 400 kgCu/ha est 50 à 100 fois supérieure à la dose maximale administrée par les viticulteurs au cours des années les plus critiques en termes de propagation du mildiou. Les 2 études présentées ici portent sur 2 espèces modèles différentes. Les résultats sur la survie et la reproduction sont du même ordre de grandeur quelle que soit l'espèce, même s'ils sont légèrement variables. Alors que ces paramètres biologiques renseignent sur l'impact du cuivre sur les populations de collemboles, l'impact du cuivre sur la diversité, l'abondance des groupes écologiques et la composition des communautés de collemboles n'est pas connu. Ce sont pourtant ces derniers paramètres qui sont intimement liés à la qualité biologique et au fonctionnement du sol.

Impact sur les enchytrées

Les enchytrées, aussi appelés enchytraéides, sont étudiés dans 2 articles (Amorim et al., 2005 ; Bart et al., 2017). L'une des études repose sur un sol de jachère alors que l'autre se base sur 9 sols différents dont 7 agricoles (même étude que pour les collemboles, Amorim et al., 2005). Les 2 études utilisent des espèces modèles d'enchytrées (*Enchytraeus albidus* et/ou *Enchytraeus luxuriosus*) inoculées dans des sols contaminés en laboratoire. La survie de la population est le seul paramètre biologique mesuré dans les 2 cas, à quoi s'ajoutent la mesure de la biomasse, de l'activité, et de la reproduction dans une des études.

Ces 2 études montrent que (Figure 34) :

- La survie des enchytrées n'est pas altérée par l'apport de cuivre sur un gradient de 12.8 à 20 000 kg/ha.
- La reproduction des enchytrées n'est pas affectée par des doses de cuivre jusqu'à 1280 kg/ha (Amorim et al., 2005).
- Leur biomasse n'est significativement affectée que pour la plus forte dose de cuivre testée (20 000 kg/ha). Une tendance à la diminution est également observée dès 2000 kgCu/ha mais elle n'est pas statistiquement validée (Bart et al., 2017).
- L'activité des enchytrées, évaluée ici par des comportements d'évitement de la source de cuivre, est significativement stoppée pour une dose de 20 000 kgCu/ha. Même si les différences ne sont pas statistiquement validées aux doses inférieures testées (200 et 2000 kgCu/ha), la diminution de l'activité évolue progressivement et de façon linéaire avec les doses de cuivre (Bart et al., 2017).

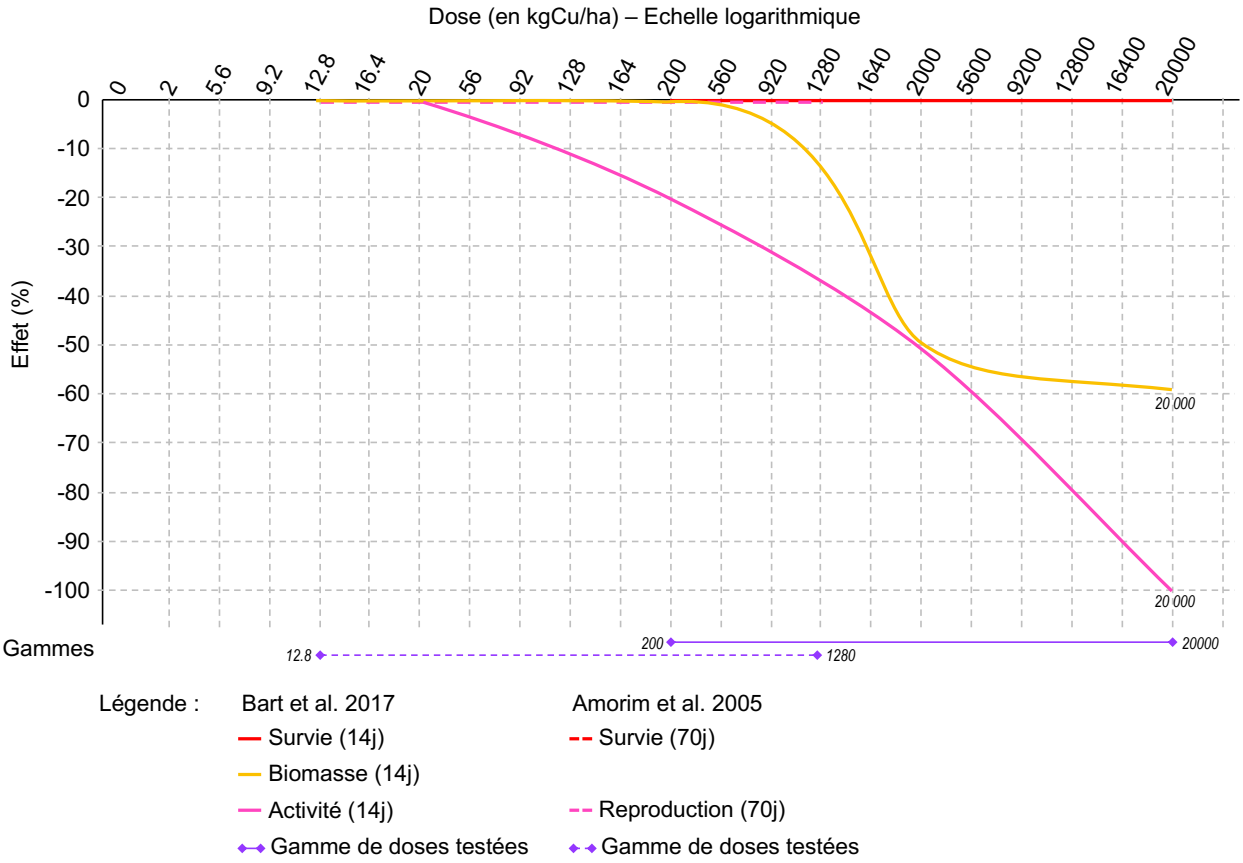


Figure 34 : Schéma récapitulatif des impacts écotoxicologiques sur les enchytrées dus à un apport de cuivre, observés dans la littérature scientifique. Les effets sont donnés en % du témoin sans apport de cuivre. Les doses de cuivre, apportées en une seule fois, sont en kg/ha. Dans la légende, les valeurs entre parenthèses indiquent la durée de l'expérience, entre l'application de la dose et la mesure de son effet ; j=jours.

Les enchytrées ne sont pas, ou très peu, sensibles à l'apport de cuivre dans le sol. D'un point de vue statistique, les seuls impacts sont observés à la dose de cuivre la plus élevée testée (20 000 kg/ha), qui correspond à 5000 fois la dose maximale autorisée en agriculture biologique. A cette dose, la survie des organismes n'est pas mise en jeu, leur biomasse est réduite de moitié et les individus évitent strictement la contamination. Ainsi à l'échelle de la population, les risques encourus par les enchytrées sont négligeables. Aucune information n'est disponible concernant l'impact du cuivre sur la diversité et la composition des communautés.

Impact sur les vers de terre

Cinq articles renseignent l'impact de la dose de cuivre apportée sur les vers de terre. Trois d'entre-eux portent sur l'écotoxicité (Bogomolov et al., 1996 ; Helling et al., 2000 ; Bart et al., 2017) et deux sur la génotoxicité (Wang et al., 2018 ; Mincarelli et al., 2019). Deux des études écotoxicologiques utilisent des espèces modèles (*Aporrectodea caliginosa* et *Eisenia fetida)* inoculées dans le sol, alors que la troisième s'intéresse à la communauté de lombrics indigène du sol étudié. Les paramètres biologiques mesurés dans ces études sont la survie/mortalité, la biomasse, l'activité/quiescence, la reproduction.

Les deux études de génotoxicité reposent également sur des espèces modèles (*Eisenia andrei* et *Eisenia fetida*). La génotoxicité correspond à la réponse biologique à l'échelle

infracellulaire, c'est-à-dire, à la modification du fonctionnement métabolique à l'intérieure des cellules de l'organisme. Les paramètres biologiques mesurés sont l'intensité des dommages de l'ADN, le déclenchement de la réponse immunitaire, le stress oxydatif, la réponse antimicrobienne, etc.. Ces paramètres renseignent sur l'état physiologique de l'individu. Or la relation entre réponse à l'échelle individuelle et à l'échelle de la population ou de la communauté n'est pas établie. Des effets génotoxiques n'apportent donc aucune information sur le patrimoine biologique du sol ou le fonctionnement de la communauté. Néanmoins la synthèse des connaissances sur la génotoxicité du cuivre sur les vers de terre est présentée pour information dans la note de lecture.

La sensibilité des vers de terre au cuivre varie selon les études (Figure 35) :

- Leur survie est mise en cause à partir de 1320 kgCu/ha dans certains cas (Helling et al., 2000), alors que dans d'autres, elle n'est pas impactée par des doses atteignant 20 000 kgCu/ha (Bart et al., 2017). Ainsi le taux de mortalité est de 20% à 1280 kgCu/ha et atteint 100% à 3200 kgCu/ha selon les études (Helling et al., 2000 ; Bogomolov et al., 1996).
- Une perte de biomasse de l'ordre de 15% est observée dès 12.8 kgCu/ha dans le pire des cas (Helling et al., 2000). Dans les deux autres études, une diminution équivalente survient pour des doses de 800 kg/ha et de 2000 kg/ha (Bogomolov et al., 1996 ; Bart et al., 2017). Selon l'étude, la biomasse est diminuée d'environ 30% pour une dose de 40, 1600 ou 20 000 kgCu/ha. Enfin, l'impact le plus important sur la biomasse a été rapporté par l'étude d'Helling et al. avec une perte de 95% pour une dose de 1320 kgCu/ha.
- L'activité des vers de terre est affectée pour des doses de 2000 à 20 000 kgCu/ha, avec une augmentation des phases de repos (quiescence) allant jusqu'à 86% (Bart et al., 2017).
- Leur reproduction, évaluée par le dénombrement du nombre de cocons produits, est réduite de 35% dès 12.8 kgCu/ha. Cette diminution plafonne à -65% pour des doses entre 40 à 400 kgCu/ha (Helling et al., 2000).

La variabilité observée dans les résultats est attribuable aux différents contextes expérimentaux des études, c'est-à-dire aux caractéristiques physico-chimiques des sols utilisés et aux populations suivies. En effet, l'étude de Bart et al. (2017) repose sur un sol français (Luvisol) de jachères, celle de Bogomolov et al. (1996) sur un sol de grandes cultures de l'Ohio (USA) et celle de Helling et al. (2000) utilise du fumier de bovins comme substrat pour l'expérimentation. D'autre part, chaque espèce de lombrics se caractérise par une sensibilité différente au cuivre. Les effets observés pour l'une sont donc difficilement extrapolables à une autre. *A. caliginosa* et *E. fetida* sont très communs dans les sols tempérés, mais il est préférable d'étudier des communautés (composées de plusieurs espèces) plutôt que des populations de vers de terre (une seule espèce) si on souhaite mesurer une réponse globale de l'écosystème. Cependant, les tests écotoxicologiques reposant sur des espèces modèles bien identifiées sont ceux préconisés par l'EFSA. Le principe de précaution suggère de tenir compte des doses les plus faibles pour lesquelles des effets ont été observés, quel que soit le type de sol et l'espèce étudiés. Dans le cas présent, un effet délétère a été observé dès 12.8 kgCu/ha sur fumier de bovins, et à partir de 200 kgCu/ha sur un vrai sol, soit 50 fois la dose maximale aujourd'hui apportée en viticulture biologique.

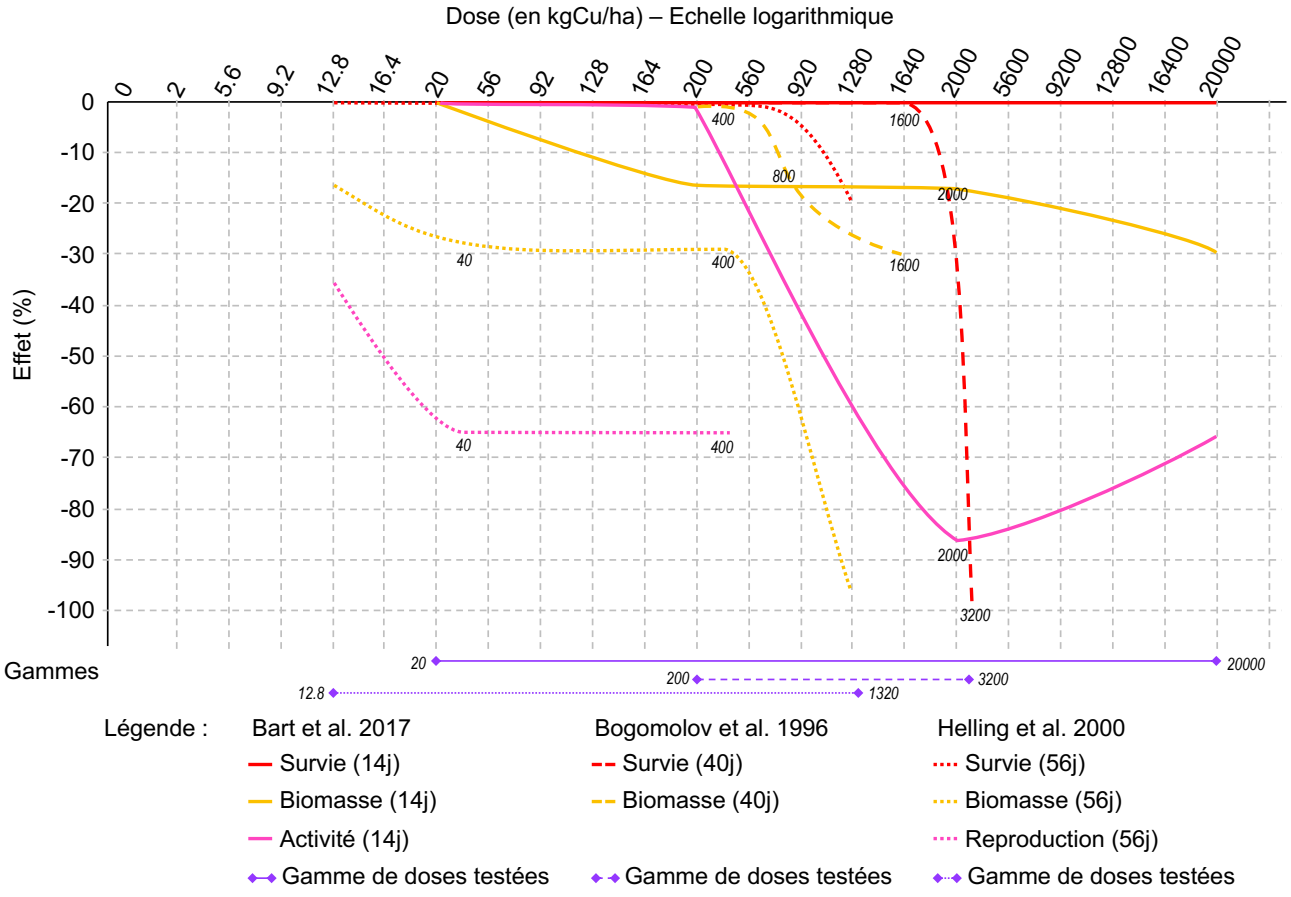


Figure 35 : Schéma récapitulatif des impacts écotoxicologiques sur les vers de terre dus à un apport de cuivre, observés dans la littérature scientifique. Les effets sont donnés en % du témoin sans apport de cuivre. Les doses de cuivre, apportées en une seule fois, sont en kg/ha. Dans la légende, les valeurs entre parenthèses indiquent la durée de l'expérience, entre l'application de la dose et la mesure de son effet ; j=jours.

Note de lecture :

La génotoxicité du cuivre a été testée pour des doses allant de 120 kg/ha à 800 kg/ha. L'ADN d'*Eisenia andrei* est endommagé à 20% après 6 jours de contact avec un sol traité à 240 kgCu/ha. Pour une dose de 480 kg/ha, l'ADN est touché à 45% au maximum à 6 jours mais semble se réparer dès 9 jours (32% de dommage) (Mincarelli et al., 2019). La même étude montre que la plupart des autres paramètres concernant le stress oxydatif, la réponse immunitaire, l'activité cytolytique et la production de peptides antimicrobiens ne sont pas affectés jusqu'à 6 jours après la contamination. En revanche la réponse immunitaire est très fortement stimulée (+880%) après 9 jours à 480 kgCu/ha. Une autre étude a mis en évidence une stimulation des voies du stress oxydatif dès 400 kgCu/ha, 28 jours après l'exposition au contaminant (Wang et al., 2018). Le stress oxydatif est alors 2 à 4 fois plus important selon la forme de cuivre utilisée (sulfate ou oxychlorure respectivement) à une dose de 400 kg/ha. A une dose de 800kg/ha, le stress oxydatif est 3 à 11 fois plus élevé.
Globalement, ces résultats indiquent une réponse génotoxique variable dans le temps et entre espèces. A ce stade de nos connaissances, ils sont peu généralisables et interprétables.

6.2.4 Effet de la teneur en cuivre dans le sol

Impact sur les microorganismes

Deux articles s'intéressent à l'impact de la teneur en cuivre du sol sur les communautés microbiennes (Wang et al., 2009 ; Nunes et al., 2016). Le dispositif expérimental de l'un d'eux est constitué de sols chinois occupés par des vergers d'âges variables : 5 ans, 15 ans, 20 ans, 30 ans ou plus de 45 ans. Mis à part les vergers de 5 et 15 ans dont les sols présentent des teneurs similaires en cuivre (<100 kg/ha), les autres classes d'âges sont corrélées positivement à un gradient de cuivre (jusqu'à 560 kg/ha en moyenne) (Wang et al., 2009). Le second dispositif correspond à une parcelle de prairie danoise caractérisée par un fort gradient de teneur en cuivre dans le sol, de 60 kg/ha dans la zone non contaminée à 18 000 kg/ha pour la zone la plus contaminée. La contamination n'est pas d'origine agricole et provient de l'utilisation de sulfate de cuivre dans une usine d'imprégnation de bois en activité entre 1911 et 1924. Le sol a par la suite été cultivé jusqu'en 1993 et les mesures ont été effectuées en 2013 (Nunes et al., 2016). Dans les 2 études, la biomasse, la respiration et l'activité microbienne ont été mesurées. Des informations sur les biomasses bactérienne et fongique, la diversité et la composition des communautés bactériennes sont apportées par l'une des 2 études (Nunes et al., 2016).

Les gradients de cuivre investigués dans les 2 études sont différents de 2 ordres de grandeurs (deux puissances de 10) et mettent en évidence des effets très contrastés (Figure 36) :

- Comparé à un sol agricole non contaminé (60 à 80 kg/ha), la biomasse microbienne n'est pas affectée pour des teneurs allant jusqu'à 560 kgCu/ha (Wang et al., 2009). En revanche elle chute de 33% pour une teneur de 1800 kgCu/ha et de 45% pour une teneur de 18 000 kgCu/ha dans le sol (Nunes et al., 2016).

- De même la respiration microbienne n'est pas modifiée par des teneurs en cuivre jusqu'à 400 kg/ha et elle augmente de 88% à 560 kg/ha (Wang et al., 2009). Pour des teneurs de 1800 à 18 000 kgCu/ha, elle est réduite de 22 à 32% (Nunes et al., 2016).
- Les activités microbiennes ne sont pas évaluées de la même façon dans les 2 études : l'une mesure les activités enzymatiques invertase, uréase et phosphatase alors que l'autre mesure l'activité catabolique, c'est-à-dire la minéralisation de substrats organiques carbonés plus ou moins complexes. A des teneurs en cuivre inférieures à 560 kg/ha, les activités enzymatiques ne sont pas affectées (Wang et al., 2009). En revanche, l'activité catabolique ciblant la dégradation de molécules organiques simples (glucose, galactose, acide malique, etc.) est réduite de 26 à 42% pour une teneur de 1800 kgCu/ha et de 26 à 85% pour une teneur de 18 000 kgCu/ha. L'activité liée à la dégradation de molécules complexes n'est pas altérée (Nunes et al. 2016).
- La diversité des bactéries du sol est estimée en termes de richesse. La richesse correspond au nombre de taxons, chaque taxon regroupant des organismes dont le génome est similaire à plus de 97%. La richesse bactérienne diminue de 10% pour une teneur en cuivre du sol de 1800 kgCu/ha et de 33% pour une teneur 10 fois supérieure (Nunes et al., 2016).

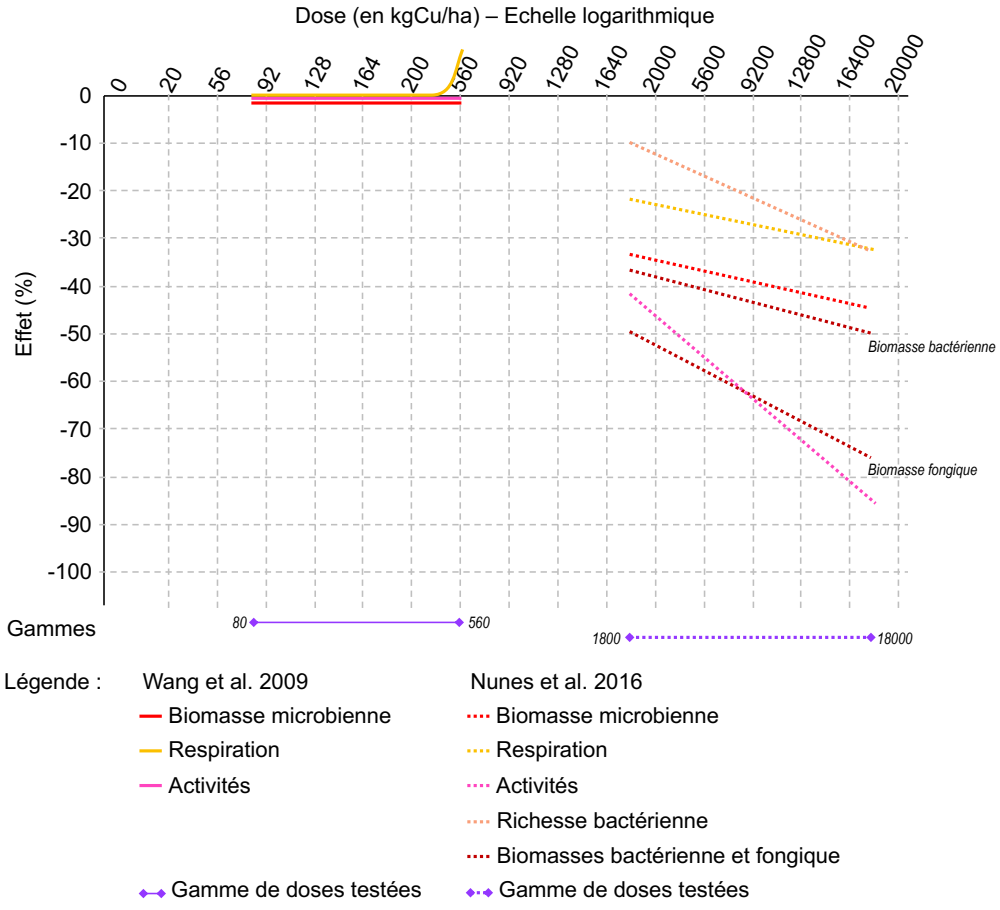


Figure 36 : Schéma récapitulatif des impacts écotoxicologiques sur les microorganismes dus à une accumulation de cuivre dans le sol, observés dans la littérature scientifique. Les effets sont donnés en % du témoin à faible teneur en cuivre. Les teneurs en cuivre dans le sol sont exprimées en kg/ha.

Les 2 études mettent en évidence que les microorganismes sont essentiellement sensibles à de très fortes teneurs en cuivre dans les sols, au-delà de 600 kg/ha. En France, les sols viticoles contiennent en moyenne 256 kgCu/ha, et même si certains sont contaminés à des valeurs comprises entre 2000 et 4000 kg/ha, ils représentent une minorité. Le risque pour les communautés microbiennes dans les sols viticoles de France est donc relativement faible.

Impact sur les collemboles

Une seule étude renseigne l'effet de la teneur en cuivre du sol sur les paramètres biologiques d'une population de collemboles de l'espèce *Folsomia fimetaria* (Scott-Fordsmand et al., 2000). L'expérience est menée sur un sol danois avec un historique de contamination industrielle pendant 13 ans suivi de 73 ans d'utilisation agricole et d'une mise en jachère. La parcelle se caractérise par un gradient de teneur en cuivre de 60 à 11 648 kg/ha. La réponse des collemboles a été mesurée en termes de survie, de reproduction, d'abondance et de taille des individus adultes et juvéniles. Malgré les teneurs élevées, aucun changement significatif n'a été observé sur les collemboles, quel que soit le paramètre mesuré et la dose appliquée.

7. Synthèse et discussion

7.1 Synthèse des connaissances en vignes/hors vignes

Afin de répondre de façon objective à la question de l'impact écotoxicologique de l'apport de cuivre sur la biodiversité des sols viticoles, il a été effectué une recherche systématique de la littérature scientifique académique disponible. Les études répondant à la question en contexte viticole étant peu nombreuses, le champ des investigations a été ouvert aux autres contextes agricoles. Cette seconde recherche n'a pas été faite selon une méthode systématique et n'est donc pas totalement exhaustive (principalement concernant les microorganismes), puisqu'elle a pour objectif principal d'apporter un complément d'information sur l'impact écotoxicologique du cuivre dans des contextes proches de celui initialement recherché. Le bilan de nos recherches et de l'analyse de l'ensemble des articles scientifiques réunis repose sur 19 articles : 14 répondent à la question de l'effet dose sur la biodiversité du sol, 4 répondent à la question de l'effet teneur en cuivre accumulé dans le sol sur la biodiversité et 1 répond aux 2 questions. L'effet dose est quasi-systématiquement investigué en apportant la dose totale de cuivre en une seule fois, donc la réponse mesurée correspond à celle d'une exposition aigüe. L'effet teneur en cuivre accumulé se rapproche plus d'une réponse à une exposition chronique. En réalité, l'utilisation des fongicides cupriques en agriculture et en viticulture biologique s'effectue généralement par de petites doses apportées à plusieurs reprises sur la saison, ce qui correspond à une exposition chronique. Comme précédemment détaillé (Figure 25), une contamination aigüe induit une réponse plus intense qu'une exposition chronique, et réduit les possibilités d'adaptation progressive et de résilience des communautés d'organismes.

Les articles qui testent l'effet de la dose de cuivre apportent des informations sur le patrimoine et le fonctionnement biologique des sols mais aucun ne renseigne sur leur état sanitaire (présence de pathogènes/parasites) (Tableau 2a). La réponse biologique est mesurée à l'échelle de la communauté pour les microorganismes et les nématodes et à l'échelle de la population pour les collemboles, les enchytrées et les vers de terre. Le patrimoine biologique est généralement renseigné en termes de biomasse, et rarement en termes d'abondance et de diversité. Le fonctionnement biologique est généralement évalué par des mesures de reproduction ou d'activité et dans certains cas par des abondances relatives de groupes écologiques et des indices du fonctionnement des communautés. Les articles qui étudient l'effet de la teneur en cuivre accumulé dans le sol apportent principalement des informations sur le fonctionnement des communautés microbiennes avec des mesures d'activités (Tableau 2b).

La synthèse des 19 articles montre que les doses étudiées se répartissent le long d'un gradient allant de 2.8 kg/ha/an à 20 000 kg/ha/an. La plupart des études reposent sur des gradients commençant à 200 kg/ha, soit 30 à 50 fois la dose autorisée en viticulture biologique depuis les années 2000 (Figure 4) et rares sont les études testant des doses inférieures à 20 kg/ha/an. Dans ces conditions expérimentales, la qualité biologique des

sols n'est affectée qu'à partir de 200 kg/ha/an de cuivre apporté (Figure 37). Alors que les nématodes semblent ne pas être impactés par une exposition au cuivre même à des doses très élevées, les vers de terre sont les plus sensibles. L'accumulation de cuivre dans le sol a un effet à partir de 200 kg/ha/an (soit 50 mg/kg) mais peu de groupes biologiques sont renseignés. Alors que les microorganismes sont affectés à ces teneurs, les collemboles ne sont pas impactés par le cuivre.

Tableau 2 : Bilan du nombre d'articles renseignant l'impact écotoxicologique du cuivre sur la qualité biologique du sol selon le contexte, le groupe biologique et le type d'information (Patrimoine, Fonctionnement, Etat de santé) : a- dans le cas d'une dose apportée correspondant à une exposition aigüe, b- dans le cas d'une accumulation dans le sol correspondant à une exposition chronique.

a.

Groupes biologiques	Echelle des observations	Patrimoine biologique		Fonctionnement biologique		Etat de sanitaire	
		Contexte viticole	Contexte agricole	Contexte viticole	Contexte agricole	Contexte viticole	Contexte agricole
Microorganismes	Communauté		6	2	4		
Nématodes	Communauté		3		2		
Collemboles	Population		1		2		
Enchytrées	Population		1	1	2		
Vers de terre	Population		3		3		

b.

Groupes biologiques	Echelle des observations	Patrimoine biologique		Fonctionnement biologique		Etat sanitaire	
		Contexte viticole	Contexte agricole	Contexte viticole	Contexte agricole	Contexte viticole	Contexte agricole
Microorganismes	Communauté		2	2	2		
Nématodes	Communauté						
Collemboles	Population				1		
Enchytrées	Population						
Vers de terre	Population						

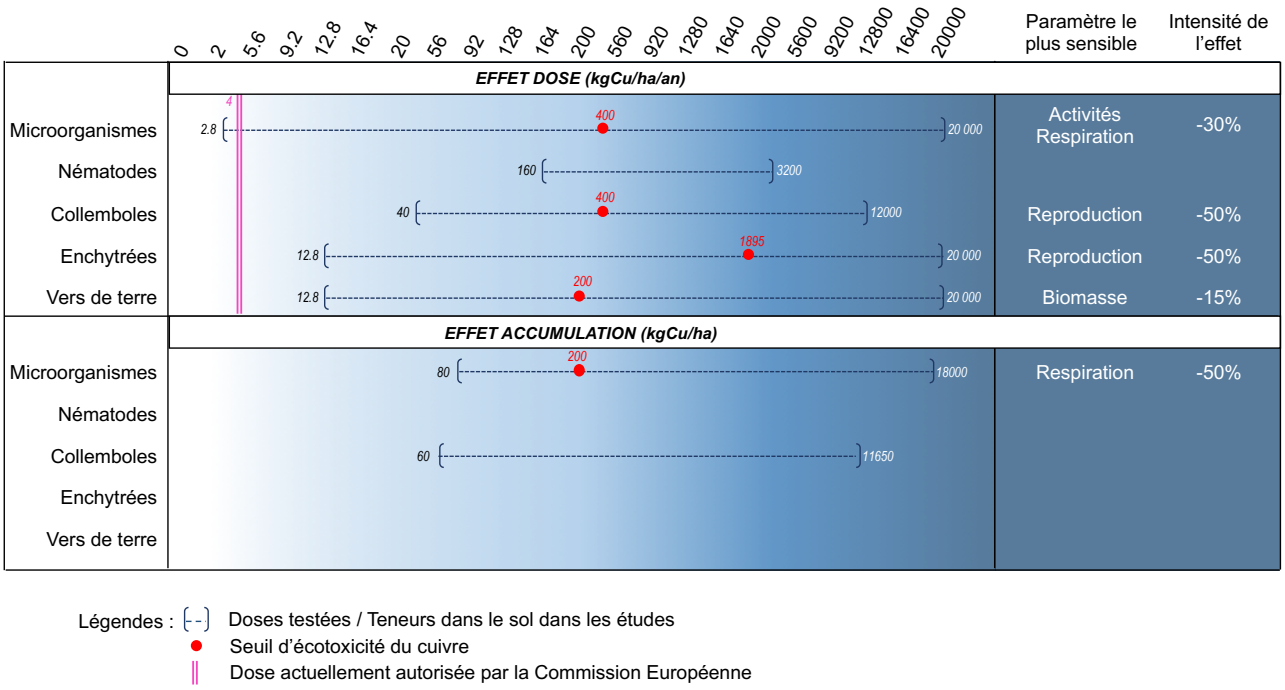


Figure 37 : Synthèse des doses et des teneurs en cuivre testées dans la littérature scientifique académique et des doses minimales pour lesquelles des effets délétères ont été observés sur le paramètre biologique le plus sensible pour chaque groupe biologique du sol.

7.2 Comment l'EFSA a-t-elle pu statuer sur une dose limite de 4 kg/ha/an ?

Le dernier rapport de l'EFSA en 2018 repose sur la synthèse de la littérature datant de 2008 à 2014, la synthèse présentée dans l'annexe du rapport de 2013 et sur des expérimentations initiées au début des années 2000 par la TaskForce Cuivre de l'Europe (EUCuTF). Il semblerait que depuis 2014, aucune nouvelle donnée ne soit venue étayer les conclusions. Les annexes complètes du rapport rendent compte des doses pour lesquelles des effets ont été observés ou non sur les oiseaux, les vertébrés terrestres, les organismes aquatiques, les abeilles, les arthropodes terrestres, les vers de terre et les autres organismes vivants dans le sol. Les données issues de la littérature proviennent de 125 articles datant de 2005 à 2014 et portant sur l'ensemble des organismes cités précédemment. Ces articles ne se situent pas uniquement dans un contexte agricole et rapportent également des résultats en milieu industriel, en milieu aquatique, ou encore d'expérimentations en laboratoire découplées de tout contexte. Il paraît cohérent que dans la présente synthèse, moins d'une vingtaine d'articles aient été identifiés étant donné qu'elle se focalise sur les organismes du sol en contexte viticole et agricole. De leur côté, les résultats d'expérimentations menées par la TaskForce n'ont pas fait l'objet de publications dans des revues scientifiques académiques. Cela limite leur accès, leur diffusion et leur exploitation, ce qui explique qu'ils n'aient pas été intégrés à la présente synthèse. Néanmoins, ces résultats ont dans certains cas fait l'objet d'une évaluation par des experts indépendants, validant leur robustesse et leur objectivité scientifique. Ils sont donc susceptibles d'apporter des éclaircissements supplémentaires sur les législations en place.

L'EFSA stipule qu' « *une question est considérée comme un sujet de préoccupation critique lorsque les informations disponibles sont suffisantes pour procéder à une évaluation des utilisations représentatives conformément à l'annexe VI de la directive 91/414/CEE, et lorsque cette évaluation ne permet pas de conclure que, pour au moins une des utilisations représentatives, on peut s'attendre à ce qu'un produit phytopharmaceutique contenant la substance active n'ait aucun effet nocif sur la santé humaine ou animale ou sur les eaux souterraines, ni aucune influence inacceptable sur l'environnement*». A ce titre, l'autorité sanitaire estime que l'utilisation de fongicides cupriques constitue un risque élevé à long terme pour les oiseaux, les mammifères, et les vers de terre et un risque élevé pour les organismes aquatiques et les abeilles. Le seuil de 4 kg/ha/an a été fixé sur la base d'une étude allemande menée par Olaf Klein. Dans cette étude, les vers de terre ont été suivis dans de 2 prairies différentes, traitées avec 3 doses différentes (4, 8 et 40 kg/ha/an) pendant 10 ans à raison de 3 applications par an (Tableau 3). Les conditions expérimentales de cette étude sont assez proches des conditions réelles d'application par les viticulteurs, à l'exception du fait qu'il s'agit de sols prairiaux n'ayant jamais reçu de cuivre précédemment. Les résultats montrent qu'à une dose de 4 et de 8 kgCu/ha/an, une réduction de l'abondance et de la biomasse totale des vers de terre est observée certaines années seulement. Cet effet ne perdure pas dans le temps, laissant penser à un effet ponctuel en lien avec le climat ou les conditions d'échantillonnage. En revanche, à 40 kgCu/ha/an, l'exposition chronique induit une perte significative de biomasse et d'abondance des vers de terre au bout de 3 ans et cible majoritairement les vers de terre endogés. Cet impact écotoxicologique se maintient à long terme pour les 2 sites étudiés, même si après 8 ans, il semblerait que les communautés lombriciennes commencent à être résiliente, principalement en termes de biomasse. Les auteurs de l'étude, ainsi que les 3 experts indépendants ayant évalué ces travaux, en ont donc conclu que la dose de 8 kg/ha/an n'induisait aucun effet observable pour des sols de prairies de ce type.

L'Etat membre rapporteur (la France) a considéré que les effets observés ponctuellement à certaines dates, estimés comme non pertinents par les experts, doivent être pris en compte dans l'évaluation. La dose maximum n'induisant pas d'effet néfaste (NOEC pour *No Observed Effect Concentration*) a ainsi été estimée à 4 kg/ha de substance active pour tenir compte des effets « transitoires » sur l'abondance et la biomasse des vers de terre (Tableau 3). Malgré les résultats scientifiques, l'EFSA a conclu à un risque faible pour l'utilisation sur la vigne uniquement jusqu'à une dose d'application de 3.75 kg/ha/an seulement, pour tous les composés du cuivre (EFSA 2018). Alors que l'ensemble du processus d'évaluation mis en place par l'Europe est empreinte d'objectivité et de rigueur scientifique, il semblerait que ces principes pourtant essentiels n'aient pas été appliqués pour forger la décision finale.

Pour les autres organismes du sol, et en particulier les microorganismes, aucun effet n'a pu être démontré à des doses similaires, que ce soit dans la littérature scientifique ou dans l'ensemble des expérimentations mises en place par la TaskForce (Draft Renewal Assessment Report prepared according to the Commission Regulation (EU) N° 1107/2009, Copper Compounds Volume 3 – B.9 (AS), page 508-535). La vulnérabilité des organismes du sol et donc le risque associé à l'application de fongicides cupriques ne sont aujourd'hui

validés que dans des conditions expérimentales peu réalistes : des doses beaucoup plus importantes que celles appliquées par les viticulteurs depuis le début des années 2000, avec une seule application, dans des sols sans historiques de cuivre et des évaluations à court-terme.

La synthèse présentée ici est en concordance avec la majeure partie des résultats présentés par l'EFSA, à l'exception des expérimentations à son initiative qui n'ont pu être inclues dans l'analyse. La principale conclusion est que la plupart des études concernant les organismes du sol portent sur des gammes de doses supérieures à 50 kgCu/ha/an appliquées dans des conditions expérimentales orthogonales aux conditions d'application par la profession agri/viticole. Étant donné ces lacunes dans les données disponibles, les observations effectuées sur les vers de terre dans des sols spécifiques ont été extrapolées pour statuer sur un haut niveau de risque environnemental.

Tableau 3 : Réductions significatives de l'abondance totale des vers de terre aux deux sites étudiés par Klein et al, 2015. Source: Draft Renewal Assessment Report prepared according to the Commission Regulation (EU) N° 1107/2009, Copper Compounds Volume 3 – B.9 (AS) page 419 Tableau 8.4.1/02-2.

Reductions[a)] in total earthworm abundance in %							
		4 kg Copper/ha/year		**8 kg Copper/ha/year**		**40 kg Copper/ha/year**	
Year	**Sampling**	**Niefern**	**Heiligen-zimmern**	**Niefern**	**Heiligen-zimmern**	**Niefern**	**Heiligen-zimmern**
2003	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
2004	3	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
2005	6	-	-	-	-	-	-
	7	-	-	-	-	34.5*	27.8 [P]
	8	-	0.0 [P]	-	13.4 [P]	-	45.9* [P]
2006	9	-	-	-	-	-	24.8 [P]
	10	-	-	-	-	57.6* [T P]	43.3* [P]
	11	-	-	-	-	64.9* [T P]	50.4* [P]
2007	12	-	19.1 [P]	-	22.8* [P]	64.1* [T P]	48.2* [P]
	13	-	-	-	-	69.6* [T P]	83.7* [P]
	14	-	-	-	26.0* [P]	63.2* [T P]	85.1* [P]
2008	15	-	-	-	-	76.4* [T P]	65.1* [P]
	16	-	-	-	-	71.3* [T]	62.0* [P]
	17	-	-	-	-	74.3* [T P]	65.6* [P]
2009	18	-	-	-	-	65.1 [T P]	62.9* [P]
	19	25.1* [P]	-	-	-	82.8* [T P]	81.4* [P]
2010	20	-	-	-	-	76.8* [T P]	78.0* [P]
	21	-	-	-	-	49.8* [P]	27.9 [P]
2011	22	-	-	-	-	53.9* [P]	65.1* [P]
	23	-	-	-	-	52.0* [P]	56.9* [P]
2012	24	-	-	-	-	39.5* [P]	63.0* [P]
	25	-	-	-	-		40.9* [P]
2013	26	-	-	-	-	41.0* [P]	51.8* [P]

[a)] significant reduction observed on earthworm abundance. [*] with ANOVA and Dunnett's T-test (based on pre-treatment repl. unadjusted/adjusted values; $p \leq 0.05$). [T] with LMM procedure and Tukey test (based on pre-treatment repl. unadjusted/adjusted values; $p \leq 0.05$), significant reductions observed with LMM procedure and LSD test were not considered here due to the high probability of type 1 errors. [P] with PRC analysis. - no significant reduction observed with neither procedure or test.

7.3 Peut-on réellement conclure sur l'impact écotoxicologique du cuivre sur la qualité biologique des sols agricoles et viticoles ?

Si dans la plupart des cas, les doses étudiées sont très élevées, c'est parce que ce sont celles qui permettent de mettre en évidence un risque écotoxicologique sur les organismes. Les rares études en laboratoire incluant des doses assez faibles pour être réalistes (i.e. dans la gamme utilisée aujourd'hui en viticulture biologique) ne mettent pas en évidence d'effets toxiques observables. Dans la littérature académique, les expérimentations *in situ* sont encore plus rares, alors qu'elles sont indispensables pour mesurer le risque réel. En effet, les interactions entre le cuivre, le sol, le climat, les pratiques viticoles et la biodiversité du sol sont complexes et leur simplification extrême lors des expérimentations en laboratoire ne permet pas d'évaluer de façon adéquate l'impact écotoxicologique du cuivre. A ce titre, l'étude menée par O. Klein (2003-2013) est la plus pertinente mais elle nécessite d'être reproduite sur d'autres types de sol et en contexte viticole. Les données disponibles suggèrent un risque pour la biodiversité du sol à partir de 40 kgCu/ha après 3 ans d'application (soient après 120 kg/ha) mais cela reste à confirmer pour des sols viticoles.

Le présent travail de synthèse met en évidence que, sur la base de la littérature scientifique académique actuellement disponible, il est impossible de conclure objectivement à un impact écotoxicologique des fongicides cupriques appliqués à une dose de 4 kg/ha/an sur la qualité biologique des sols viticoles.

8. Quelles pistes pour les recherches futures ?

8.1 Les lacunes à combler

Chaque étape de ce travail de synthèse a mis en évidence des lacunes significatives pour répondre à la problématique posée. Ces lacunes sont telles qu'elles amènent à la conclusion qu'aucune étude existante n'y répond de façon totalement pertinente.

La première grosse lacune scientifique concerne les doses investiguées. Alors que l'heure est à la limitation des doses autorisées en usage agricole et viticole, les plus récentes études travaillent encore avec des gammes de doses dépassant 400 kgCu/ha (Vazquez-Blanco et al., 2020) et atteignant 20 000 kg/ha (Bart et al., 2017). L'enjeu du cuivre dépasse les frontières de la recherche, et même si le choix d'étudier de telles doses assurent de voir des effets, il est indispensable de repenser les stratégies expérimentales pour répondre aux besoins des politiques environnementales.

La seconde lacune scientifique remarquable est le décalage entre les pratiques d'application de cuivre au terrain par les viticulteurs (dose apportée en plusieurs fois correspondant à une exposition chronique), et celle mise en œuvre dans les études (expérimentations en laboratoire, dose appliquée en une seule fois correspondant à une exposition aigüe). Ici encore, l'objectif est de répondre à la question du risque écologique réellement encouru si l'utilisation du cuivre comme fongicide en vignes n'est pas réglementé. Or les conditions expérimentales ne permettent que très rarement d'extrapoler les résultats obtenus à une situation réelle. Le nombre de passages, le couvert végétal du sol, l'historique d'utilisation du sol, les pratiques viticoles autres que le traitement au cuivre et le climat sont autant de paramètres susceptibles de moduler ou d'accentuer l'effet d'une exposition au cuivre. Par exemple, Ranjard et al. (2006) mettent en évidence qu'un apport de cuivre de 48 kg/ha a un impact relativement moins important sur les microorganismes qu'une période de sécheresse comme celles qui se répètent depuis plusieurs années maintenant.

La troisième lacune scientifique concerne la représentativité des groupes biologiques étudiés dans la littérature. Les microorganismes sont les plus étudiés alors qu'ils semblent être les moins vulnérables. En revanche, la faune du sol est peu renseignée, voire pas du tout pour certains groupes. Aucune étude n'existe sur les macroarthropodes (araignées, carabes, etc), et trop peu sur les microarthropodes (collemboles, acariens) et sur la nématofaune pour conclure de façon robuste quant à leur vulnérabilité au cuivre. Quel que soit le groupe biologique, la biomasse est le principal paramètre mesuré. Bien que cela permette de comparer la sensibilité des différents organismes, il n'est pas suffisant pour évaluer la réponse écotoxicologique globale du sol. Il est également nécessaire de renseigner la réponse des communautés biologiques en termes de diversité (nombre

d'espèces) et de fonctionnement pour relier l'impact du cuivre à une perte de fonctionnement biologique du sol.

La quatrième lacune scientifique porte sur la dimension temporelle des études. Les paramètres biologiques sont le plus souvent mesurés à court terme (100 jours au maximum) et rarement à long terme. Or, la capacité d'adaptation et de résilience des organismes est un facteur à ne pas négliger dans le cas d'une contamination chronique. Une résilience a d'ores-et-déjà été observée chez différents organismes et peut s'exprimer après plusieurs mois seulement (Ranjard et al., 2006 ; Vazquez-Blanco et al., 2020).

Enfin, il est indispensable de multiplier les études à travers les différents territoires viticoles du monde pour établir des conclusions génériques, c'est-à-dire indépendantes d'un contexte pédo-climatique et expérimental donné. D'un point de vue scientifique, une seule étude constitue un soupçon mais la méta-analyse d'une multitude d'études constitue un argument peu réfutable.

8.2 Quelles solutions pour combler ces lacunes ?

Produire des connaissances exploitables demande d'identifier clairement la problématique et les lacunes à combler. Il s'agit d'un des résultats majeurs de cette synthèse : l'ensemble des articles analysés sont scientifiquement robustes mais peu d'entre eux répondent à la question posée par la profession viticole et agricole plus largement. Dans les faits, très peu de chercheurs se sont posés la question de l'effet dose du cuivre, prenant comme fait établi que cet élément minéral a un impact négatif. Or en l'absence de démonstration, cette assomption reste une hypothèse. La démonstration scientifique peut s'effectuer selon 3 approches complémentaires (Figure 38), détaillées ci-après.

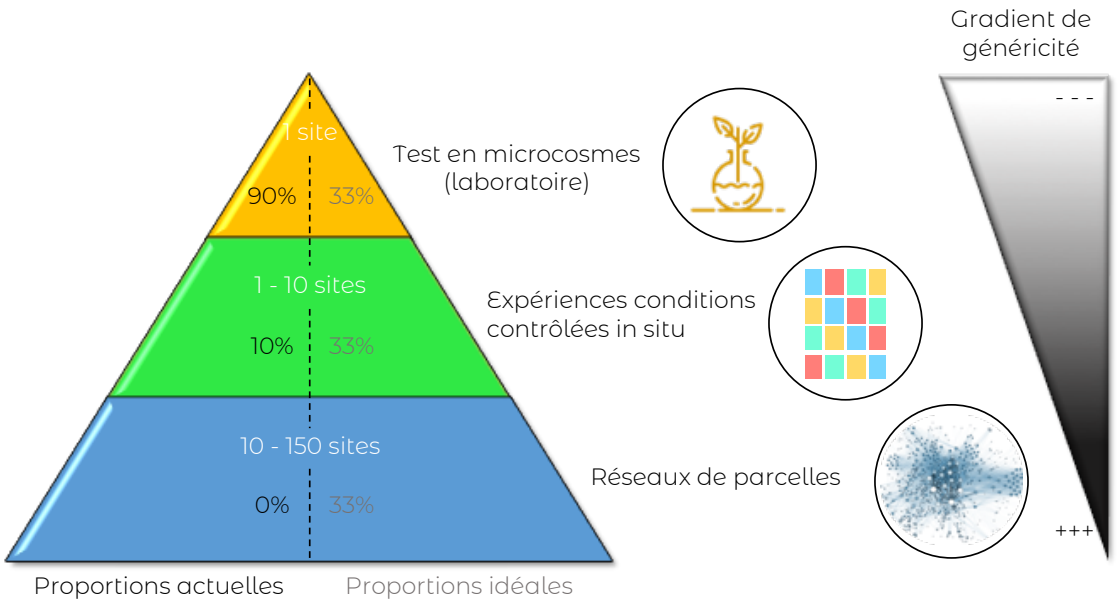


Figure 38 : Schéma présentant 3 approches expérimentales complémentaires permettant d'évaluer l'impact écotoxicologique du cuivre

8.2.1 Des approches en microcosmes plus réalistes

La recherche en écotoxicologie est un domaine très cadré. Les expérimentations ont lieu en laboratoire, dans des microcosmes en conditions contrôlées et elles reposent généralement sur des normes très précises encadrées par l'OCDE, que cela soit pour les prélèvements, l'élevage ou la culture des organismes et les tests écotoxicologiques eux-mêmes. Même si ce type d'approche s'éloigne de la réalité de l'agroécosystème, il renseigne sur le risque potentiel en cas d'exposition. De plus, il facilite la mesure de certains paramètres biologiques qui sont difficilement accessibles par des approches de terrain (par exemple la reproduction des organismes). L'objectif étant de mettre en évidence un risque, les conditions expérimentales sont choisies dans ce sens. Dans le contexte de la réglementation du cuivre, ces approches écotoxicologiques doivent être plus proches de l'utilisation réelle des fongicides cupriques par les viticulteurs pour être pertinentes et réellement informatives. Les quatre aspects détaillés dans le Tableau 4 doivent principalement être pris en compte.

Tableau 4 : Conditions expérimentales appliquées à ce jour avec celles qui devraient être appliquées pour statuer sur l'impact écotoxicologique du cuivre dans les conditions actuelles d'utilisation par les viticulteurs

Critères	Conditions expérimentales choisies dans les études jusqu'à ce jour	Conditions expérimentales à appliquer dans le contexte actuel pour répondre à la question posée
Dose	Généralement >200 kg/ha	Entre 2 et 32 kg/ha soit 0.5 à 8 mg/kg en laboratoire (calculé pour un sol de densité 1.3 sur une profondeur de labour de 30 cm)
Type d'exposition	Aigüe : directe, en 1 fois	Chronique : 4 à 12 fois sur 3 mois, répétée sur plusieurs années
Echelle temporelle de l'évaluation	Court-terme : < 100 jours	Court, moyen et long termes : quelques jours à plusieurs années
Type de sol	1 ou 2 types de sol, généralement sans historique de contamination	Sols sans historique de contamination au cuivre + Sols avec contamination plus ou moins marquée

Actuellement, la littérature scientifique académique ne présente aucune expérimentation dans ces conditions et de tels résultats représenteraient une avancée majeure sur la question de l'impact écotoxicologique du cuivre.

8.2.2 Vers des sites dédiés à des approches à long terme

La plupart des résultats obtenus dans la littérature académique est basée sur des expérimentations en microcosme, loin de la réalité du terrain. Deux types d'approche expérimentale en lien avec le terrain peuvent être mises en place.

Tout d'abord des approches factorielles peuvent être menées sur des sites expérimentaux. L'intérêt de ce type d'approche est qu'il donne une réponse claire et sans équivoque sur l'impact du cuivre, l'ensemble des autres paramètres environnementaux et des pratiques viticoles étant les mêmes. Ce genre de dispositif demande une mise en œuvre technique et financière lourde et constitue une source de contraintes pour le viticulteur. De plus il

apporte des conclusions propres au site d'étude considéré. Pour que cette approche produise des résultats génériques, elle doit être répliquée sur un nombre conséquent de sites ciblant des pédo-climats variés.

Lors de ce travail de synthèse, il a été montré que de nombreux articles abordent la question du cuivre en milieu viticole ou la thématique de la qualité biologique des sols très indirectement. Pour pallier à ces lacunes, il est nécessaire de développer des dispositifs expérimentaux de terrain spécifiquement dédiés à la biologie des sols, et ceci dans différents territoires viticoles afin de capter l'hétérogénéité environnementale et agronomique de chaque région de production. Ces sites doivent être mis en place sur du moyen ou long terme car la dynamique des populations d'organismes, même si elle peut être rapide et réactive à des changements de pratiques à court terme, se structure et se stabilise souvent à des échelles de temps plus longues. Une telle approche permettrait aussi de relativiser l'impact du cuivre au regard des aléas climatiques annuels. Enfin, le long terme peut aussi permettre d'intégrer les historiques des modes de production et les changements climatiques dans l'évaluation de l'impact écotoxicologique du cuivre sur la qualité biologique des sols viticoles.

8.2.3 Au plus près des viticulteurs

Depuis une dizaine d'années de nouvelles approches plus « participatives » et intégrant plus directement les viticulteurs et leurs parcelles se sont développées et notamment pour aborder la biologie des sols et l'impact des pratiques agricoles. Le projet AgrInnov (CASDAR 2010-2015) et plus récemment EcoVitiSol (AFB 2019-2022) sont basés sur ces approches et ont mis en place des réseaux de viticulteurs et donc de parcelles à une échelle nationale (300 en tout à ce jour). Ces réseaux de parcelles présentent l'avantage d'être au plus près des pratiques des viticulteurs mais aussi de capter toute l'hétérogénéité environnementale et agronomique d'un système de production. Plus qu'un effet dose, un tel réseau peut permettre d'évaluer l'effet du nombre de passage, du type de molécules utilisé, de l'historique d'utilisation des fongicides cupriques. Lorsque des tendances sur l'impact du cuivre seront identifiées, le résultat sera générique et robuste. Au-delà d'une expérimentation scientifique, ces approches participatives contribuent également à sensibiliser plus directement les viticulteurs aux problématiques environnementales et même à les former pour les rendre *a minima* autonome sur le sujet. En retour, la recherche accède à des informations jusque-là inaccessibles, ceci sans investissement financier lourd en comparaison de la mise en place de sites expérimentaux. Toutefois, ce type d'approche nécessite quelques prérequis comme la mise en place et l'animation de réseaux de viticulteurs prêts à s'investir, la construction d'un module de communication/formation des viticulteurs à la thématique abordée, l'élaboration d'enquêtes, de leur diffusion et de leur référencement pour avoir accès aux pratiques et à leur historique. Il faut donc combiner des outils de sociologie à ceux nécessaires à la thématique abordée. De plus, ces réseaux doivent compter un nombre suffisant de parcelles, dont l'ampleur dépend de l'hétérogénéité à capter, afin d'avoir des résultats robustes et génériques sur l'impact des pratiques. Le maintien dans le temps de ces réseaux et donc de l'intérêt des viticulteurs est aussi un challenge de ce genre d'approche pour que l'investissement initial ne soit pas trop éphémère.

8.2.4 Des outils de recherche aux bioindicateurs opérationnels

Depuis une vingtaine d'années, la recherche a fortement investi dans le développement d'outils capables de caractériser tous les organismes vivants dans le sol. Désormais il est possible d'aborder toute la biodiversité d'un sol et la production de connaissances sur ce sujet est en croissance exponentielle depuis une dizaine d'années. Toutefois, il est nécessaire aujourd'hui, que les outils développés par la recherche soient exploitables comme des indicateurs opérationnels au service de problématiques comme celle du cuivre. Pour cela ils doivent répondre aux différents critères d'un indicateur :

- Être mesurés par une technique standardisée et utilisable en routine,
- Disposer d'un référentiel d'interprétation pour ne pas être opérateur/expert dépendant,
- Être sensibles aux pratiques,
- Être facilement interprétables notamment par des profanes.

Ces 4 conditions sont *sine qua none* pour qu'un indicateur puisse alimenter un diagnostic écologique robuste et sensible.

A ce jour, un certain nombre de paramètres et d'organismes biologiques sont déjà validés comme des indicateurs potentiels de la qualité des sols et sont utilisés dans ce contexte (ADEME 2017) :

- Abondance et indices nématodes *in situ*, NF EN ISO 23611-4.
- Abondance totale, biomasse et abondances des groupes écologiques de vers de terre *in situ*, Norme ISO 23566-1. Référentiel en cours de constitution (RMBS).
- Activités enzymatiques microbiennes, Normes ISO 16072 : 2002 et DIN 19 737(N. Cheviron, INRAE). Référentiel en cours de constitution (RMBS).
- Biomasse microbienne par méthode moléculaire, Normes ISO-TC-90-SC4-WG4N119.
- Richesse bactérienne, richesse fongique, ratio champignon/bactérie. Référentiels richesse fongique et ratio champignon/bactérie en cours de finalisation.

Bien que l'abondance et la richesse des micro-arthropodes (acariens et collemboles) soient considérées comme des indicateurs de la qualité biologique des sols, les mesures ne sont pas standardisées et restent dépendantes d'un expert puisque l'interprétation ne dispose pas de référentiel.
Indépendamment de l'ADEME, le ministère de l'écologie via l'Observatoire National de la Biodiversité a référencé aussi différents indicateurs de la qualité biologique des sols à l'échelle nationale. Il s'agit de l'abondance et de la diversité des vers terre, de la biomasse moléculaire microbienne et de la diversité microbienne (http://indicateurs-biodiversite.naturefrance.fr/fr/indicateurs/tous).

Certains de ces indicateurs ont déjà été mis au service des sols viticoles (projet AgrInnov, CASDAR 2010-2015) et ont fait la preuve de leur pertinence pour la recherche académique et pour les viticulteurs, qui se sont trouvés pour la 1ère fois en mesure d'apprécier la qualité biologique de leurs sols et l'impact de leurs pratiques. Ces indicateurs sont donc appropriés pour déterminer clairement la vulnérabilité des communautés biologiques des sols viticoles à l'utilisation de fongicides cupriques dans le cadre d'approche de terrain.

9. Références bibliographiques

ADEME, 2007. Bilan des flux de contaminants entrant sur les sols agricoles de France métropolitaine : Bilan qualitatif de la contamination par les éléments traces métalliques et les composés traces organiques et application quantitative pour les éléments traces métalliques. 211p.

Agreste, 2012. Pratiques phytosanitaires dans la viticulture en 2010 : Fortes disparités de protection contre l'oïdium et le mildiou. Agreste Primeur 289

Agreste, 2016. Pratiques culturales en viticulture en 2013 : Réduire la dose, une pratique répandue pour les traitements fongicides. Agreste Primeur 343

Amorim M.J. de B., Römbke J., Schallnaß H., & Soares A.M.V.M., 2005. Effect of Soil Properties and Aging on the Toxicity of Copper for Enchytraeus albidus, Enchytraeus luxuriosus and Folsomia candida. Environmental Toxicology and Chemistry, 24(8) : 1875–1885.

Andreazza R., Okeke B.C., Pieniz S., & Camargo F.A.O., 2012a. Characterization of copper-resistant rhizosphere bacteria from Avena sativa and plantago lanceolata for copper bioreduction and biosorption. Biological Trace Element Research, 146(1) : 107–115. https://doi.org/10.1007/s12011-011-9228-1

Andreazza R., Okeke B.C., Pieniz S., Bortolon L., Lambais M.R., & Camargo F.A.O., 2012. Effects of stimulation of copper bioleaching on microbial community in vineyard soil and copper mining waste. Biological Trace Element Research, 146(1) : 124–133. https://doi.org/10.1007/s12011-011-9213-8

Arias M., Lopez E., Soto B., 2005. Copper distribution and fractionation in aggregate fractions from vineyard soils: comparison with zinc. Agrochimica, 49 : 60-69

Baize D., 1994. Teneurs totales en métaux lourds dans les sols français. Courrier de l'environnement de l'INRA, 22 : 37-46

Baker D.E., Senft J.P., 1995. Copper. Heavy metals in soils. Ed. Alloway, 2nd Edition, Blackie academic and professional, 368 p.

Bart S., Laurent C., Péry A.R.R., Mougin C., & Pelosi C., 2017. Differences in sensitivity between earthworms and enchytraeids exposed to two commercial fungicides. Ecotoxicology and Environmental Safety, 140(November 2016) : 177–184. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.052

Beni C., Rossi G., 2009. Conventional and organic farming: Estimation of some effects on soil, copper accumulation and wine in a central italy vineyard. Agrochimica, 53 : 147-159

Bogomolov D.M., Chen S., Parmelee R.W., Subler S., & Edwards C.A.,1996. An ecosystem approach to soil toxicity testing : a study of copper contamination in laboratory soil microcosms. Applied Soil Ecology, 1393(96) : 95-105

Bourrelier P.H., Berthelin J., 1998. Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion. Académie des Sciences, rapport 42, Lavoisier Tec et Doc., 440p.

Branas J., 1984. Histoire et fonction du cuivre dans la viticulture de qualité. Le Progrès Agricole et Viticole, 22 : 521-523

Bravin M., 2008. Processus rhizospheriques déterminant la biodisponibilité du cuivre pour le blé dur cultivé en sols à antécédent viticole. Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques, MontpellierSupAgro, 203 p.

Bressan M., Mougel C., Dequiedt S., Maron P.-A., Lemanceau P., Ranjard L., 2008. Response of soil bacterial community structure to successive perturbations of different types annd intensities. Environmental Microbiology, 10 (8) : 2184-2187. https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01641.x

Brun L.A., Maillet J., Hinsinger P., Pépin M., 2001. Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. Environmental Pollution, 111, p. 293-302.

Brunetto G., Comin J.J., Miotto A., Pires de Moraes, M., Sete P.B, Schmitt D.E., Gatiboni L.C., Bastos de Melo G.M., Morais G.P., 2018. Copperr and zinc accumulation, fractionation and migration in vineyard soils from Santa Catarina State, Brazil. Soil and Plant Nutrition, 77 : 141-151

Cetois A., Quesnoit M., Hinsinger P., 2003. Soil copper mobility and availability : A review. INRA- Agro M. 110 p.

Celardin F., Trouillet C., Tisiot R., 2003. pH dependence of copper adsorption in vineyard soils of Geneva. Environ Chem Lett 1 : 225–7.

Chemnitz C., Weigelt J., 2016. L'atlas des sols. Faits et chiffres sur la terre, les sols et les champs. Heinrich Böll Stiftung. IASS Potsdam.

Chopin E.I.B., Marin B., Mkoungafoko R., Rigaux A., Hopgood M.J., Delannoy E., Cancès B., Laurain M., 2008. Factors affecting distribution and mobility of trace elements (Cu, Pb, Zn) in a perennial grapevine (Vitis vinifera L.) in the Champagne region of France. Environmental Pollution, 156, p. 1092-1098.

Clemens S., 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. Planta, 212 : 475-486

Coïc Y., Coppenet M., 1989. Les oligo-éléments en agriculture et élevage. INRA éditions, Paris. ISBN 2-7380-0138-6. 114 p.

Coll P., Le Cadre E., Blanchart E., Hinsinger P., & Villenave C., 2011. Organic viticulture and soil quality: A long-term study in Southern France. Applied Soil Ecology, 50(1) : 37–44. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.07.013

Coll P., Le Cadre E., & Villenave C., 2012. How are nematode communities affected during a conversion from conventional to organic farming in southern French vineyards? Nematology, 16(PART6) : 665–676. https://doi.org/10.1163/156854112X624195

Davis R.D., Beckett P.H.T., 1978. Upper critical levels of toxic elements in plants. II. Critical levels of copper in young barley, wheat, rape, lettuce and ryegrass, and of nickel and zinc in young barley and ryegrass. New Phytologist, 80 : 23-32

Dell'Amico E., Mazzocchi M., Cavalca L., Allievi L., & Andreoni V., 2008. Assessment of bacterial community structure in a long-term copper-polluted ex-vineyard soil. Microbiological Research, 163(6) : 671–683. https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.09.003

Eijsackers H., Beneke P., Maboeta M., Louw J. P. E., Reinecke A. J., 2005. The implications of copper fungicide usage in vineyards for earthworm activity and resulting sustainable soil quality. Ecotoxicology and Environnemental Safety, 62 : 99–111. http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.2016391

Ekelund F., Olsson S., & Johansen A., 2003. Changes in the succession and diversity of protozoan and microbial populations in soil spiked with a range of copper

concentrations. Soil Biology and Biochemistry, 35(11) : 1507–1516. https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00249-9

European Food Safety Authority, 2013. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of confirmatory data submitted for the active substance Copper (I), copper (II) variants namely copper hydroxide, copper oxychloride, tribasic copper sulfate, copper (I) oxide, Bordeaux mixture. EFSA Journal, 11(6):3235, 40 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3235

European Food Safety Authority, 2018. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance copper compounds copper(I), copper(II) variants namely copper hydroxide, copper oxychloride, tribasic copper sulfate, copper(I) oxide, Bordeaux mixture. EFSA Journal, 16(1):5152, 25 pp. https://doi. org/10.2903/j.efsa.2018.5152

Fernandez-Calvino D., Novoa-Munoz J. C., Lopez-Pezperiago E., Arias-Estevez M., 2008. Changes in copper content and distribution in young old and abandoned vineyard acid soil due to land use changes. Land Degradation & Development, 19 : 165-177

Fernández-Calviño D., Nóvoa-Muñoz J. C., Díaz-Raviña M., & Arias-Estévez M., 2009. Copper accumulation and fractionation in vineyard soils from temperate humid zone (NW Iberian Peninsula). Geoderma, 153(1–2) : 119–129. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.07.024

Fernández-Calviño D., Soler-Rovira P., Polo A., Díaz-Raviña M., Arias-Estévez M., & Plaza C., 2010a. Enzyme activities in vineyard soils long-term treated with copper-based fungicides. Soil Biology and Biochemistry, 42(12) : 2119–2127. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.08.007

Fernández-Calviño D., Martín A., Arias-Estévez M., Bååth E., & Díaz-Raviña M., 2010b. Microbial community structure of vineyard soils with different pH and copper content. Applied Soil Ecology, 46(2) : 276–282. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.08.001

Fernández-Calviño D., Arias-Estévez M., Díaz-Raviña M., & Bååth E., 2011. Bacterial pollution induced community tolerance (PICT) to Cu and interactions with pH in long-term polluted vineyard soils. Soil Biology and Biochemistry, 43(11) : 2324–2331. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.08.001

Fernández-Calviño D., Arias-Estévez M., Díaz-Raviña M., & Bååth E., 2012. Assessing the effects of Cu and pH on microorganisms in highly acidic vineyard soils. European Journal of Soil Science, 63(5) : 571–578. https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2012.01489.x

Flemming C. A., & Trevors J. T., 1989. Copper toxicity and chemistry in the environment: a review. Water, Air, and Soil Pollution, 44(1–2) : 143–158. https://doi.org/10.1007/BF00228784

Frank R., Braun HE., Ishida K., Suda P., 1976. Persistent organic and inorganic pesticide residues in orchard soils and vineyards of Southern Ontario. Canadian Journal of Soil Science 56 : 463–84

Gelin S., Stengel P., 1998. Sol : Interface fragile. Ed. Quae, 222 p.

Harmsen J., Rulkens W. et Eijsackers H., 2005. Bioavailability: concept for understanding or tool for prediciting? Land Contamination & Reclamation. 13 : 161-171.

Helling B., Reinecke S.A., & Reinecke A.J., 2000. Effects of the fungicide copper oxychloride on the growth and reproduction of Eisenia fetida (Oligochaeta). Ecotoxicology and Environmental Safety, 46(1) : 108–116. https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1880

Joimel S., Corter J., Jolivet, C.C., Saby, N.P.A, Chenot, E.D., Brranchu, P., Consalès J.N., Lefort C., Morel J.L., Schwartz C., 2016. Physico-chemical characteristics of topsoil for contrasted forest, agricultural, urban and industrial land uses in France.

Karimi B., Meyer C., Gilbert D., & Bernard N., 2016. Air pollution below WHO levels decreases by 40 % the links of terrestrial microbial networks. Environmental Chemistry Letters, 14(4). https://doi.org/10.1007/s10311-016-0589-8

Karimi B., Cahurel J.-Y., Gontier L., Charlier L., Chovelon M., Mahé H. & Ranjard L., 2020. A meta-analysis of the ecotoxicological impact of viticultural practices on soil biodiversity. Environmental Chemistry Letters. https://doi.org/10.1007/s10311-020-01050-5

Kabata Pendias A., 2010. Trace elements in soils and plants. 3rd Edition, CRC Press, Boca Raton, Florida, 432 p.

Keiblinger K. M., Schneider M., Gorfer M., Paumann M., Deltedesco E., Berger H., ... Zehetner F., 2018. Assessment of Cu applications in two contrasting soils – effects on soil microbial activity and the fungal community structure. Ecotoxicology, 27(2) : 217–233. https://doi.org/10.1007/s10646-017-1888-y

Kopittke P.M., Menzies N.W., 2006. Effect of Cu toxicity on growth of cowpea (Vigna unguiculata). Plant and Soil, 279 : 287-296

Korthals G.W., Alexiev A.D., Lexmond T.M., Kammenga J.E., & Bongers T., 1996. Long-term effects of copper and pH on the nematode community in an agroecosystem. Environmental Toxicology and Chemistry, 15(6): 979–985. https://doi.org/10.1897/1551-5028(1996)015

Korthals G.W., Bongers M., Fokkema A., Dueck T.A., & Lexmond T.M., 2000. Joint toxicity of copper and zinc to a terrestrial nematode community in an acid sandy soil. Ecotoxicology, 9(3) : 219–228. https://doi.org/10.1023/A:1008950905983

Lai H.Y., Juang K.W., Chen B.C., 2010. Copper concentrations in grapevines and vineyard soils in central Taiwan. Soil Science and Plant Nutrition, 56 : 601-606.

Lair G. J., Gerzabek M. H., & Haberhauer G., 2007. Sorption of heavy metals on organic and inorganic soil constituents. Environmental Chemistry Letters, 5(1): 23–27. https://doi.org/10.1007/s10311-006-0059-9

Lasota S., Stephan I., Horn M.A., & Otto W., 2019. Copper in wood preservatives delayed wood decomposition composition and shifted soil fungal but not bacterial community composition. Applied and Envionmental Microbiology, 85(4) : 1–13.

Lejon D. P. H., Martins J. M. F., Lévêque J., Spadini L., Pascault N., Landry D., ... Ranjard L., 2008. Copper dynamics and impact on microbial communities in soils of variable organic status. Environmental Science and Technology, 42(8) : 2819–2825. https://doi.org/10.1021/es071652r

Lejon D. P. H., Pascault N., & Ranjard L., 2010. Differential copper impact on density, diversity and resistance of adapted culturable bacterial populations according to soil organic status. European Journal of Soil Biology, 46(2) : 168–174. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2009.12.002

Likar M., Stres B., Rusjan D., Potisek M., & Regvar M., 2017. Ecological and conventional viticulture gives rise to distinct fungal and bacterial microbial communities in vineyard soils. Applied Soil Ecology, 113 : 86–95. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.02.007

Liu, B., Li, Y., Gao, S., & Chen, X. (2017). Copper exposure to soil under single and repeated application: Selection for the microbial community tolerance and effects on the

dissipation of antibiotics. Journal of Hazardous Materials, 325 : 129–135. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.11.072

Loué A. 1993. Oligoéléments en agriculture. Ed. Nathan, 577 p.

Mackie K.A., Müller T., Zikeli S., & Kandeler E., 2013. Long-term copper application in an organic vineyard modifies spatial distribution of soil micro-organisms. Soil Biology and Biochemistry, 65 : 245–253. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.06.003

McBride M.B., 1981. Forms and distribution of copper in solid and solution phases of soil. Copper in soils and plants. Ed Loneragan J.F., Robson A.D. and Graham R.D., Academic Press, 25-45

Marcellin H., 1974. La vigne dans les sols acides du Roussillon. Progrès agricole et viticole, 17 : 548-555

Marschner H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second Edition, Academic Press, 889 p.

Michaud A.M., Bravin M.N., Galleguillos M., Hinsinger P., 2007. Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (Triticum turgidum durum L.) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. Plant Soil, 298 : 99-111

Mincarelli L., Tiano L., Craft J., Marcheggiani F., & Vischetti C., 2019. Evaluation of gene expression of different molecular biomarkers of stress response as an effect of copper exposure on the earthworm EIsenia Andrei. Ecotoxicology, 28(8) : 938–948. https://doi.org/10.1007/s10646-019-02093-3

Molot B., 2003. Réduction des apports cupriques en viticulture biologique : étude du lessivage foliaire sous simulateur de pluie. Dossier technique de l'Institut Technique de la Vigne et du Vin

Nunes I., Jacquiod S., Brejnrod A., Holm P.E., Johansen A., Brandt K.K., … Sørensen, S.J., 2016. Coping with copper: legacy effect of copper on potential activity of soil bacteria following a century of exposure. FEMS Microbiology Ecology, 92(11) : fiw175. https://doi.org/10.1093/femsec/fiw175

OIV – International Organization of Vine and Wine (2019) Statistical Report on World Vitiviniculture 2019

Paoletti M.G., Sommaggio D., Favretto M.R., Petruzzelli G., Pezzarossa B., & Barbafieri M., 1998. Earthworms as useful bioindicators of agroecosystem sustainability in orchards and vineyards with different inputs. Applied Soil Ecology, 10(1–2), 137–150. https://doi.org/10.1016/S0929-1393(98)00036-5

Pessanha S., Carvalho M.L., Becker M., Von Bohlen A., 2010. Quantitative determination on heavy metals in different stages of wine production by Total Reflection X-Ray Fluorescence and Energy Dispersive X-Ray Fluorescence: comparison on two vineyards. Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy 65 : 504-507

Panou-Filotheou H., Bosabalidis A.M., 2004. Root structural aspects associated with copper toxicity in oregano (Origanum vulgare subsp. Hirtum). Plant science, 166 : 1497-1504

Pietrzak U., McPhail D.C., 2004. Copper accumulation, distribution and fractionation in vineyard soils of Victoria, Australia. Geoderma, 122 : 151-166

Ranjard L., Echairi A., Nowak V., Lejon D. P. H., Nouaïm R., & Chaussod R., 2006. Field and microcosm experiments to evaluate the effects of agricultural Cu treatment on the

density and genetic structure of microbial communities in two different soils. FEMS Microbiology Ecology, 58(2) : 303–315. https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00157.x

Reuter D. J., Robinson J. B., 1997. Plant analysis: an interpretation manual. CSIRO publishing, Australia, 572 p.

Romić M., Romić D., Dolanjski D., Stričević I., 2004. Heavy metal accumulation in topsoils from the wine-growing regions. Part 1. Factors which control retention. Agric Conspec Sci., 69 : 1–10.

Romić M., Matijević L., Bakić H., Romić D., 2014. Copper accumulation in vineyard soils : Distribution, fractionation and bioavailability assessment. In Environmental risk assessment of soil contamination, p799-825. http://dx.doi.org/10.5772/57266

Rousseau J., 1995. Utilisation du cuivre en agriculture biologique. Impact sur l'environnement et perspectives de diminution des doses employées. Institut Technique de l'Agriculture Biologique, Paris, 62 p.

Ruyters S., Salaets P., Oorts K., & Smolders E., 2013. Copper toxicity in soils under established vineyards in Europe: A survey. Science of the Total Environment, 443 : 470–477. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.001

Šalamún P., Brázová T., Miklisová D., & Hanzelová V., 2015. Influence of selected heavy metals (As, Cd, Cr, Cu) on nematode communities in experimental soil microcosm. Helminthologia (Poland), 52(4) : 341–347. https://doi.org/10.1515/helmin-2015-0054

Sauvé S., Mc Bride M.B., Hendershot W.H., 1998. Derivation of soil quality criteria using predicted chemical speciation of Pb2+ and Cu2+. Environmental Toxicology and Chemistry, 17, 1481-1489.

Scott-Fordsmand J.J., Krogh P.H., & Weeks J.M., 2000. Responses of Folsomia Fimetaria (Collembola: Isotomidae) To Copper Under Different Soil Copper Contamination Histories in Relation To Risk Assessment. Environmental Toxicology and Chemistry, 19(5) : 1297. https://doi.org/10.1897/1551-5028(2000)019

Soler-Rovira P., Fernández-Calviño D., Arias-Estévez M., Plaza C., & Polo A., 2013. Respiration parameters determined by the ISO-17155 method as potential indicators of copper pollution in vineyard soils after long-term fungicide treatment. Science of the Total Environment, 447 : 25–31. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.077

Taschenberg E.F., Mack G.L., Gambrell F.L., 1961. Pesticide residues: DDT and copper residues in a vineyard soil. Journal of Agricultural and Food Chemistry 9 : 207e209.

Thompson L. R., Sanders J. G., McDonald D., Amir A., Ladau J., Locey K. J., … Zhao H., 2017. A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. Nature, 551(7681) : 457–463. doi: 10.1038/nature24621

Tiller K.G., Merry H., 1981. Copper pollution of agricultural soils. Copper in soils and plants, Ed. Loneragan J.F., Robson A.D. and Graham R.D., Academic Press, 25-45

Trémel-Schaub A., Feix I., 2005. Contamination des sols. Transferts des sols vers les plantes. Edition EDP Sciences - ADEME. 413 p.

Van Geel M., Verbruggen E., De Beenhouwer M., van Rennes G., Lievens B., & Honnay O., 2017. High soil phosphorus levels overrule the potential benefits of organic farming on arbuscular mycorrhizal diversity in northern vineyards. Agriculture, Ecosystems and Environment, 248(April) : 144–152. https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.07.017

Vázquez-Blanco R., Arias-Estévez M., Bååth E., & Fernández-Calviño D., 2020. Comparison of Cu salts and commercial Cu based fungicides on toxicity towards

microorganisms in soil. Environmental Pollution, 257. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113585

Viti C., Quaranta D., De Philippis R., Corti G., Agnelli A., Cuniglio R., & Giovannetti L., 2008. Characterizing cultivable soil microbial communities from copper fungicide-amended olive orchard and vineyard soils. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24(3) : 309–318. https://doi.org/10.1007/s11274-007-9472-x

Wang Q.Y., Zhou D.M., & Cang L., 2009. Microbial and enzyme properties of apple orchard soil as affected by long-term application of copper fungicide. Soil Biology and Biochemistry, 41(7) : 1504–1509. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.04.010

Wang Q.Y., Sun J.Y., Xu X.J., & Yu H.W., 2018. Integration of chemical and toxicological tools to assess the bioavailability of copper derived from different copper-based fungicides in soil. Ecotoxicology and Environmental Safety, 161(February) : 662–668. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.041

Wightwick A.M., Mollah M.R., Partington D.L., Allinson G., 2008. Copper Fungicide Residues in Australian Vineyard Soils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56 : 2457–2464

Wightwick A.M., Salzman S.A., Reichman S.M., Allinson G., Menzies N.W., 2010. Inter-regional variability in environmental availability of fungicide derived copper in vineyards soils : An Australian case study. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58 : 449-457

Wyszkowska J., Kucharski M., & Kucharski J., 2010. Activity of β-glucosidase, arylsulfatase and phosphatases in soil contaminated with copper. Journal of Elementology, 15(1) : 213–226. https://doi.org/10.5601/jelem.2010.15.1.213-226

Zehetner F., Djukic I., Hofmann R., Kühnen L., Rampazzo-Todorovic G., Gerzabek M. H., & Soja G., 2015. Soil organic carbon and microbial communities respond to vineyard management. Soil Use and Management, 31(4) : 528–533. https://doi.org/10.1111/sum.12204.

novasol
EXPERTS
Décryptons la biodiversité de vos sols