
METHODE DE LUTTE ALTERNATIVE : TEST D'HUILES ESSENTIELLES DILUEES EN CULTURE *IN VITRO* POUR LIMITER LE DEVELOPPEMENT DE *MONILIA LAXA*

Sophie-Joy ONDET, Liliane GOMES

1 - PROBLEMATIQUE

En agriculture biologique, la couverture des besoins en protection contre les maladies fongiques et les ravageurs est largement insuffisante (rapport ITAB 2004), présentant ainsi un frein technique de premier ordre pour les producteurs (tavelure du poirier et du pommier, monilioses du pêcher et de l'abricotier, carpocapse des pommes...), et plus largement pour le développement de l'agriculture biologique.

Pour la maîtrise des maladies cryptogamiques, l'aromathérapie (faisant partie de la phytothérapie et consistant en l'utilisation d'huiles essentielles) est une voie intéressante à creuser.

2 - ETAT DES CONNAISSANCES EN AROMATHERAPIE

Les recherches et expérimentations en aromathérapie dans les domaines médicaux et vétérinaires sont nombreuses et ont d'ores et déjà de très bons résultats. Leur utilisation en milieu hospitalier ou vétérinaire (exemple du soin des mammites chez les ruminants par les huiles essentielles) commence à se généraliser. L'application de l'aromathérapie en production végétale est beaucoup moins développée et pourtant les huiles essentielles ont un pouvoir antifongique certain et déjà démontré sur certains champignons (exemple sur la fumagine).

3 - OBJECTIF

En 2010, 19 huiles essentielles diluées à 10% ont été testées sur *Monilia laxa* en culture *in vitro*. Cette année, il est nécessaire d'affiner l'effet des huiles essentielles ayant donné les meilleurs résultats, à une concentration inférieure à 10% et en diffusion dans les boîtes de pétri.

4 - MATERIEL ET METHODE

4.1 Lieu et matériel végétal :

L'essai est réalisé en culture *in vitro* pour ensuite pouvoir tester les huiles essentielles sur le végétal directement.

4.2 Modalités

11 modalités sont comparées :

- Témoin non traité : T
- Témoin alcool 70°: T al
- HE Géranium chine - *Pelargonium X asperum*
- HE Sarriette des montagnes (France) - *Satureia montana* L.
- HE Thym géraniole (France) - *Thymus vulgaris* L.
- HE Origan compact (Origan sauvage) (Afrique du Nord) - *Origanum compactum* L.
- HE Citronnelle de java (Vietnam) - *Cymbopogon winterianus*
- HE Géranium bourbon (Afrique du sud) - *Pelargonium X asperum*
- HE Origan sauvage (Espagne) - *Thymus capitatus* L.
- HE Eucalyptus citriodora (Madagascar) - *Eucalyptus citriodora* Hook
- HE Litsea cubeba (Vietnam) - *Litsea cubeba*

Screening des huiles essentielles, sous deux formes :

- huiles essentielles déposées dans la gélose dans des puits. Les huiles essentielles sont testées aux concentrations : 5% et 1%.
- huiles essentielles en diffusion dans les boîtes de pétri, à deux concentrations différentes : pures et à 50%.

Détermination de l'action fongicide ou fongistatique des huiles essentielles :

Après quelques jours d'exposition en présence d'huile essentielle (par contact ou par diffusion), l'inoculum est placé dans une nouvelle boîte de pétri gélosée sans huile essentielle. L'objectif est ici de déterminer si l'activité antifongique des huiles essentielles, quantifiée par les deux méthodes de screening (dépôt dans gélose ou diffusion) est fongicide ou fongistatique.

4.3 Dispositif expérimental et observations

- Essai par dépôt dans la gélose (contact et diffusion d'huile essentielle)

Quatre trous dans la gélose sont réalisés à 2,5 cm de l'inoculum central et dans chacun d'eux, une goutte d'huile essentielle est déposée à l'aide d'une seringue de 1 ml.

- Essai par diffusion atmosphérique

Sur papier absorbant de 1 cm² est déposée une goutte d'huile essentielle à l'aide d'une seringue de 1 ml.

Un ensemble de 5 répétitions (5 boîtes de pétri) par modalité est mis en place.

Les boîtes de pétri sont placées dans une pièce avec éclairage naturel et à température ambiante. L'essai se termine dès que le champignon de la modalité témoin (TNT) atteint son développement maximal, soit 11 jours après inoculation.

Les observations :

Tous les 2-4 jours, les comptages se font par transparence, à l'aide d'un papier calque à petits carreaux (0,5 x 0,5 cm), en dénombrant le nombre de carreaux recouverts par le champignon en culture.

Repiquage de l'inoculum pour détermination de l'action fongicide ou fongistatique :

Après 11 jours en présence d'huile essentielle (par dépôt dans la gélose ou par diffusion atmosphérique), les boîtes de pétri présentant des taux d'inhibition supérieurs à 50% sont sélectionnées pour des repiquages d'inoculum dans de nouvelles boîtes de pétri gélosées, mais en absence d'huile essentielle.

5 - RESULTATS

5.1 Dépôt d'huiles essentielles dans la gélose :

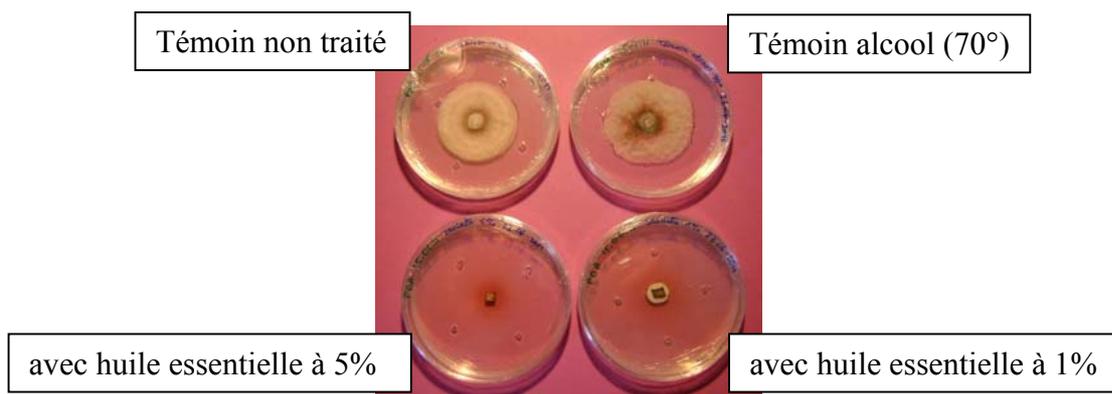
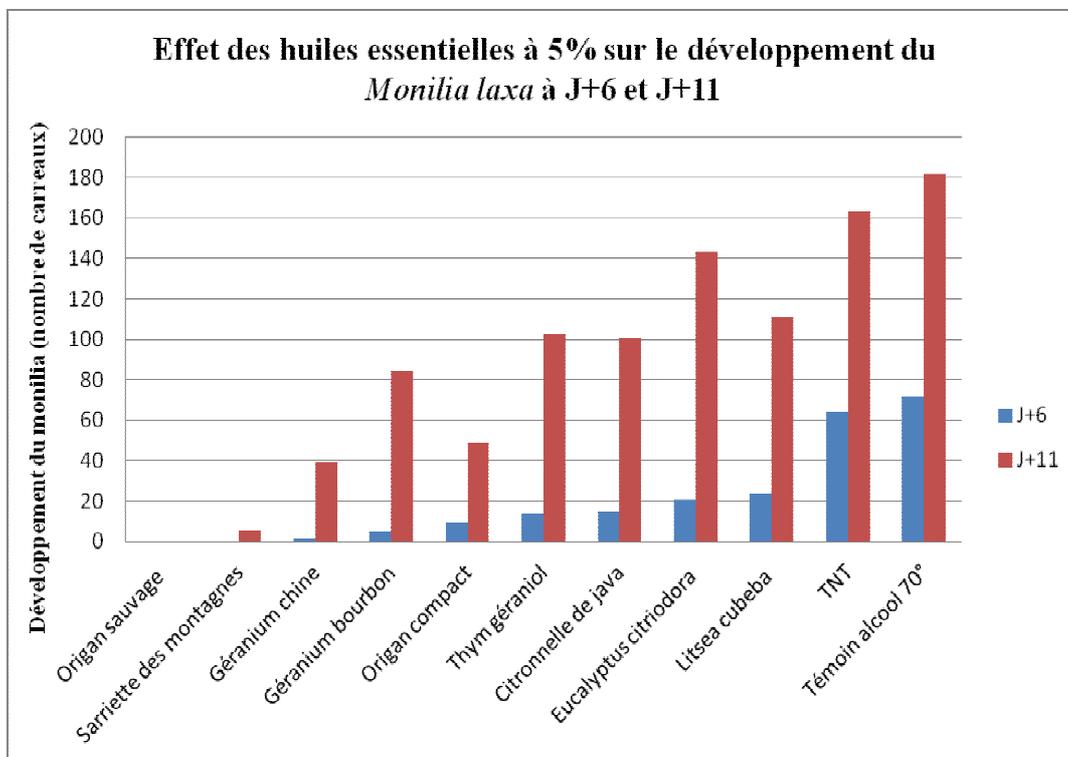


Figure 1 : effet inhibiteur de l'huile essentielle de Sarriette des montagnes (*Satureia montana* L.) sur cultures *in vitro* de *Monilia laxa* , à J+6.

➤ Huiles essentielles à 5%



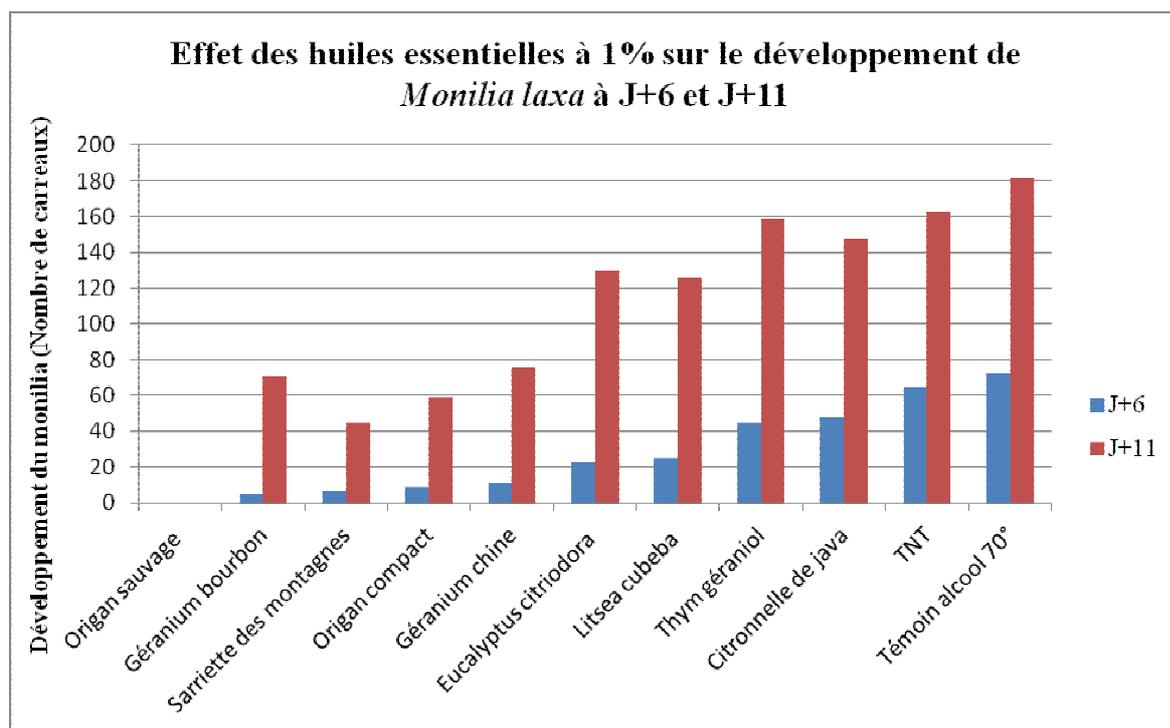
La seule huile essentielle à 5% stoppant entièrement le développement de *Monilia laxa* après 11 jours de mise en culture est l'origan sauvage (*Thymus capitatus* L.).

Les huiles essentielles limitant jusqu'à 50% le développement du monilia, sans pour autant le stopper entièrement, sont : Sarriette des montagnes, Géranium de chine, Origan compact et Géranium Bourbon.

Groupes homogènes à J+11 (Anova, Newman-Keuls 5%)

Modalité	Nombre moyen de carreaux recouverts par le champignon, à J+11	Groupes homogènes
Tal	181,80	A
TNT	162,80	A
Eucalyptus citriodora	143,40	A B
Litsea cubeba	111,00	B C
Thym géraniole	102,40	B C
Citronnelle de java	100,40	B C
Géranium bourbon	84,20	C
Origan compact	48,60	D
Géranium chine	39,60	D E
Sarriette des montagnes	5,40	E
Origan sauvage	0,00	E

➤ Huiles essentielles à 1%



La seule huile essentielle à 1% stoppant entièrement le développement de *Monilia laxa* après 11 jours de mise en culture est également l'origan sauvage (*Thymus capitatus* L.).

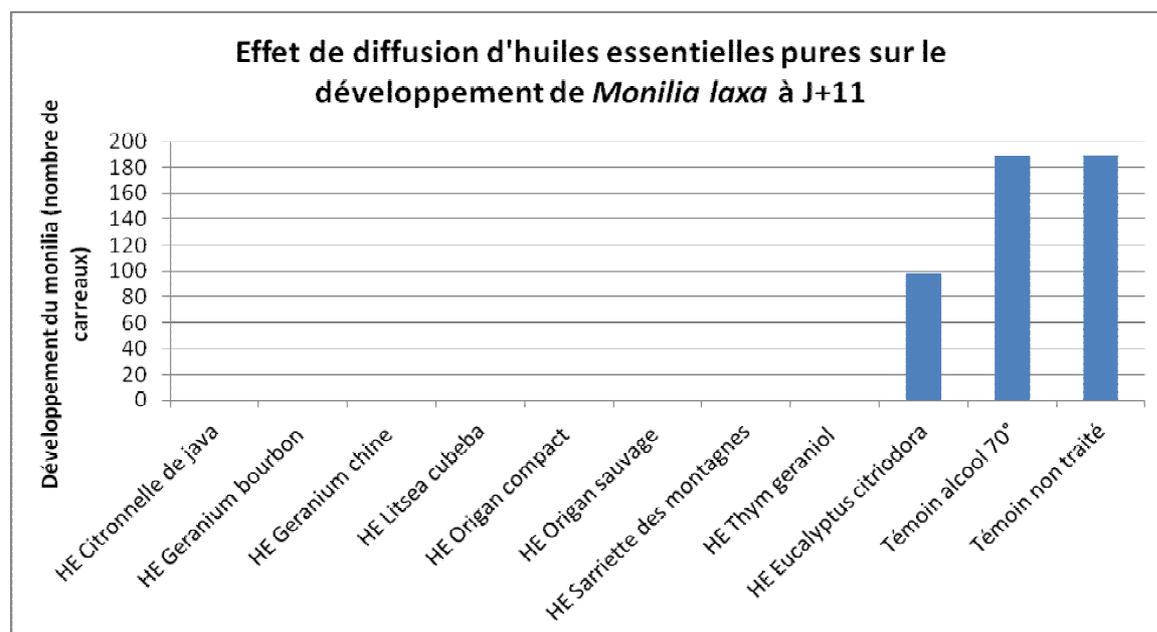
Les huiles essentielles limitant jusqu'à 50% le développement du monilia, sans pour autant le stopper entièrement, sont les mêmes que précédemment avec la concentration à 5% (Sarriette des montagnes, Géranium de chine, Origan compact et Géranium Bourbon).

Groupes homogènes à J+11 (Anova, Newman-Keuls 5%)

Modalités testées	Nombre moyen de carreaux recouverts par le champignon, à J+11	Groupes homogènes
Tal	181,80	A
TNT	162,80	A B
Thym géraniole	158,20	A B
Citronnelle de java	147,80	A B
Eucalyptus citriodora	129,60	B
Litsea cubeba	125,80	B
Géranium chine	75,40	C
Géranium bourbon	70,80	C
Origan compact	59,20	C
Sarriette des montagnes	44,60	C
Origan sauvage	0,00	D

5.2 Diffusion atmosphérique d'huile essentielle dans la boîte de pétri

➤ Diffusion d'huiles essentielles pures

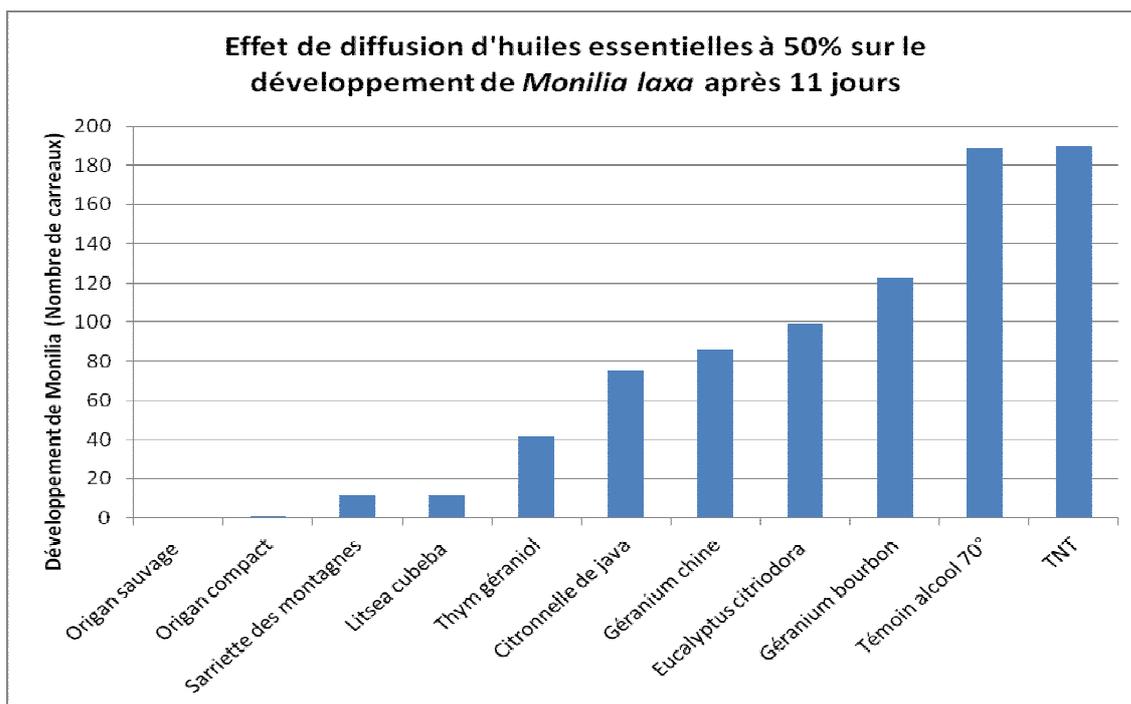


L'huile essentielle d'Eucalyptus citriodora pure en diffusion est la seule ne stoppant pas entièrement le développement du monilia.

Groupes homogènes à J+11 (Anova, Newman-Keuls 5%)

Modalités testées	Nombre moyen de carreaux recouverts par le champignon, à J+11	Groupes homogènes		
		A	B	C
TNT	189,60	A		
Tal	188,80	A		
Eucalyptus citriodora	98,80		B	
Géranium chine	0,00			C
Géranium bourbon	0,00			C
Citronnelle de java	0,00			C
Litsea cubeba	0,00			C
Sarriette des montagnes	0,00			C
Thym géraniole	0,00			C
Origan compact	0,00			C
Origan sauvage	0,00			C

➤ Diffusion d'huiles essentielles à 50%



Groupes homogènes à J+11 (Anova, Newman-Keuls 5%)

Modalités testées	Nombre moyen de carreaux recouverts par le champignon, à J+11	Groupes homogènes			
		A	B	C	D
TNT	189,60	A			
Tal	188,80	A			
Géranium bourbon	123,00		B		
Eucalyptus citriodora	99,00		B	C	
Géranium chine	86,20		B	C	
Citronnelle de java	75,20		B	C	
Thym géraniole	41,20			C	D
Sarriette des montagnes	11,60				D
Litsea cubeba	11,60				D
Origan compact	1,00				D
Origan sauvage	0,00				D

L'origan sauvage et l'origan compact stoppent entièrement le développement du monilia. Les autres huiles essentielles limitant jusqu'à 50% le champignon, sont : la sarriette des montagnes, Litsea cubeba, Thym géraniole, Citronnelle de Java et en dernière position Géranium de Chine.

5.3 Détermination de l'action fongicide ou fongistatique des huiles essentielles

Après 11 jours en présence d'huile essentielle à 5% et 1% par contact, les boîtes de pétri présentant des taux d'inhibition supérieurs à 50% sont sélectionnées pour des repiquages d'inoculum dans de nouvelles boîtes de pétri gélosées, mais en absence d'huile essentielle.

HE contenue dans la boîte repiquée	Evolution du Monilia repiqué (nb de carreaux)
Sarriette 5%	195
Sarriette 1%	183
Origan sauvage 5%	180
Origan compact 5%	181

Le monilia se développe après avoir été stoppé par la présence d'huile essentielle. L'action des huiles essentielles observées, est une action fongistatique.

6 - CONCLUSION

L'huile essentielle d'Origan sauvage (*Thymus capitatus* L.) est la seule à stopper entièrement le développement de *Monilia laxa*, aux concentrations de 5% et de 1% comme par diffusion pure ou à 50%.

Lorsque les huiles essentielles sont déposées dans la gélose, celles limitant jusqu'à 50% le développement de Monilia, après l'Origan sauvage, sont les mêmes aux deux concentrations (5% et 1%) : Sarriette des montagnes, Origan compact, Géranium de Chine et Géranium Bourbon.

Lorsque les huiles essentielles sont mises en diffusion dans les boîtes de pétri, la dilution à 50% est nécessaire pour commencer à les discriminer. On retrouve à cette concentration et après l'Origan sauvage qui obtient le meilleur résultat : l'Origan compact, la Sarriette des montagnes permettant de limiter jusqu'à 50% le développement du champignon suivi de près par *Litsea cubeba*. Les deux huiles essentielles de Géranium (G. Bourbon et G. de Chine), ne permettent pas de limiter suffisamment le monilia lorsqu'elles sont en diffusion.

Les huiles essentielles de Sarriette des montagnes, d'Origan compact et d'Origan sauvage ont une action fongistatique sur *Monilia laxa*, dans nos essais *in vitro*.

ANNEE DE MISE EN PLACE : 2008 - ANNEE DE FIN D 'ACTION : 2010

ACTION : nouvelle en cours x en projet

Renseignements complémentaires auprès de : L. Gomes, C. Gomez, G. Libourel, C-E. Parveaud, S-J. Ondet, F. Warlop.

GRAB BP 11283 84911 Avignon cedex 9

tel 04 90 84 01 70 fax 04 90 84 00 37 mail : sophiejoy.ondet@grab.fr

Mots clés du thésaurus Ctifl : Agriculture biologique - abricotier - *Monilia laxa*

Date de création de cette fiche : décembre 2011