



## Diffusion d'huiles essentielles pour lutter contre les maladies de conservation des pommes

François WARLOP (GRAB)

### 1 - PROBLEMATIQUE

Les huiles essentielles sont le résultat de la distillation à la vapeur d'eau des plantes ou arbres aromatiques pour en extraire l'essence. Leur potentiel antibactérien et antifongique a été largement démontré *in vitro* mais peu de ces composés terpéniques ont été expérimentés directement sur des fruits et légumes en post-récolte (Plotto, 2003) et encore moins sur les espèces de *Monilia*. L'eugénol extrait des boutons floraux du giroflier (« clous de girofle »), du cannelier ou encore de la sarriette a pourtant montré un intérêt pour la longue conservation des pommes lorsqu'il est associé à la thermothérapie (Bompeix et Cholodowski-Faivre, 2000). Dans ce cas, l'huile est appliquée par immersion dans une émulsion ; une autre technique consiste à diffuser les vapeurs dans l'atmosphère de la chambre froide. C'est cette technique qui est testée en conditions expérimentales ici.

### 2 - PREMIER ESSAI SUR FRUITS

#### 2.1 Matériel et méthode

Fruit : pomme, cv. Golden Delicious

Pathogène : *Monilia sp.*

- Prélèvement sur fruits de spores de *Monilia laxa*
- Mise en solution dans de l'eau physiologique stérile
- Dénombrement à la cellule de Malassez
- dilution au 200<sup>ème</sup> pour obtenir une suspension à  $1.1 \cdot 10^4$  conidies.ml<sup>-1</sup>

Application sur fruits :

- 3 fruits par modalité, 9 modalités au total (cf. tableau ci-dessous)
- Blessure des fruits avec un perceur calibré (2 trous sur les joues)  
Inoculation avec 15  $\mu$ l de la suspension de *Monilia sp.*

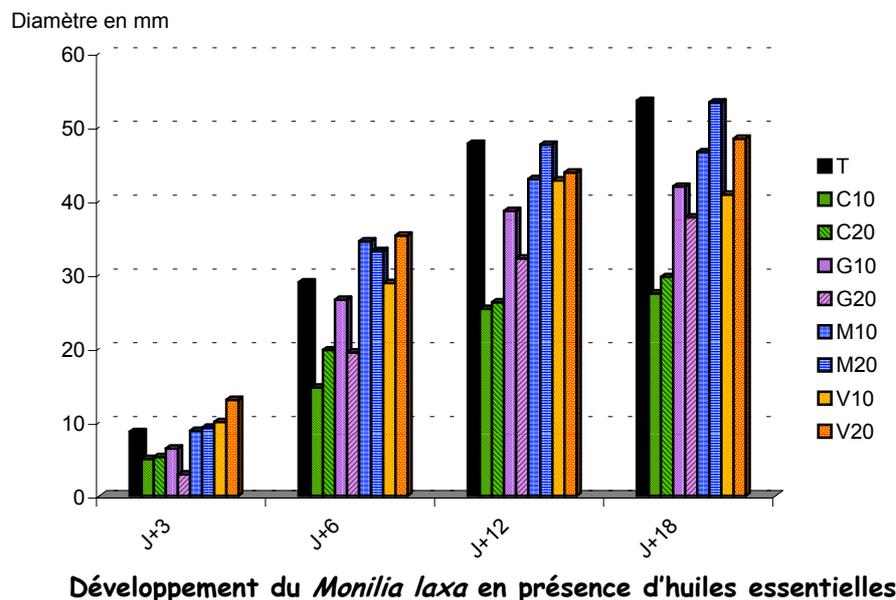
Après 24 heures, chaque fruit est placé dans un pot hermétique de 1 litre, dont le couvercle est recouvert d'un papier filtre imbibé d'huile essentielle (10 ou 20  $\mu$ l)

Modalité	Huile essentielle	Concentration
T	Aucune	
G 10	Girofle (Eugénol)	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
G 20	Girofle (Eugénol)	20 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
M 10	Menthe Pouliot (Pulégone, Menthone)	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
M 20	Menthe Pouliot (Pulégone, Menthone)	20 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
V 10	Verveine Yunnan (Citral)	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
V 20	Verveine Yunnan (Citral)	20 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
C10	Cannelier (Eugénol)	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
C 20	Cannelier (Eugénol)	20 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>

### Observations :

- ⇒ Mesures régulières du diamètre des lésions observées
- ⇒ Analyse statistique de la variance à un facteur

## 2.2 Résultats



Les analyses statistiques n'ont révélé aucune différence entre les modalités.

### Efficacité (en %) des huiles essentielles de cannellier et de girofle par rapport au témoin :

	C10	C20	G10	G20
J+3	42,3	39,4	26	66,4
J+6	49,3	31,7	8,08	32,9
J+12	46,9	45	19,1	32,6
J+18	48,8	44,6	21,7	29,5

Aucun effet significatif des traitements n'est observé. L'huile essentielle de cannellier est relativement efficace mais présente une phytotoxicité à une concentration de  $20\mu\text{l.l}^{-1}$  : apparition de tâches brunâtres sur le dessus d'un fruit (partie la plus exposée au papier filtre donc aux concentrations les plus fortes). Cette phytotoxicité est retrouvée de façon plus importante avec la modalité V20 (Verveine à  $20\mu\text{l.l}^{-1}$ ), les tâches recouvrent 20 à 50% des pommes. L'huile essentielle de clou de girofle semble également ralentir la croissance du *Monilia* ; elle contient le même terpène, l'eugénol, connu pour ses propriétés anti-fongiques, mais ne donne pas de phytotoxicité ici.

## 3 - DEUXIEME ESSAI SUR FRUITS

Suite aux résultats obtenus dans le premier essai, les doses d'huiles essentielles ont été réduites.

Fruit : pomme cv. GALA

Pathogène : *Monilia sp.*

### 3.1 Méthode

- Prélèvement sur fruits de spores de *Monilia laxa*
- Mise en solution dans de l'eau physiologique stérile
- Dénombrement à la cellule de Malassez
- dilution au 40<sup>ème</sup> pour obtenir une suspension à  $0.96 \cdot 10^4$  UFC.ml<sup>-1</sup>

Application sur fruits :

- 4 fruits par modalité, 15 modalités (voir tableau ci-après)
- Blessure des fruits avec le perceur calibré (2 trous)
- Inoculation avec 15  $\mu$ l de la suspension de *Monilia sp.*
- Après 24 heures, chaque fruit est placé dans un pot de 1L (photo) dont le couvercle est recouvert d'un papier filtre imbibé d'huile essentielle (5,10, 20 ou 50 $\mu$ l) :



**pomme**

***Monilia sp. et tâches de phytotoxicité sur une blessée***

Les huiles essentielles suivantes ont été choisies en fonction d'essais antérieurs, et de la bibliographie effectuée.

Modalités	Plante, huile essentielle	Concentration
T	Aucune	
C5	Cannelier ( <i>Cinnamomum verum</i> ) : eugéno	5 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
C10	Cannelier ( <i>Cinnamomum verum</i> ) : eugéno	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
C 20	Cannelier ( <i>Cinnamomum verum</i> ) : eugéno	20 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
C50	Cannelier ( <i>Cinnamomum verum</i> ) : eugéno	50 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
G 5	Girofle ( <i>Eugenia caryophyllata</i> ) : eugéno	5 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
G 20	Girofle ( <i>Eugenia caryophyllata</i> ) : eugéno	20 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
V 5	Verveine Yunnan ( <i>Litsea citrata</i> ) : citral	5 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
V 10	Verveine Yunnan ( <i>Litsea citrata</i> ) : citral	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
E 5	<i>Eucalyptus smithii</i> : cinéole	5 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
E 10	<i>Eucalyptus smithii</i> : cinéole	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
S 5	Sarriette ( <i>Satureja montana</i> ) : thymol, carvacrol, eugéno	5 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
S 20	Sarriette ( <i>Satureja montana</i> ) : thymol, carvacrol, eugéno	20 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
O 5	Origan ( <i>Origanum vulgare</i> ) : carvacrol, thymol	5 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
O 20	Origan ( <i>Origanum vulgare</i> ) : carvacrol, thymol	20 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>

**Observations :**

- ⇒ Mesure du diamètre des lésions
- ⇒ Analyse statistique de la variance à un facteur

### 3.2 Résultats

#### Taille des lésions (diamètre en mm)

Date d'observation	J+6	J+9	J+12	J+14	phytotoxicité
Témoïn	9 ab	39.8 ab	54.1 ab	65.8 ab	
<b>C5</b>	7.1 ab	<b>26.5 bc</b> <b>(33.4%)</b>	<b>39.1 bc</b> <b>(27.7%)</b>	<b>46.5 bc</b> <b>(29.3%)</b>	
C10	11.9 ab	39.1 ab	55.3 ab	65 ab	
C20	21.3 a	46.8 a	59.1 a	66.9 ab	
C50	11.5 ab	36.6 abc	55.3 ab	64.5 ab	****
G5	16.5 ab	38.3 abc	50.5 abc	59.8 ab	
G20	18.8 ab	45.1 a	59.6 a	69 a	*
G50	19.5 ab	45.1 a	58.5 a	63.5 ab	****
V5	15.8 ab	42.9 a	58.3 a	65.8 ab	
V10	19.4 ab	45.5 a	52.1 a	65.3 ab	****
E5	20 ab	47.1 a	58.6 a	65.4 ab	
E10	11.8 ab	42.3 a	59.5 a	66.1 ab	
O5	15.6 ab	42 a	55 ab	62.5 ab	*
O20	13.1 ab	33.9 abc	51.3 abc	57.4 abc	**
S5	21.4 a	44.8 a	59.6 a	64.8 ab	
<b>S20</b>	<b>5.6 b (37.8%)</b>	<b>25.1 c (36.3%)</b>	<b>38 c (29.8%)</b>	<b>43 c (34.7%)</b>	<b>****</b>
Ecart-type résiduel	8.8	9.6	10.8	12.2	

a, b, c : groupes homogènes formés par le test de Newman-Keuls

(%) : efficacité par rapport au témoin

\* : nombre de fruits présentant des tâches de phytotoxicité

Les huiles ayant un effet sur le développement du *Monilia sp.* sont celles du cannellier à 5ppm et celle de la sarriette à 20ppm mais cette dernière entraîne une phytotoxicité très forte à cette concentration. D'autres huiles ont également provoqué l'apparition de tâches brunâtres sur les fruits : celle de cannellier à 50 ppm, celle de girofle à 50 et 20 ppm, celle de verveine à 10ppm et celle d'origan à 5 et 20 ppm. Il semble donc que les extraits de cannellier seraient les plus appropriés pour lutter contre les monilioses même si les résultats obtenus avec l'huile essentielle de clou de girofle à 10 ppm lors du premier essai ne sont pas aussi bons cette fois.

Le développement du *Monilia sp.* sur les fruits dépend beaucoup de la maturité des pommes. C'est sans doute ce facteur qui nuit à la reproductibilité des résultats. Les répétitions doivent être plus nombreuses et l'application de l'huile essentielle devrait être la même pour plusieurs fruits plutôt que de placer chaque pomme dans un récipient distinct.

## 4 - TROISIEME ESSAI *IN VITRO* : EFFET DES VAPEURS D'HE SUR LA CROISSANCE DU MYCELIUM DE *MONILIA LAXA*

Pour compléter les essais effectués directement sur fruits, il a été réalisé un troisième, portant sur la mesure de l'efficacité des HE sur la croissance du mycélium du pathogène. Celui-ci est donc directement inoculé sur milieu nutritif.

### 4.1 Matériel et Méthode

- Prélèvement à l'aide d'un emporte pièce d'un disque de 8mm de diamètre de milieu PDA (Potato Dextrose Agar) sur lequel du *Monilia laxa* a été mis en culture 21 jours plus tôt.

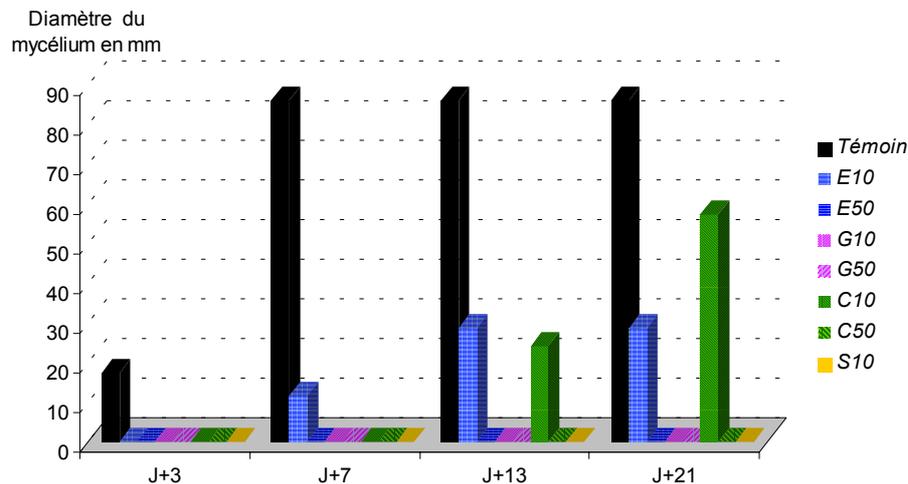
- Dépôt de ce fragment de mycélium au centre d'une autre boîte de Pétri contenant du milieu PDA.
- Trois boîtes par modalité sont ensuite placées sans leur couvercle dans un pot de 1L où se trouve un papier filtre imbibé d'huile essentielle (10 ou 50 $\mu$ l).

Modalité	Huile essentielle et principe actif principal	Concentration
T	Aucune	
C10	Cannelier ( <i>Cinnamomum verum</i> ) : eugénol	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
C50	Cannelier ( <i>Cinnamomum verum</i> ) : eugénol	50 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
G 10	Girofle ( <i>Eugenia caryophyllata</i> ) : eugénol	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
G 50	Girofle ( <i>Eugenia caryophyllata</i> ) : eugénol	50 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
E 10	<i>Eucalyptus smithii</i> : cinéole	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
E 50	<i>Eucalyptus smithii</i> : cinéole	50 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>
S 10	Sarriette ( <i>Satureja montana</i> ) : thymol, carvacrol, eugénol	10 $\mu$ l.l <sup>-1</sup>

#### Observations :

⇒ Détermination de la croissance mycélienne après 3, 7, 13 et 21 jours de culture.

### 4.2 Résultats



#### Développement du *Monilia sp.* en présence d'huiles essentielles (moyenne des trois boîtes)

Dans le témoin, le *Monilia* colonise en sept jours toute la surface du milieu dans les trois boîtes.

A 50 ppm, toutes les huiles inhibent la croissance du mycélium.

A 10 ppm, seules les huiles de girofle et sarriette, contenant de l'eugénol, bloquent totalement le développement du *Monilia laxa* sur milieu PDA.

Un développement de *Penicillium sp.* (du à une contamination) a été observé dans une des boîtes de la modalité E50 ; le cinéol semble n'avoir aucun effet sur ce pathogène.

## 5 - CONCLUSIONS

Toutes les huiles sont efficaces *in vitro* à 50ppm mais leur utilisation à cette concentration sur fruits est phytotoxique (cf. 2<sup>e</sup> essai) et peut favoriser le développement des lésions. Les tâches de phytotoxicité se forment toujours sur le dessus des pommes : il est probable que la répartition des vapeurs n'est pas homogène au sein du récipient. La diffusion des huiles dans un plus grand volume d'air en présence d'une ventilation permettrait peut être d'éviter cette phytotoxicité. Cependant, l'évaporation de l'eugénol est nulle à 5°C, ce type de traitement ne peut donc pas être utilisé dans les chambres froides. Une troisième technique consisterait en la thermonébulisation d'huiles pures : brouillard de fines gouttelettes obtenues par des températures élevées, moins phytotoxique que le trempage dans une émulsion (ou le douchage) et moins coûteuse en huile que la diffusion (Pichot, 2002).

### Références bibliographiques :

- Bompeix, G. and Cholodowski-Faivre, D. 2000. Thermo-thérapie et produits naturels, une technologie émergente. L'Arboriculture fruitière 542, 20-25.
- Pichot, A.L. 2002. Les huiles essentielles comme traitement alternatif des maladies de conservation des pommes. Mémoire de stage du DESS IQPP. Université de Paris-Sud XI.
- Plotto, A., Roberts D.D. and Roberts R.G. 2003. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Acta Hort. 628.

---

**ANNEE DE MISE EN PLACE : 2002 - ANNEE DE FIN D 'ACTION : non déterminé**

**ACTION :** nouvelle  en cours  en projet

Renseignements complémentaires auprès de : C. Gomez, G. Libourel, S-J Ondet, L. Romet et F. Warlop.

GRAB Agroparc BP 1222 84911 Avignon cedex 9

tel 04 90 84 01 70 fax 04 90 84 00 37 mail : [arboriculture.grab@freesbee.fr](mailto:arboriculture.grab@freesbee.fr)

---

Mots clés du thésaurus Ctifl : Agriculture biologique - pêche - post récolte

Date de création de cette fiche : décembre 2005