



iteipmai

**Produits naturels en protection
des cultures**

**Potentiel d'utilisation des plantes à parfum,
aromatiques et médicinales**

**Terres
d'Innovation**

Produits naturels en protection des cultures

Potentiel d'utilisation des plantes à
parfum, aromatiques et médicinales

Étude conçue par l'iteipmai avec la participation
de Terres d'Innovation



Rédaction : Joséphine Piasentin

Produits naturels en protection des cultures

Potentiel d'utilisation des plantes à
parfum, aromatiques et médicinales

Étude conçue par l'iteipmai avec la participation
de Terres d'Innovation



Faire plus ensemble pour
faire mieux chacun



iteipmai



© Terres d'Innovation • septembre 2010
Terres d'Innovation • 44 rue d'Alésia 75682 Paris Cedex 14
<http://www.terres-innovation.fr>
Recherche bibliographique : iteipmai
Rédaction : • Terres d'Innovation
Maquette et mise en page : • iteipmai
Photo de couverture : ©iteipmai
Impression : Imprimerie Norbert PLOT



Préface

Le paysage de la protection des cultures change : face aux attentes de la société en matière d'agriculture biologique, de durabilité, de biodiversité, de lutte intégrée et des approches passionnées que cela induit, s'ajoutent les évolutions réglementaires sur les produits de synthèse. Cette 4ème synthèse bibliographique de Terres d'innovation a pour objectif de faire le point sur les méthodes de protection des cultures faisant appel à des produits naturels.

La littérature cite beaucoup de plantes à parfum, aromatiques et médicinales comme source d'utilisation, ce qui offre des perspectives réelles dans un domaine à travailler. De ce fait, cette bibliographie est centrée volontairement sur les applications possibles de ces plantes (ici essentiellement métropolitaines), et n'est donc pas exhaustive de l'ensemble des produits naturels utilisables en protection des cultures.

Elle est destinée aux expérimentateurs de nouvelles techniques de protection : quelles espèces végétales tester pour quel problème (ravageurs, champignons, adventices) ?

Ce volume a pour seule ambition d'apporter sa contribution à un domaine qui va exploser dans les prochaines années. Nos plantes à parfum, aromatiques et médicinales peuvent présenter un intérêt majeur ce qui, sur le plan économique, offrira des perspectives nouvelles de développement.

Nadine LEDUC

Présidente de l'iteipmai (1)

(1) institut technique interprofessionnel des plantes à parfum, médicinales et aromatiques

Remerciements

Nous tenons à remercier :

- Mme Catherine Regnault-Roger, Professeure à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour, auteur de l'ouvrage "Biopesticides d'origine végétale" Ed° Lavoisier, 2008,
- M. Cédric Bertrand, Maître de Conférences à l'Université de Perpignan (Laboratoire de Chimie des Biomolécules et de l'Environnement), Président du Groupe Francophone d'Etude des Pesticides Organiques d'Origine Naturelle (Po²N)

pour leur relecture et leurs commentaires constructifs.

Sommaire

INTRODUCTION	11	◀
1 LES INSECTICIDES NATURELS EN PROTECTION DES CULTURES	13	◀
1.1 La protection au champ	13	▼
1.1.1 Lutte contre les pucerons et les thrips	13	
1.1.2 Screening d'extraits de plantes contre la punaise (Al e xenizer & Dorn, 2007)	17	
1.1.3 La protection à mener contre les lépidoptères	18	
1.1.4 Protection des pins des forêts contre la chenille processionnaire <i>Thaumetopoea pityocampa</i> (Lequet [en ligne] ; Kanat & Alma, 2004)	21	
1.1.5 Lutte contre les coléoptères et lépidoptères par les diterpènes ryanoides	22	
1.2 La protection des denrées stockées	23	▼
1.2.1 Lutte contre la bruche <i>Acanthoscelides obtectus</i> (coléoptère) par fumigation	23	
1.2.2 Lutte contre d'autres bruches : <i>Callosobruchus</i> spp.	29	
1.2.3 Protection contre <i>Sitophilus zeamais</i> , le charançon du maïs	32	
1.2.4 Vapeurs d'huiles essentielles contre <i>Tribolium</i> spp.	34	
1.2.5 Autres informations pour la lutte contre les coléoptères et les lépidoptères par fumigation (Rajendran & Sriranjini, 2008)	35	
1.2.6 Conséquences et opportunités pour les produits naturels en protection des denrées stockées	36	
1.3 Le potentiel du neem et d'autres plantes d'origine indienne	37	◀
1.4 Résumé	38	◀
2 LA LUTTE CONTRE LES CHAMPIGNONS PATHOGÈNES	40	◀
2.1 Lutte au champ	40	▼
2.1.1 Screenings	40	
2.1.2 Evaluation de l'acide rosmarinique et des plantes de la famille des lamiacées	41	
2.1.3 L'efficacité des sesquiterpénoïdes	43	
2.1.4 Propriété d'autres métabolites secondaires	43	
2.1.5 Essai avec un extrait de <i>Robinia pseudoacacia</i> (Zhang et al., 2008)	45	
2.1.6 Les propriétés phytosanitaires de l'inule visqueuse (Aveline & Pajot, 2004 ; Wang et al., 2004)	45	
2.1.7 Neem et aneth contre <i>Drechslera</i> sp. (Niaz et al., 2008)	46	
2.2 Traitement des graines et protection des denrées stockées	46	▼
2.2.1 Screening d'huiles essentielles pour la protection du pois indien (Pandey et al., 2007)	46	
2.2.2 Traitement de graines d'oignon, de carotte et de chou (Tylkowska & Dorna, 2001)	47	
2.2.3 La protection du raisin contre le botrytis en post-récolte (Tripathi et al., 2008)	47	
2.2.4 L'huile essentielle de citronnelle (Duamkhanmanee, 2008)	48	
2.3 Résumé des résultats obtenus pour la lutte contre les champignons	49	◀

3 LES PRODUITS NATURELS AUX PROPRIÉTÉS HERBICIDES	51 ◀
3.1 Screening d'huiles essentielles et d'extraits de plantes	51 ▼
3.1.1 Extraits de plantes médicinales (Qasem & Hassan, 2003)	51
3.1.2 Huiles essentielles de plantes aromatiques (Dudai <i>et al.</i> , 1999 ; Tworkoski, 2002)	53
3.2 L'action des huiles essentielles riches en terpènes et phénols	55 ▼
3.2.1 Quelques huiles essentielles connues	55
3.2.2 Le cas des lamiacées	56
3.2.3 Remarque sur les effets du cinéole (Romagni <i>et al.</i> , 2000)	57
3.3 L'action d'autres molécules végétales herbicides	58 ▼
3.3.1 Le potentiel des flavonoïdes (Iqbal <i>et al.</i> , 2005)	58
3.3.2 L'intérêt des alcaloïdes (Zamora-Natera <i>et al.</i> , 2008)	58
3.3.3 L'utilisation de différents acides végétaux	59
3.3.4 Guaïanolides et dérivés (Macías <i>et al.</i> , 2006)	59
3.3.5 Les glucosinolates présentent un effet limité (Kaiser-Alexnat, 2008)	59
3.4 L'effet de la méthode d'extraction sur le pouvoir des biopesticides (Azizi <i>et al.</i> , 2008)	59 ◀
3.5 Le phénomène d'autotoxicité (Onen, 2007)	60 ◀
3.6 Résumé des informations sur l'allélopathie	61 ◀
4 LA DÉFENSE FACE AUX ACARIENS	63 ◀
4.1 Les huiles essentielles contre <i>Tetranychus cinnabarinus</i> (Mansour <i>et al.</i> , 1986)	63 ◀
4.2 Se protéger contre <i>Tetranychus urticae</i> sans nuire à l'auxiliaire <i>Phytoseiulus persimilis</i> (Tsolakis et Ragusa, 2008)	63 ◀
5 LES COMPOSÉS NÉMATIQUES	64 ◀
5.1 Lutte contre <i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	64 ▼
5.1.1 Screening de 30 extraits éthanoliques d'arbres (Hong <i>et al.</i> , 2007)	65
5.1.2 Screening de 88 huiles essentielles (Kong, Lee <i>et al.</i> , 2006)	65
5.1.3 Essais avec l'huile essentielle de thym (Kong, Park <i>et al.</i> , 2007)	66
5.2 Extraits aqueux contre <i>Meloidogyne incognita</i> (Saxena & Sharma, 2004)	67 ◀
6 LA LUTTE CONTRE LES VIRUS ET LES BACTÉRIES	68 ◀
6.1 La lutte contre les virus par les triterpènes et glycosides triterpénoïdes	68 ◀
6.2 Les produits naturels aux propriétés bactéricides	68 ▼
6.2.1 Conservation de la patate et protection contre <i>Erwinia carotovora</i> (Vokou <i>et al.</i> , 1993)	68
6.2.2 Pouvoirs de l'acide rosmarinique (Bais <i>et al.</i> , 2002)	69
7 REVUE DE CLASSES DE MOLÉCULES AUX DIVERSES PROPRIÉTÉS PESTICIDES	70 ◀
7.1 Le neem	70 ▼
7.1.1 Eléments de botanique	70
7.1.2 Le potentiel pesticide du neem (Puri, 1999 et Guet, 2002)	70
7.2 Le pyrèthre	71 ▼
7.2.1 Présentation (Philogène <i>et al.</i> , 2008 ; Regnault-Roger, 2005)	71
7.2.2 Mode d'action (Philogène <i>et al.</i> , 2008 ; Regnault-Roger, 2005)	72
7.2.3 Moyen d'obtention (AFPP, 2008)	72

7.3 Utilisation des composés soufrés des <i>Allium</i> sp. et des brassicacées en tant qu'insecticides	72 ▼
7.3.1 Les composés issus des alliacées (Auger <i>et al.</i> , 2002)	72
7.3.2 Les molécules actives des brassicacées (Auger <i>et al.</i> , 2008)	73
CONCLUSION	75 ◀
INDEX DES NOMS LATINS DES PLANTES TESTÉES	77 ◀
INDEX DES TABLEAUX	80 ◀
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	82 ◀

Introduction

Aujourd'hui, pour le respect des écosystèmes et le respect des générations futures, l'agriculture doit être durable et responsable. Dans ce cadre et suite au Grenelle de l'environnement, la France a décidé notamment de réduire de moitié l'usage des pesticides et de supprimer progressivement du marché les molécules les plus dangereuses. Cette orientation a été concrétisée par le plan « Ecophyto 2018 » présenté en septembre 2008. Il s'agit donc pour les filières agricoles de mettre au point au plus vite, des pratiques alternatives de production.

Dans cette optique, l'utilisation de produits végétaux naturels dans la lutte contre les maladies, ravageurs et mauvaises herbes est apparue comme l'une des solutions alternatives.

En effet, si nous prenons l'exemple de la lutte contre les mauvaises herbes, certaines plantes sont connues pour libérer des composés allélopathiques qui agissent sur la croissance des plantes voisines. L'étude de ce phénomène constitue un premier axe de travail sur les produits végétaux en protection des cultures.

Ensuite, en ce qui concerne la lutte contre les ravageurs, différents produits et molécules végétales ont montré une certaine activité. Par exemple, les pyréthrine, molécules issues des *Chrysanthemum* sp., sont neurotoxiques et sont valorisées en protection des cultures. Plus récemment, l'azadirachtine issue du margousier ou neem, arbre indien, a suscité l'engouement des scientifiques et des agriculteurs. En outre, des huiles végétales peuvent agir par inhalation et par contact sur les insectes (œufs, larves ou adultes).

On peut constater que la plupart de ces principes actifs sont des métabolites secondaires produits en particulier par les plantes des filières des plantes aromatiques, médicinales et industrielles. Cependant, alors que certaines molécules telles que les pyréthrine ou le neem sont intéressantes, d'autres ont été abandonnées en France car trop toxiques sur les humains (nicotine) ou suspectées d'être toxiques (roténone, interdite par la commission européenne en avril 2008, décision n° 2008/317/CE).

Ainsi, d'un certain point de vue, ces produits, s'ils sont efficaces, semblent être adaptés à des programmes de lutte phytosanitaire durables car, étant naturels, ils sont facilement biodégradables et peuvent être disponibles localement. Leur introduction permettrait de diversifier la lutte et limiterait l'apparition de résistance.

D'un autre point de vue, s'ajoutent au fait que certains produits soient toxiques, le problème de la spécificité des différentes molécules (efficacité sur quelles espèces de nuisible ?, à quel stade de développement ?) et celui de l'hétérogénéité phytochimique des végétaux et des préparations qui en découlent.

Les travaux expérimentaux à mener sont donc encore conséquents d'autant plus que de nombreuses espèces végétales peuvent être étudiées.

Cette synthèse reprend les résultats de différents travaux scientifiques menés ces 15 dernières années. La majorité des travaux traités ici porte sur des végétaux trouvés en France et sur des molécules pouvant être synthétisées par ces mêmes végétaux. Ce document s'adresse aux expérimentateurs et aux décideurs professionnels de Terres d'Innovation. Il vise donc à apporter des informations techniques aux expérimentateurs tout en restant accessible aux administrateurs.

Elle fait l'état des lieux des recherches sur les préparations végétales visant les insectes, les champignons, les mauvaises herbes, les acariens, les nématodes, les virus et les bactéries affectant le bon développement des cultures.

Dans les parties sur les insectes et les nématodes, chaque paragraphe reprend les résultats obtenus pour la lutte contre une espèce en particulier et selon que la protection a lieu au champ ou sur des cultures stockées. Pour le cas des autres nuisibles et des mauvaises herbes, sont présentés des résultats de screenings et des résultats concernant différents types de produits végétaux. Les tests ont souvent eu lieu sur des espèces-témoins de nuisibles.

En conclusion des parties portant sur les insectes, les champignons et les mauvaises herbes, se trouvent des tableaux récapitulatifs des produits végétaux ayant montré une activité sur tel ou tel organisme ainsi que des données complémentaires sur les espèces aromatiques, médicinales et à parfum.

Enfin, la dernière partie résume les données acquises sur l'azadirachtine, les pyréthrine ainsi que les composés soufrés issus des Alliacees et Brassicacees, trois types de molécules au fort potentiel pesticide.

1 Les insecticides naturels en protection des cultures

L'insecticide idéal doit prendre en compte la règle des 4R : Rupture des chaînes trophiques, Résurgence, Rémanence, Résistance. Donc :

- Concernant la rupture des chaînes trophiques et la résurgence, un insecticide doit être sélectif et non toxique sur les espèces non visées afin d'éviter la rupture des chaînes trophiques. Autrement dit, l'insecticide doit contribuer à favoriser la résurgence des auxiliaires tout en bloquant la résurgence d'insectes nuisibles.
- A propos de la rémanence, l'insecticide doit être le plus biodégradable possible.
- Enfin, il ne doit provoquer aucun phénomène de résistance.

A ces conditions d'ordre écologique, s'ajoutent les questions de la disponibilité du produit et son prix de revient (Regnault-Roger, 2008).

Les huiles essentielles contenant monoterpènes et composés phénoliques se sont montrées particulièrement actives contre les insectes. Leurs propriétés insecticides se sont manifestées sur de nombreux modèles et s'exercent de plusieurs manières notamment dans le cadre de la protection des denrées stockées. Ces propriétés sont exploitables dans deux domaines d'application : la fumigation et l'imprégnation du milieu à protéger. En remarque, la fumigation consiste à produire une fumée ou une vapeur désinfectante (Regnault-Roger, 2008).

D'autres composés se sont également avérés puissants comme certains alcaloïdes ou encore des composés soufrés principalement présents chez les alliées et les brassicacées (Regnault-Roger et al., 2008).

D'abord, nous allons aborder les produits testés afin de protéger directement les cultures des hémiptères, lépidoptères et coléoptères ravageurs. Puis, nous verrons dans la deuxième partie les produits étudiés dans le cadre de la protection des graines stockées face aux attaques de lépidoptères mais aussi de coléoptères.

Sont également disponibles dans le chapitre 7 de plus amples informations sur les trois familles de composés végétaux suscitant un fort intérêt actuellement : les limonoïdes et principalement l'azadirachtine, les pyréthrine et les composés soufrés (glucosinolates et thiosulfates).

1.1 La protection au champ

1.1.1 Lutte contre les pucerons et les thrips

■ Infusions et décoctions contre le puceron vert du pommier (Ondet, 2006 & 2007)

Le GRAB (groupe de recherche en agriculture biologique) a étudié l'effet d'infusions et de décoctions de cinq plantes : absinthe (*Artemisia absinthium*), armoise (*Artemisia vulgaris*), saponaire (*Saponaria officinalis*), menthe poivrée (*Mentha x piperita*) et tanaïse (*Tanacetum annuum*) sur le puceron vert du pommier, *Aphis pomi*. L'efficacité de ce produit a été évaluée au verger par comptages sur feuilles. Le mode d'action des préparations sur les pucerons (action insecticide ou insectifuge) n'a pas été déterminé.

Concernant le protocole expérimental, les préparations ont été réalisées avec des plantes achetées sèches puis infusées ou décoctées dans une eau de pH 6.

Les méthodes de préparation d'une infusion et d'une décoction selon la pharmacopée française¹ sont les suivantes :

- L'infusion consiste à verser sur la plante de l'eau potable bouillante à laisser en contact pendant un temps donné. Dans les conditions d'essais, 100 g de plante ont été mis à infuser dans 5 litres d'eau.
- La décoction consiste à maintenir la plante dans de l'eau potable à ébullition pendant 15 à 30 minutes.

¹ Définitions issues de la Pharmacopée française, Xe édition, 2008. AFSSAPS. Saint-Denis.

Les préparations ont été pulvérisées dès le lendemain de leur réalisation sur la base de 1000 l/ha à l'aide d'un pulvérisateur à dos. 3 traitements ont en tout été réalisés (en avril 2005) à raison d'un traitement par semaine jusqu'au départ des pucerons devenus ailés.

Deux types de témoins ont été pris en compte : arbres non traités et arbres traités à l'eau. Cette deuxième configuration a provoqué un très fort développement de pucerons. Sur la période globale de traitements et de comptages (avril 2005), l'infusion d'armoise et celle de menthe poivrée ont fourni une protection significativement meilleure que celle du témoin traité à l'eau. En effet, 0,38 et 0,42 pucerons ont été dénombrés par rosette respectivement sur les arbres traités à l'infusion d'armoise et à l'infusion de menthe tandis que le nombre moyen de pucerons sur les rosettes traitées à l'eau était de 2,43. Mais, ces traitements ne se sont pas statistiquement distingués du témoin non traité qui comptait 0,86 pucerons par rosette.

Les essais ont été réitérés en avril 2006 avec l'utilisation d'infusions uniquement, la sauge *Salvia officinalis* a été ajoutée aux modalités. Le protocole de préparation des tisanes a été modifié : le pH n'a été baissé qu'après infusion. Puis, la solution utilisée pour les traitements correspondait à 10 % d'infusion mère et de 90 % d'eau et pulvérisée toujours sur la base de 1000 l/ha. La sauge et la saponaire se sont avérées inefficaces. La tanaïsie a montré une efficacité forte mais temporaire. La menthe et l'armoise ont une fois de plus été efficaces en présentant respectivement 75 et 77 % de pucerons en moins en comparaison au témoin non traité. En remarque, la menthe poivrée a agi dès le premier traitement alors que l'armoise a eu une action plus progressive.

Les essais de 2007 ont donc porté sur la menthe et l'armoise avec des jeux de dilutions différents : les doses de 10 % et de 5 % étaient à l'essai. Il a été constaté que le traitement de menthe à 10 % a été le plus actif, suivi du traitement à la menthe à 5 % puis de celui à l'armoise à 10 %. Mais, seule la modalité menthe à 10 % s'est montrée significativement plus puissante que le témoin non traité.

D'autre part, des comptages de faune auxiliaire ont été réalisés et il semble que ces traitements limitent la présence de la faune auxiliaire tout comme celle des pucerons. L'évaluation de cet impact sur les auxiliaires nécessite davantage d'essais, notamment en laboratoire. Les autres pistes à étudier sont la combinaison de menthe poivrée et d'armoise ou leur effet sur d'autres cultures et d'autres ravageurs.

Le potentiel des lamiacées contre les thrips et les pucerons verts du pêcher (Koschier & Sedy, 2003 et Rodilla et al., 2008)

Les plantes de la famille des lamiacées ont reçu une attention considérable concernant la recherche de produits naturels actifs contre les ravageurs des cultures et des denrées stockées. Les tableaux ci-après résument l'effet de différentes huiles essentielles sur *Thrips tabaci*, insecte phytophage afin de protéger des cultures d'oignons (*Allium cepa*) et de poireaux (*Allium porrum*). Tous les essais se sont déroulés en laboratoire avec des insectes en cage et en utilisant uniquement des disques de feuilles de poireau (Koschier & Sedy, 2003). Le premier tableau résume les effets de chacune des huiles essentielles sur leur effet répulsif. Le tableau 2 reprend les résultats de l'influence des huiles essentielles sur la prolifération des insectes.

Tableau 1 : Influence de solutions contenant diverses huiles essentielles sur l'attractivité d'alliacées pour le thrips (Koschier & Sedy, 2003)

Huile essentielle (HE) testée – Nom vernaculaire et latin	Effet répulsif (solutions testées de concentration de 0.1 à 10 % en HE)	Influence sur la pose des insectes sur la plante*
Marjolaine <i>Origanum majorana</i>	Peu d'effet	Une solution à 1 % a un effet répulsif sur plus de la moitié des femelles
Sauge <i>Salvia officinalis</i>	Peu d'effet	Très peu d'effet
Lavande <i>Lavandula angustifolia</i>	Peu d'effet	Pas d'effet
Menthe <i>Mentha arvensis</i>	Peu d'effet	Effet non significatif
Romarin <i>Rosmarinus officinalis</i>	Une solution à 10 % a une efficacité significative : 77 % des femelles préfèrent le compartiment témoin	Une solution à 1 % repousse la quasi-totalité des femelles

*Tests réalisés sur des prélèvements foliaires de poireau et observations menées pendant les 4 heures suivant le traitement

Tableau 2 : Influence de solutions contenant diverses huiles essentielles sur la ponte du thrips sur alliacées (Koschier & Sedy, 2003)

Huile essentielle (HE)	Ponte des insectes - en présence de feuilles traitées et non traitées (témoin)	Influence sur le taux de ponte quand toutes les feuilles sont traitées
Marjolaine <i>Origanum majorana</i>	Solution à 0,1 % : 42 % d'œufs en moins sur les feuilles traitées par rapport aux feuilles témoin Solution à 1 % : 77 % d'œufs en moins sur les feuilles traitées	à 0,1 % : ponte diminuée de 46 % à 1 % : ponte diminuée de 54 %
Sauge <i>Salvia officinalis</i>	Solution à 0,1 % : 64 % d'œufs en moins	Pas d'influence en comparaison à la situation naturelle
Lavande <i>Lavandula angustifolia</i>	Solution à 1 % : 70 % d'œufs en moins que sur les feuilles témoin	à 0,1 % : ponte diminuée de 55 % à 1 % : ponte diminuée de 60 %
Menthe <i>Mentha arvensis</i>	Solution à 0,1 % : 66 % en moins d'œufs Solution à 1 % : 88 % d'œufs en moins	Ponte diminuée de 40 % avec un traitement de concentration 1 %
Romarin <i>Rosmarinus officinalis</i>	Pas d'influence	Pas d'influence en comparaison à la situation naturelle

La marjolaine, n'apportant qu'un effet contre la pose et la ponte des thrips et non sur leur attraction, il est probable que les composés actifs soient non-volatils.

Le constat est le même pour le cas de la sauge, de la lavande et de la menthe.

Quant au romarin, l'effet répulsif qu'il procure est soit dû à l'olfaction, soit au contact chimique qui a lieu lorsque le thrips essaie de se poser.

Par ailleurs, d'après les auteurs, les résultats de leurs travaux viennent appuyer ceux d'expérimentations précédentes : la concentration en phéromones végétales, kairomones (substances chimiques émises par une espèce hôte déclenchant une réponse comportementale chez un autre organisme et dont l'effet est négatif pour l'espèce émettrice) et allomones (substance toxique d'un hôte contre un prédateur), est déterminante quant à l'attraction et à la répulsion de différents thrips (*T. tabaci* et *Frankliniella occidentalis*). Certaines huiles essentielles sont efficaces à partir de faibles concentrations, d'autres n'agissent qu'à une concentration plus importante.

A titre de comparaison, Koschier & Sedy (2003) ont résumé les propriétés de chaque huile sur le puceron et les résultats diffèrent de ceux concernant le thrips (voir le tableau 3).

Tableau 3 : Influence de différentes huiles essentielles sur l'attractivité des plantes pour le puceron *Myzus persicae* (compilé par Koschier & Sedy, 2003)

Huile essentielle (HE)	Effet répulsif	Inhibition de la pose des insectes sur la plante	Influence sur l'appétence de la plante
Marjolaine <i>Origanum majorana</i>	-	oui	Influence négative
Lavande <i>Lavandula angustifolia</i>	oui	-	Influence négative
Menthe <i>Mentha arvensis</i>	-	oui	Influence négative
Romarin <i>Rosmarinus officinalis</i>	oui	oui	Influence négative

- : donnée non disponible.

Ainsi, ces données aboutissent à la formation des hypothèses suivantes :

- Les composés actifs des huiles essentielles sont soit volatils, soit non-volatils, leur conférant des propriétés propres à chacune.
- Les insectes de différentes familles peuvent avoir des réactions différentes face aux composés actifs présents.

Puis, nous savons que les principaux composés retrouvés dans les huiles essentielles sont des terpènes et il s'est avéré que les monoterpènes 1,8-cinéole, α -ocimène, α -pinène ou linalol confèrent aux plantes une fonction anti-appétente pour les pucerons de l'espèce *Myzus persicae* (Rodilla et al., 2008). Par exemple, le linalol est extrait de nombreuses plantes dont la lavande *Lavandula angustifolia* et le basilic *Ocimum* spp. Il est peu toxique sur les animaux. Des recherches scientifiques suggèrent que le mode d'action de cette molécule concerne le système nerveux en affectant le transport des ions et la libération d'acétylcholinestérase (Trumble, 2002). Par contre, l'oxyde de linalol ne présente pas ce genre d'effet et il s'est même montré attractif pour *Myzus persicae* (Rodilla et al., 2008).

Enfin, l'huile essentielle de tagète (*Tagetes minuta*) contenant une part prédominante de monoterpènes et de sesquiterpènes oxygénés permet aussi de limiter le développement de la population de pucerons qui voit son taux de reproduction chuter. L'effet, toxique et/ou anti-appétent, n'est pas précisé (Rodilla et al., 2008³).

■ L'intérêt de certains alcaloïdes contre les thrips

Une préparation insecticide distribuée aux USA est issue de graines d'une Liliacée issue d'Amérique centrale et du sud, la sabadilla (*Schoenocaulon officinale*). L'activité de ce produit est due à la présence d'alcaloïdes neurotoxiques qui sont la cévadine, la vératridine et d'autres esters de la véracine. Ce produit est efficace contre les thrips, *Frankliniella* spp. et *Thrips* spp., il n'agit que par contact, n'est pas systémique et sa persistance est de 7 jours maximum selon l'ensoleillement (Copping & Duke, 2007). Cependant, cette préparation s'est avérée toxique contre les abeilles et elle est de moins en moins utilisée (Philogène et al., 2008).

³ Rappel : Toute citation bibliographique précédée du mot « dans » signifie que l'information est indiquée dans la publication mais qu'elle ne provient pas directement des travaux des auteurs.

1.1.2 Criblage d'extraits de plantes contre la punaise (Alexenizer & Dorn, 2007)

121 extraits de plantes médicinales et végétaux d'ornement ont été évalués sur leur activité insecticide et régulatrice de croissance de la punaise *Oncopeltus fasciatus*. 5 ans ont été nécessaires pour la réalisation de tous les essais.

Quasiment toutes les plantes testées ont été collectées en Allemagne. Les extractions ont été effectuées par les chercheurs à l'aide d'une solution acétone/méthanol 2:1 v/v, ce solvant a ensuite été évaporé afin d'obtenir l'extrait final utilisé pour les tests. Les composés organosolubles non polaires ont été préférentiellement étudiés.

Les essais ont été menés sur des punaises au 5e stade larvaire. 2 µl d'extrait ont été directement versés sur 10 femelles et 10 mâles. Ces insectes et leur progéniture ont été observés.

Les 121 espèces végétales de l'étude ne peuvent pas être toutes citées dans cette synthèse. Toutefois, le tableau suivant présente les différentes espèces aromatiques et médicinales communes en France ainsi que les espèces proches qui ont été testées lors de ce criblage. Ces plantes sont triées selon la partie utilisée pour la préparation de l'extrait.

Tableau 4 : Extraits de plantes médicinales testées contre *Oncopeltus fasciatus* (Alexenizer & Dorn, 2007)

Extrait	Noms communs et latins des plantes
Fleurs	Coquelicot (<i>Papaver rhoeas</i>), oseille (<i>Rumex acetosa</i>), pensée sauvage (<i>Viola tricolor</i>), tilleul (<i>Tilia cordata</i>), épilobe (<i>Epilobium angustifolium</i>), capucine des canaries (<i>Tropaeolum peregrinum</i>), livèche officinale (<i>Levisticum officinale</i>), lavande (<i>Lavandula angustifolia</i>), plantain (<i>Plantago lanceolata</i>), arnica (<i>Arnica montana</i>), souci (<i>Calendula officinalis</i>), bleuet (<i>Centaurea cyanus</i>), pissenlit (<i>Taraxacum officinale</i>)
Feuilles	Angélique (<i>Angelica archangelica</i>), sauge (<i>Salvia officinalis</i>), plantain (<i>P. lanceolata</i>), tanaïs (<i>Tanacetum vulgare</i>), sureau noir (<i>Sambucus nigra</i>) avec fleurs
Fruits	Aneth (<i>Anethum graveolens</i>)
Pousses avec feuilles	Oseille (<i>R. acetosa</i>), fenouil (<i>Foeniculum vulgare</i>)
Parties aériennes dont les fleurs	Millepertuis (<i>Hypericum perforatum</i>), coriandre (<i>Coriandrum sativum</i>), carvi (<i>Carum carvi</i>), pervenche petite (<i>Vinca minor</i>), basilic (<i>Ocimum basilicum</i>), lamier blanc (<i>Lamium album</i>), menthe (<i>Mentha x piperita</i>), origan (<i>Origanum vulgare</i>), thym (<i>Thymus vulgaris</i>), marrube (<i>Marrubium vulgare</i>), absinthe (<i>Artemisia absinthium</i>), achillée millefeuille (<i>Achillea millefolium</i>)

En résultat, parmi tous les végétaux testés, l'extrait de racines de la grande aunée (*Inula helenium*) s'est montré particulièrement efficace. Cet extrait permet de réduire significativement la fécondité des punaises (nombre d'œufs pondus divisé par 4 dans l'essai). Il induit également des déformations morphologiques tout comme les extraits de racines de l'inule odorante (*Inula graveolens*) et de l'inule visqueuse (*Inula viscosa*).

L'extrait de feuilles d'asaret d'Europe (*Asarum europaeum*, de la famille des aristolochiacées) a permis de réduire significativement la fécondité et a ralenti le développement des larves.

L'extrait de fleurs de souci (*Calendula officinalis*) a présenté une haute toxicité et a eu un impact sur la durée de développement des larves et sur la capacité reproductrice des adultes.

Enfin, des extraits de feuilles de rumex crépu (*Rumex crispus*) et de grande oseille (*Rumex acetosa*) ne se sont pas montrés très toxiques mais ont causé une forte mortalité lors du passage au stade adulte puis une baisse de la ponte.

Les autres plantes n'ont pas montré d'effets toxiques ou perturbateurs significatifs.

En remarque, des espèces et genres de plantes qui n'ont pas manifesté d'efficacité dans cette étude ont pourtant montré une certaine activité insecticide lors d'autres expérimentations. Les origines de ces différences peuvent avoir différentes raisons :

- Même des espèces végétales proches peuvent synthétiser différents métabolites secondaires.
- Les procédures d'extraction n'étaient pas les mêmes et ont privilégié peut-être l'obtention de différentes molécules.
- Les insectes étudiés ont réagi différemment.
- Les modalités d'application ont provoqué des réponses distinctes.

1.1.3 Lutte contre les lépidoptères

■ Lutte contre le bombyx défoliateur *Lymantria dispar* (Moretti et al., 2002 ; Kostić et al., 2008)

Le bombyx défoliateur (*Lymantria dispar*) représente une menace pour les arbres des forêts, des vergers mais aussi pour les arbres de l'environnement urbain (Kostić et al., 2008).

D'abord, Moretti et al. (2002) se sont intéressés à l'effet anti-appétent et toxique de sept huiles essentielles (HE) en émulsion. Ils ont au préalable déterminé quels étaient les principaux composants des HE étudiées à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC/MS). Le tableau 5 résume les différentes données acquises.

Tableau 5 : Effet de différentes émulsions d'huiles essentielles sur les chenilles *Lymantria dispar* (Kostić et al., 2008)

¹ pourcentage de mortalité enregistré 72 h après l'application d'une solution contenant 1 % d'huile essentielle

HE testées, noms communs et latins des plantes utilisées	Principaux composants détectés par GC/MS	Effet anti-appétent	Effet toxique sur chenilles ¹
Thym de Corse <i>Thymus herba-barona</i>	Carvacrol, thymol puis α -cimène	Moyen	Environ 80 %
Romarin <i>Rosmarinus officinalis</i>	α -pinène puis camphène, 1,8-cinéole, camphre et bornyl acétate	Faible	Environ 70 %
Cannelle <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Cinnamaldéhyde, eugénol	Faible	Environ 65 %
Immortelle d'Italie - <i>Helichrysum italicum</i> subsp. <i>microphyllum</i>	Néryl-acétate	Faible	Environ 62 %
Myrthe <i>Myrtus communis</i>	α -pinène et camphène	Faible	Environ 62 %
Gommier bleu <i>Eucalyptus globulus</i>	1,8-cinéole	Non	Environ 40 %
Sauge <i>Salvia officinalis</i>	Camphre et α -thuyone	Non	Environ 22 %

Les deux huiles essentielles qui sont apparues les plus intéressantes sont celles du thym de Corse et du romarin. D'après les recherches bibliographiques de l'équipe, l'effet toxique du thym est dû à la présence de carvacrol qui provoquerait la mort des cellules.

Puis, l'équipe de Moretti a cherché à microencapsuler ces deux huiles essentielles afin d'obtenir une formulation qui pourrait être commercialisable. La méthode définie a permis d'encapsuler 98 % de l'huile essentielle de chacune des deux plantes. La dose testée était de 0,3 mg/cm², soit une dose équivalente à celles généralement recommandées pour les traitements localisés avec des pesticides synthétiques en microgranulés (Moretti et al., 2002).

La toxicité de ces microcapsules s'est traduite par une paralysie des chenilles. Elle semble être maximale quand les microparticules se fixent aux poils des chenilles. En effet, des chenilles sans poils ont été étudiées en tant que témoins et se sont montrées moins vulnérables que les chenilles de bombyx. Par ailleurs, il faut faire attention à ne pas exposer ces microcapsules à l'humidité car les expérimentateurs ont détecté une perte de principes actifs en cas de stockage en environnement humide.

Une autre équipe d'expérimentateurs, Kostić et al. (2008) a étudié une solution éthanolique d'huile essentielle de basilic (*Ocimum basilicum*) pour son effet anti-appétent et toxique contre les chenilles de *L. dispar*. Il est apparu que les solutions testées n'ont montré qu'un effet larvicide faible ou modéré. Cependant, une mortalité chronique a été observée en conséquence d'un phénomène de non-alimentation des chenilles. Cette propriété anti-appétente est élevée. Une analyse de la composition de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse a permis de constater que le linalol sous ses deux formes isomères était le composé majoritaire.

■ La résistance face à la noctuelle *Agrotis ipsilon* (Abd El-Aziz et al., 2007)

La noctuelle *Agrotis ipsilon* est l'un des ravageurs causant le plus de dégâts en Egypte en attaquant diverses cultures de plein champ. Etant donné que la culture du basilic américain (*Ocimum americanum*) a été récemment développée en Egypte, il s'est avéré intéressant d'étudier l'éventuelle action de l'huile essentielle de cette plante contre *A. ipsilon*.

La puissance de l'HE a été évaluée en laboratoire et sur plantes en conditions contrôlées. L'effet toxique mais aussi répulsif a été mesuré sur les différents stades de développement de la noctuelle.

Dans un premier temps, la constitution chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation a été analysée par chromatographie liquide et gazeuse. L'étude a fait apparaître la présence majoritaire d'eugénol à un taux de 28,5 % et de méthyl chavicol à 17,3 %.

En remarque, l'eugénol (4-allyl-2-méthoxyphénol) est un composé phénolique qui est également retrouvé en grande quantité dans le laurier (*Laurus sp.*) ou dans l'huile de clou de girofle et qui peut être utilisé en tant que répulsif contre un large spectre d'insectes. Concernant les conditions d'emploi, l'eugénol est irritant mais non dangereux pour l'environnement (Copping & Duke, 2007).

Pour la mesure de l'effet insecticide, des larves d'*A. ipsilon* au 4^e stade de développement ont été nourries avec des appâts. Ces appâts de 125 g ont été au préalable traités avec 0,5 g de solution contenant de 0,25 à 3 % v/p d'HE. Les observations ont porté sur la mortalité larvaire, le taux de transformation en pupes, l'émergence des adultes et leurs malformations éventuelles ainsi que la ponte d'œufs. Pour chacun de ces critères, les résultats ont montré une corrélation positive entre la concentration en HE apportée et son effet toxique.

L'eugénol a été évalué de la même manière, les tendances sont les mêmes mais les effets provoqués sont moins prononcés (voir tableau ci-dessous).

Tableau 6 : Effet d'une nourriture saine ou traitée avec une solution d'huile essentielle ou d'eugénol issu d'*O. americanum* sur des larves d'*A. ipsilon* (Abd El-Aziz et al., 2007)

Appâts servis	Sain	Traité avec une solution à 3 % en HE	Traité avec une solution à 3% en eugénol
Mortalité larvaire	5 %	65 %	40 %
Transformation en puce	95 %	35 %	60 %
Pupes malformées	0 %	13 %	7 %
Emergence d'adultes	95 %	22 %	53 %
Adultes malformés	0 %	11 %	5 %
Taux d'éclosion	98 %	45 %	75 %

En outre, les effets répulsif et inhibiteur de la ponte de la part de l'HE et de l'eugénol ont été estimés sur plants de coton. Il a été pulvérisé sur 5 pots contenant chacun 5 plants de coton 1 litre de solution aqueuse contenant une émulsion d'HE à 2 et 3 %. Ces pots ont ensuite été placés dans une cage d'1,25 m³. 30 paires de papillons y ont été lâchées. Tout comme les constats précédents, l'huile essentielle d'*Ocimum americanum* a été plus efficace que l'eugénol seul et il est apparu que la longévité des adultes était écourtée. Puis, plus la dose est importante, meilleur est le résultat.

Tableau 7 : Effets d'une pulvérisation en huile essentielle d'*O. americanum* ou en eugénol sur des adultes d'*A. ipsilon* (Abd El-Aziz et al., 2007)

Modalité testée	Témoin (pas de traitement)	Pulvé. à 3 % en huile essentielle	Pulvé. à 3% en eugénol
Effet répulsif	0	66,4 %	35,9 %
Longévité des femelles	10,4 jours	3 jours	8,8 jours
Nombre moyen d'œufs pondus par femelle	1330	450	4 850

Nous remarquons donc que l'eugénol participe à la toxicité de l'huile essentielle de basilic américain mais que d'autres composés toxiques sont également efficaces et/ou que l'eugénol agit en synergie avec d'autres molécules.

■ **Screening (criblage) de plantes sur leur action anti-appétente contre le ver du cotonnier *Spodoptera littoralis* (Sharma & Bisht, 2008)**

Le ver du cotonnier *Spodoptera littoralis* est un lépidoptère très polyphage, attaquant solanacées, brassicacées, légumineuses fourragères, maïs et coton. Cette noctuelle est issue de l'Égypte et est retrouvée dans le bassin méditerranéen (Inra, en ligne - www.inra.fr/hyppz/RAVAGEUR/3spolit.htm).

Ces dernières années, des travaux ont été menés en région méditerranéenne et en Inde. En Inde, un screening de 50 plantes a été effectué pour juger leur potentiel anti-appétent notamment en fonction de la modalité d'extraction (c'est-à-dire en fonction du solvant utilisé lors de l'extraction).

50 g de feuilles de chaque plante considérée ont été broyées puis mis dans 250 ml d'acétone, d'hexane ou d'éther de pétrole. Chaque solution a été rediluée (doses non précisées) puis appliquée sur des feuilles données en tant que nourriture à des larves de 7 jours.

Une méthode de calcul a permis de classer les différents extraits étudiés selon leur degré d'anti-appétence.

Sur les 50 plantes étudiées, 6 ont montré un fort pouvoir anti-appétent :

- *Ocimum sanctum*, *Embllica officinalis*, *Ficus glomerata*, issues d'Inde et d'Asie du Sud-Est.
- La morelle noire (*Solanum nigrum*).
- Le chiendent (*Cynodon dactylon*).
- *Corchorus acutangulus*, plante tropicale.

Parmi les autres plantes à l'essai, à citer l'oignon et l'ail (*Allium cepa* et *Allium sativum*). La première espèce a montré un assez fort pouvoir anti-appétent tandis que la seconde n'a eu aucun effet. Le laurier rose (*Nerium oleander*) s'est montré efficace tout comme le margousier (*Azadirachta indica*) et l'eucalyptus bleu (*Eucalyptus globulus*). Enfin, la rose d'Inde, *Tagetes erecta*, n'a manifesté aucune action anti-appétente.

■ **Extrait de bellardie contre *Spodoptera littoralis* (Formisano et al., 2008)**

Des huiles essentielles issues de racines (extrait R) ou des parties aériennes (extrait A) de bellardie (*Bellardia trixago*) ont été évaluées pour la lutte contre le ver du cotonnier. Cette plante se trouve communément dans le bassin méditerranéen et les expérimentations ont été menées par une équipe italienne.

Une analyse qualitative des deux huiles essentielles s'est déroulée par spectrométrie de masse couplée à une chromatographie en phase gazeuse. Des essais visant à estimer l'activité anti-appétente et répulsive de A et de R ont été également mis en place.

Tableau 8 : Effet d'huiles essentielles de *Bellardia trixago* contre le ver du cotonnier (Formisano et al., 2008)

Huile essentielle	A (parties aériennes)	R (racines)
Composition	Riche en cétones Pas de monoterpènes ni de sesquiterpènes	Composée principalement d'acides et d'esters Peu de monoterpènes, pas de sesquiterpènes
Activité anti-appétente	Pas d'influence significative	Inhibition importante, significative par rapport au témoin
Effet répulsif (calculé par le nombre d'œufs pondus)	Pas d'effet significatif constaté	Effet répulsif significatif
Molécules supposées actives		Acide palmitique, acide linoléique et acide linoléique

Il a ainsi été constaté que l'HE de racines de bellardie possédait un potentiel répulsif et anti-appétent important à la différence de l'huile essentielle des parties aériennes qui n'a révélé aucune action.

■ *Chrysanthemum coronarium* et pyréthrine contre *S. littoralis* (Shonouda et al., 2008)

Un extrait éthanolique de fleurs de chrysanthème couronné (*Chrysanthemum coronarium*), plante retrouvée notamment dans les régions méditerranéennes, a été préparé et étudié pour ses effets contre *S. littoralis* et son parasitoïde, *Microplitis rufiventris*. L'extrait éthanolique, dilué dans de l'eau distillée à des doses comprises entre 5 et 20 %, a été pulvérisé sur des feuilles de ricin administrées pendant 1 à 2 jours à des larves du 3^{ème} stade.

Chaque préparation testée a permis de tuer les larves et d'inhiber leur développement (pupaison et émergence d'adultes) de manière significative par rapport au témoin. Une solution de concentration à 5 %, ingérée pendant 2 jours a provoqué une mortalité totale de 33 %, tandis qu'une solution 20 % a déclenché 53 % de mortalité.

Ensuite, 3 fractions ont été séparées au sein de l'extrait par 3 solvants : acétate d'éthyle, chloroforme et pétrole. Les fractions à l'acétate d'éthyle et au chloroforme ont fourni de très bons résultats apportées aux doses de 15 et 20 %, en éliminant par exemple 100 % de la population à la dose de 20 % administrée pendant 2 jours. Les doses de 5 % et 10 % apportent de moins bons résultats mais qui restent significativement supérieurs par rapport au cas témoin.

Ces deux fractions, à la dose de 5 %, ont été également servies à des adultes de l'auxiliaire *M. rufiventris* et à des larves parasitées afin de juger de leur sélectivité. Elles ont provoqué une baisse de l'émergence d'adultes auxiliaires (36 et 40 % en moins par rapport au témoin) mais qui n'est pas significative.

Enfin, les composants des fractions à l'acétate d'éthyle et au chloroforme ont été déterminés par GC/MS :

- La fraction à l'acétate d'éthyle contenait en majorité du 3-dihydro-méthylène-2-(3H)furanone, puis du jasmoline I, du carvéol-1 (dérivé de carvone), du tributyl ester d'acide phosphorique et de la cinérine II. La jasmoline et la cinérine étant deux pyréthrine.
- La fraction au chloroforme était principalement constituée du 5-hydroxy-3-méthyl-1H-pyrazole et du carvéol-1.

Les expérimentateurs font référence à l'article de Meisner et al. (1982) pour confirmer que le carvone a bien un effet insecticide contre le ver du cotonnier.

Pour compléter les résultats des trois études précédentes contre le ver du cotonnier, une expérimentation menée par Rodilla et al. (2008) sur le laurier de madère (*Laurus novocanariensis*), a montré que le sesquiterpène β -caryophyllène et son oxyde ont des propriétés anti-appétentes pour ce ver ainsi que pour le doryphore *Leptinotarsa decemlineata*.

Puis, cité dans Abd El-Aziz et al. (2007), *Ocimum basilicum* a montré une action insecticide contre les larves de ce ravageur et un effet répulsif contre les adultes.

1.1.4 Protection des pins des forêts contre la chenille processionnaire *Thaumetopoea pityocampa*

La processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa*) est un lépidoptère dont la chenille se développe sur le pin noir d'Autriche et le pin laricio (*Pinus nigra* subsp.) ainsi que sur le pin maritime (*Pinus pinaster*). Elle peut aussi être observée sur le pin sylvestre (*Pinus sylvestris*), le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) et plus rarement sur les cèdres (*Cedrus atlantica* et *C. libanis*). L'espèce est surtout fréquente autour du bassin méditerranéen et le long de la côte atlantique. La colonisation des arbres par ces chenilles mène à une défoliation sévère, ce qui génère un dépérissement des rameaux et un affaiblissement des arbres. Il s'ensuit une plus grande vulnérabilité aux maladies et aux parasites (Lequet, en ligne - www.insectes-net.fr/processionnaire/process2.htm).

Cette chenille représente un fléau en Turquie également. C'est pourquoi, l'équipe de Kanat et Alma (2004) a évalué le potentiel de 9 plantes natives de ce pays pour détruire les larves de *T. pityocampa*.

Ce sont les huiles essentielles de ces plantes qui ont été testées soit pures, soit diluées dans une solution éthanolique à 95 %, afin d'atteindre des concentrations de 25 et de 50 % en HE. Ensuite, 2 ml de chaque solution obtenue ont été directement versés sur 50 larves et le temps moyen lors duquel toutes les chenilles sont mortes a été déterminé. 4 répétitions ont été réalisées pour chaque modalité.

Chacune des solutions s'est montrée très active sur les larves des processionnaires et ce, aux trois concentrations en HE testées. Dans le tableau suivant, le temps après lequel toutes les chenilles sont mortes est indiqué pour l'apport d'une solution contenant 50 % d'HE.

Tableau 9 : Effet d'huiles essentielles de 9 plantes en solution sur les larves de *T. pityocarpa* et les principes actifs contenus dans ces huiles essentielles (Kanat & Alma, 2004)

Origine de l'huile essentielle	Temps de mortalité (min) – (dose de 50 %)*	Composés actifs (d'après une étude bibliographique par les chercheurs)
Bois de <i>Pinus brutia</i>	0,51	α et β-pinène, camphène, β-carène, limonène, myrcène
Branches de <i>Thymus vulgaris</i>	0,60	Carvacrol, α-cymol, thymol, pinène
Baies de <i>Juniperus communis</i>	0,65	α-pinène, camphène, humulène...
Feuilles de <i>Laurus nobilis</i>	0,59	1,8-cinéole, géraniol, eugénol
Fleurs de <i>Lavandula stoechas</i>	1,18	Phencone, bornéol, terpinéol, 1,8-cinéole
Fruits de <i>Cupressus sempervirens</i>	1,37	Monoterpènes
Feuilles de <i>Lavandula angustifolia</i>	1,48	Linalol, acétate de linalyl, 1,8-cinéole, eugénol...
Feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	2,14	1,8-cinéole, géraniol, eugénol, citronnellal
Résine de <i>Liquidambar orientalis</i>	2,42	Alcool de cinnamyl, styracine, styrogénine, styrène...

Il n'y a pas eu de différence significative dans les réponses des larves mises au contact de solutions à 50 et à 100 % d'HE. Les solutions à 25 % d'HE ont montré une efficacité plus faible mais tout de même existante. A titre de comparaison, les molécules de synthèse deltaméthrine et cyperméthrine ont déclenché la mort de toutes les larves après 1,2 et 1,6 minutes respectivement par le biais de solutions à seulement 2,5 % de matière active.

1.1.5 Lutte contre les coléoptères et lépidoptères par les diterpènes ryanoides

Les extraits tirés de *Ryania* spp., plante tropicale originaire d'Amazonie, sont généralement riches en diterpènes nommés **ryanoïdes** qui sont classés en deux catégories (González-Coloma *et al.*, 1999) :

- Ryanoïdes non alcaloïdiques de type ryanodol/ isoryanodol (classe NA)
- Ryanoïdes alcaloïdiques de type ryanodine/ spiganthine (classe A)

Les ryanodines affectent le fonctionnement des muscles des insectes en maintenant ouverts les canaux sodium. Les molécules de types ryanodol sont plus sélectives (González-Coloma *et al.*, 1999).

L'extrait de *Ryania* spp. est inclus dans des préparations homologuées aux Etats-Unis pour lutter contre le carpocapse *Cydia pomonella*, la pyrale *Ostrinia nubilalis* ou encore le thrips *Scirtothrips citri* sur lesquels ce produit possède une forte action. Les applications ont lieu en curatif et le produit n'est pas systémique. Le point faible de cette préparation est qu'elle est très toxique envers la faune aquatique et moyennement sur les mammifères (Extension Toxicology Network, 1996 - extoxnet.orst.edu/pips/ryania.htm ; Copping & Duke, 2007).

L'équipe de González-Coloma (1999) a travaillé sur différentes molécules : 6 ryanodols et 3 isoryanodols isolés à partir de *Persea indica* (Lauracées) ainsi que 9 ryanoides de classe A issus de *Spigelia anthelmia* (Loganiacées). Leur objectif était de déterminer l'effet exact de chaque molécule sur le comportement du ver du cotonnier *Spodoptera littoralis* et du doryphore *Leptinotarsa decemlineata*.

Lors des tests sur le pouvoir anti-appétent des différentes molécules, il est apparu que le ver du cotonnier était très sensible à chaque composé et que le doryphore l'était moins. Les plus fortes inhibitions ont été obtenues avec les composés NA et en particulier, les ryanodols. Un ryanodol a eu le pouvoir de repousser 100 % des vers et 70 % des coléoptères. Le meilleur taux d'inhibition de ces derniers atteint 80 % grâce à un autre ryanodol. Les résultats des tests suggèrent que l'effet anti-appétent est apporté par l'activation de récepteurs spécifiques, ce qui explique les différences constatées entre les lépidoptères et les coléoptères.

Cette étude a permis de révéler que plus de 60 % des ryanoides NA sont anti-appétents et/ou toxiques tandis que 30 % des composés A le sont. En remarque, il s'est avéré que l'effet anti-appétent n'est généralement pas corrélé à l'effet toxique.

1.2 La protection des denrées stockées

1.2.1 Lutte contre la bruche *Acanthoscelides obtectus* (coléoptère) par fumigation

Parmi les insectes ennemis des cultures stockées, les bruchidés représentent une famille fortement étudiée par les scientifiques de par leur manipulation aisée mais aussi parce qu'ils causent des dégâts économiquement importants dans différentes régions du monde. D'abord, dans les années 1990, l'équipe de Regnault-Roger a étudié le pouvoir toxique de diverses huiles essentielles sur des adultes. Papachristos & Stamopoulos ont effectué des essais plus approfondis dans les années 2000. Ils ont étudié dans un premier temps l'effet répulsif et toxique de différentes huiles essentielles avant de sélectionner les trois meilleures huiles essentielles et de tester leur efficacité sur les œufs et les différents stades larvaires des bruches.

■ La détection des meilleures huiles essentielles agissant en fumigation

L'effet insecticide d'huiles essentielles fumigées a été d'abord évalué sur des adultes d'*A. obtectus* par Regnault-Roger *et al.* (1993). Une partie des analyses a consisté à la détermination des principaux composés volatils contenus dans chaque huile essentielle par analyses chromatographiques en phase gazeuse.

Ensuite, 10 paires d'adultes ont été introduits dans des cages où se trouvait du papier imbibé d'huile essentielle. La concentration en HE variait de 1,5 à 1000 mg/dm³. Chaque traitement a été effectué 3 fois. Des analyses statistiques ont permis de distinguer différents groupes d'huiles essentielles selon la valeur de la LC 50 après 24 h de fumigation. La LC 50 correspond à la concentration en huile essentielle ayant pour effet de supprimer la moitié de la population de bruches (dans le cadre de la recherche de nouvelles matières actives insecticides, cette donnée est très souvent calculée).

Le tableau qui suit classe les différentes huiles essentielles selon leur effet toxique, *Thymus serpyllum* étant le plus toxique et *Petroselinum sativum* le moins toxique.

Tableau 10 : Classement de différentes huiles essentielles selon leur pouvoir toxique sur des adultes d'*A. obtectus* (Regnault-Roger *et al.*, 1993 ou Regnault-Roger, 2008)

Degré d'activité	Plus actives LC 50 < 10 mg/dm ³	Intermédiaires 10 mg/dm ³ < LC 50 < 100 mg/dm ³	Moins actives LC 50 > 100 mg/dm ³
Huiles essentielles étudiées	<i>Thymus serpyllum</i> <i>Origanum majorana</i> <i>Cinnamomum verum</i> <i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Ocimum basilicum</i> <i>Cuminum cyminum</i> <i>Satureja hortensis</i> <i>Thymus vulgaris</i> <i>Salvia officinalis</i> <i>Coriandrum sativum</i> <i>Origanum vulgare</i>	<i>Mentha x piperita</i> <i>Verbena officinalis</i> <i>Laurus nobilis</i> <i>Lavandula angustifolia</i> <i>Cymbopogon nardus</i> <i>Eucalyptus globulus</i> <i>Citrus limon</i>	<i>Myristica fragrans</i> <i>Apium graveolens</i> <i>Petroselinum sativum</i>

En **gras** sont représentées les 6 huiles essentielles les plus toxiques.

L'effet de ces huiles essentielles sur les différentes étapes de la reproduction d'*A. obtectus* a également été évalué. Le tableau 11 correspond à la compilation de ces données (Regnault-Roger, 2008).

Tableau 11 : Classement de différentes huiles essentielles selon leur pouvoir inhibiteur révélé significatif sur les différents stades de développement d'*A. obtectus* (Regnault-Roger, 2008)

Phases inhibées	Ponte	Pénétration larvaire	Emergence	
Huiles essentielles étudiées	<i>Eucalyptus globulus</i> <i>Salvia officinalis</i> <i>Apium graveolens</i> <i>Verbena officinalis</i>	<i>Thymus vulgaris</i> <i>Origanum vulgare</i> <i>Eucalyptus globulus</i> <i>Laurus nobilis</i>	<i>Thymus vulgaris</i> <i>Thymus serpyllum</i> <i>Origanum vulgare</i> <i>Laurus nobilis</i> <i>Ocimum basilicum</i> <i>Salvia officinalis</i>	<i>Coriandrum sativum</i> <i>Cinnamomum verum</i> <i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Petroselinum sativum</i> <i>Eucalyptus globulus</i> <i>Lavandula angustifolia</i>

Concernant les travaux de *Papachristos et Stamopoulos* (2002a), 13 huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau ont été comparées sur leur effet répulsif, sur leur impact sur la ponte des œufs ainsi que sur l'émergence d'une nouvelle génération.

Tableau 12 : Effets de différentes huiles essentielles sur le comportement et le développement d'*A. obtectus* (Papachristos & Stamopoulos, 2002a)

HE testées, noms communs et latins des plantes utilisées	Partie de plante étudiée	Effet répulsif ¹	Ponte d'oeufs ²	Emergence d'adultes ²	LC 503
Céleri <i>Apium graveolens</i>	Tiges et feuilles	++	NS	NS	/
Oranger <i>Citrus sinensis</i>	Ecorce de fruits mûrs	NS	NS	NS	Elevée
Eucalyptus bleu <i>Eucalyptus globulus</i>	Feuilles	++	--	--	/
Genévrier cade <i>Juniperus oxycedrus</i>	Feuilles	++	NS	NS	/
Laurier sauce <i>Laurus nobilis</i>	Fruits immatures	++	NS	NS	Moyenne
Lavandin <i>Lavandula hybrida</i>	Plante en fleurs	++	--	--	Faible
Menthe verte <i>Mentha microphylla</i>	Plante en fleurs	++	--	--	Faible
Menthe verte <i>Mentha viridis</i>	Plante en fleurs	++	--	NS	Faible
Basilic <i>Ocimum basilicum</i>	Plante en fleurs	+	NS	--	/
Origan <i>Origanum vulgare</i>	Plante en fleurs	++	NS	NS	/
Térébinthe <i>Pistacia terebinthus</i>	Fruits immatures	NS	NS	NS	Elevée
Romarin <i>Rosmarinus officinalis</i>	Pousses en fleurs	++	--	--	Faible
Thuya d'orient <i>Thuja orientalis</i>	Fruits immatures	NS	NS	NS	/

¹ L'effet répulsif est évalué par un test à deux choix : une femelle inséminée est placée dans une boîte où d'un côté se trouvent des haricots seuls et de l'autre, d'autres haricots à côté d'un coton imbibé d'huile essentielle. La ponte des femelles sur tels ou tels haricots a ensuite été calculée sur 8 jours (**NS : non significatif**, signifie : donnée non significative par rapport à la valeur du témoin).

² La ponte des femelles et l'émergence d'adultes ont été évaluées lors d'un test en non choix, c'est-à-dire que les femelles inséminées ne se trouvaient que dans un environnement où se diffusait la vapeur d'huile essentielle. Les annotations « -- » indiquent que les vapeurs d'huiles essentielles bloquent la ponte et l'émergence d'adultes.

³ Rappel : Plus la LC 50 est faible, plus l'huile essentielle est toxique (les « / » indiquent que ces données n'ont pas été calculées).

Ainsi, *Mentha viridis*, *Mentha microphylla*, *Rosmarinus officinalis*, *Lavandula hybrida* et *Eucalyptus globulus* sont les huiles essentielles les plus efficaces pour lutter contre *A. obtectus*. En effet, leurs vapeurs sont fortement actives contre la ponte des œufs et la fécondité des femelles, ceci même à faible dose (LC 50 faibles).

Si nous comparons les résultats obtenus par chacune des deux équipes, nous constatons les faits suivants :

- Les HE de *Laurus nobilis*, d'*Apium graveolens* et d'*Origanum vulgare* n'ont montré que des qualités répulsives lors de l'expérimentation menée par l'équipe grecque, alors que Regnault-Roger et al. (1993) ont détecté un effet inhibiteur sur la ponte de la part d'*A. graveolens* et un effet inhibiteur sur l'émergence par l'HE de *L. nobilis* et d'*Origanum vulgare*.
- Les résultats s'accordent pour affirmer que l'HE d'*Ocimum basilicum* empêche l'émergence des adultes et elle posséderait en outre une forte toxicité sur les adultes.
- L'HE de lavandin, *L. hybrida*, est plus intéressante que l'HE de lavande, *L. angustifolia*. De même, les menthes *M. microphylla* et *M. viridis* paraissent être dotées d'un meilleur pouvoir toxique que *M. x piperita*.

- L'HE d'*Eucalyptus globulus* est efficace pour inhiber le développement des bruches, que ce soit des œufs ou des larves. Mais son activité toxique contre les adultes n'est qu'intermédiaire. L'autre qualité de cette HE est son fort degré de répulsion.
- L'HE de *R. officinalis* s'est montrée la plus toxique outre ses propriétés répulsives.

Ainsi, ces deux études apportent des résultats concordants et d'autres plutôt contradictoires. Il est difficile de savoir si les résultats sont dépendants de l'origine de l'HE ou des conditions d'expérimentations. Papachristos & Stamopoulos ont mené des études plus approfondies sur les HE de *L. hybrida*, *R. officinalis* et *E. globulus* dont les résultats sont résumés dans les parties suivantes.

■ L'effet toxique des meilleures huiles essentielles sur les larves et pupes de bruches (Papachristos & Stamopoulos, 2002b)

Papachristos et Stamopoulos ont, dans une deuxième partie d'essais, testé les trois huiles essentielles qui ont fourni les meilleurs résultats. Les HE testées étaient issues de fleurs de *L. hybrida*, de feuilles de *R. officinalis* et de fruits immatures d'*E. globulus*. Il s'agissait de déterminer les LC 50 ainsi que la température et le temps de contact optimaux par rapport à l'activité des huiles essentielles sur les larves et les pupes.

Tableau 13 : Effet de trois vapeurs d'huiles essentielles sur la mortalité de larves et pupes de bruches *A. obtectus* (Papachristos & Stamopoulos, 2002b)

Plante	LC50 (µl/l air) sur les différents stades larvaires (L1, L2 et L3-4) et les pupes				Temps de contact optimal	Température optimale
	L1	L2	L3-4	pupe		
<i>Lavandula hybrida</i>	0,6	1,5	8	43,3	2 jours (dose testée de 2 µl)	10 – 18 °C
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1,1	2,2	10,6	62,7	2 j (dose testée de 2,5 µl)	15 – 18 °C
<i>Eucalyptus globulus</i>	3,4	4,8	18,7	76,6	2 j (dose testée de 6 µl)	10 – 18 °C

Ainsi, les expérimentateurs ont constaté que plus les larves de bruches se développaient, moins elles étaient sensibles aux vapeurs d'huiles essentielles. Les pupes se sont avérées être plus résistantes encore que les larves. Ensuite, des temps de contact de 48 h sont nécessaires pour que les huiles essentielles agissent de manière optimale mais des temps d'expositions plus longs ne sont pas nécessaires. Puis, les vapeurs ont une action plus efficace à des températures comprises entre 10 et 20 °C. Enfin, l'huile essentielle de lavandin apparaît comme étant la plus toxique par fumigation sur les larves et les pupes d'*A. obtectus*.

■ Toxicité des vapeurs d'huiles essentielles sur les œufs d'*A. obtectus* (Papachristos et al., 2004)

Une fois la toxicité sur les larves estimée, la toxicité sur les œufs a été évaluée.

Tableau 14 : Effet de trois vapeurs d'huiles essentielles sur la mortalité des œufs d'*Acanthoscelides obtectus* (Papachristos & Stamopoulos, 2004)

Plante	Valeur de la LC50 (µl/l air) en fonction de l'âge des œufs traités (0 à 6 j)			
	0-3 j	4 j	5 j	6 j
<i>Lavandula hybrida</i>	> 250	11,1	5	2,4
<i>Rosmarinus officinalis</i>	> 250	14,9	3,7	1,3
<i>Eucalyptus globulus</i>	> 250	35,1	12,1	7,9

Dans chacun des tests, l'huile essentielle d'eucalyptus s'est montrée la moins nocive sur le développement des œufs de bruche. L'HE de *L. hybrida* et celle de *R. officinalis* ont fourni des résultats non significativement différents sauf sur les œufs de 6 jours où le romarin s'est montré plus actif. D'autre part, il est apparu que les œufs n'étaient sensibles qu'à partir de l'âge de 4 jours. L'hypothèse émise est donc que les vapeurs d'huiles essentielles libèrent des monoterpénoïdes à action neurotoxique et que l'activité ovicide n'est donc constatée qu'avec la formation du système nerveux dans l'œuf. Il est aussi possible que la paroi des œufs ne devienne perméable aux composés volatils toxiques qu'au bout d'un certain temps.

Puis, la durée d'exposition et la quantité d'huile essentielle fumigée ont un effet significatif sur l'éclosion des œufs. En effet, tandis qu'une fumigation des œufs pendant 1 à 2 jours n'a pas d'effet sur l'éclosion, une mise en contact de 6-7 jours provoque une inhibition totale de l'éclosion des œufs. Finalement, une mortalité post-embryonnaire significativement plus élevée par rapport au témoin est constatée si les œufs ont été au contact des vapeurs pendant 5 jours au moins.

En tout cas, le fait que pour une même espèce d'insecte considérée, la réponse à une huile essentielle donnée est variable selon la dose apportée, la période de mise en contact, la température extérieure et le stade de développement induit qu'aucune étape d'expérimentation ne doit être négligée.

De plus, les possibilités d'employer ces HE par fumigation pour contrôler le développement d'insectes sur des produits stockés méritent d'être étudiées plus en profondeur pour voir si ces huiles essentielles peuvent être utilisées en conditions réelles de stockage mais aussi pour évaluer les coûts de leur préparation et identifier l'équipement requis.

■ Mise en relation de l'efficacité des huiles essentielles et des composés chimiques qu'elles contiennent (Papachristos, Karamanoli et al., 2004)

La composition chimique des trois plantes étudiées a été analysée par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (méthode GC/MS). Des différences qualitatives et quantitatives ont été constatées selon la partie de la plante étudiée (cas pour *L. hybrida*) mais aussi selon la saison où la plante a été collectée (cas d'*E. globulus*).

Tableau 15 : Composition des huiles essentielles de lavandin, de romarin et d'eucalyptus bleu selon l'organe utilisé ou la période de récolte (Papachristos et al., 2004).

Espèce	Organes, période de récolte	Principaux composants retrouvés dans l'huile essentielle
<i>L. hybrida</i>	feuilles	1,8-cinéole, camphre, bornéol
	fleurs	Linalol, 1,8-cinéole et camphre
<i>R. officinalis</i>	feuilles	Camphre, 1,8-cinéole suivis de l' α -pinène, du bornéol, de la verbénone, du limonène, du linalol, du camphène et du terpinène-4-ol
<i>E. globulus</i>	feuilles de juillet et de décembre	α - cimène et spatulénol
	feuilles de juin	α -phéllandrène

Il est apparu que les composés oxygénés de terpénoïdes étaient plus toxiques que les hydrocarbures. Les vapeurs d'huiles essentielles de feuilles de lavande et de romarin se sont montrées les plus toxiques, suivies de celle de l'huile essentielle de fleurs de lavande et de fruits mûrs d'eucalyptus. Concernant les composés chimiques, le terpinène-4-ol, le camphre, le 1,8-cinéole, la verbénone ainsi que le linalol ont montré une activité insecticide élevée sur les mâles et femelles d'*A. obtectus*. Il a été remarqué que, d'une manière générale, l'effet toxique est plus visible sur les mâles que sur les femelles et ce constat est appuyé par ceux de l'équipe de Regnault-Roger (Papachristos et al., 2004).

A titre de comparaison, nous pouvons reprendre les travaux de Regnault-Roger et al. (1993) qui ont également porté sur la composition des HE issues des 22 plantes étudiées.

Tableau 16 : Composition de 22 huiles essentielles testées pour leur toxicité contre *Acanthoscelides obtectus* (Regnault-Roger et al., 1993)

Plante utilisée (nom latin)	Groupes statistiquement différent selon la LC 50	Principaux composants détectés par GC/MS
<i>Thymus serpyllum</i>	1	thymol, carvacrol, β -cymène
<i>Origanum majorana</i>	1	terpinène-4-ol, linalol, β -terpinène
<i>Cinnamomum verum</i>	1	cinnamaldéhyde, eugénol
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1	camphre, bornéol, 1,8-cinéole
<i>Ocimum basilicum</i>	1	linalol, limonène, eugénol, estragol
<i>Cuminum cyminum</i>	1	cuminaldéhyde, β -pinène, β -terpinène
<i>Satureja hortensis</i>	1	carvacrol, thymol, linalol
<i>Thymus vulgaris</i>	1	thymol, β -cymène, β -caryophyllène
<i>Salvia officinalis</i>	1	thuyone, linalyl-acétate, β -caryophyllène
<i>Coriandrum sativum</i>	1	linalol, β -pinène, β -terpinène
<i>Origanum vulgare</i>	1	carvacrol, thymol, β -cymène
<i>Mentha x piperita</i>	2	menthone, menthol, isomenthone
<i>Verbena officinalis</i>	2	carvone, limonène, citral
<i>Laurus nobilis</i>	2	1,8-cinéole, sabinène, acétate de terpinyl
<i>Lavandula angustifolia</i>	2	acétate de linalyle, linalol, β -caryophyllène
<i>Cymbopogon nardus</i>	2	citronella, géraniol, citronellol
<i>Eucalyptus globulus</i>	2	1,8-cinéole, β -pinène, β -cymène
<i>Anethum graveolens</i>	2	limonène, carvone, β -myrcène
<i>Myristica fragrans</i>	3	β -pinène, sabinène, myristine
<i>Citrus limon</i>	2	limonène, β -pinène
<i>Apium graveolens</i>	3	limonène, sesquiterpène
<i>Petroselinum sativum</i>	3	apiole, thymol

Les meilleures huiles essentielles contiennent bien le terpinène-4-ol, le camphre, le 1,8-cinéole, et le linalol.

Ces études ont ensuite permis à Regnault-Roger (2008) de classer les principaux composés présents dans les huiles essentielles selon leur niveau de toxicité (tableaux 17 et 18).

Tableau 17 : Classement des principales molécules retrouvées dans les huiles essentielles selon leur pouvoir toxique sur des adultes d'*A. obtectus* (Regnault-Roger, 2008)

Degré d'activité	Plus actives LC 50 < 5 mg/l	Intermédiaires 5 mg/l < LC 50 < 20 mg/l	Moins actives LC 50 > 20 mg/l
Monoterpènes, polyphénols et phénylpropanoïdes	carvacrol linalol eugénol thymol terpinéol	cuminaldéhyde β -cymène anéthol cinnamaldéhyde	estragol bornéol β -pinène

Tableau 18 : Classement des principales molécules retrouvées dans les huiles essentielles selon leur pouvoir inhibiteur sur les différents stades de développement d'*A. obtectus* (Regnault-Roger, 2008)

Phases inhibées	Ponte	Pénétration larvaire	Emergence
Monoterpènes, polyphénols et phénylpropanoïdes	linalol thymol carvacrol	linalol thymol eugénol anéthol	carvacrol linalol eugénol thymol terpinéol

Les données suivantes donnent des indications sur le mode d'action de ces composés terpénoïdes et composés phénoliques :

D'abord, il est admis que les monoterpénoïdes sont neurotoxiques et qu'ils agissent sur différentes cibles selon leur nature chimique (Regnault-Roger, 2008). Par exemple, le terpinène-4-ol et le 1,8-cinéole provoquent une inhibition de l'acétylcholinestérase. Le thymol perturbe les synapses où le neurotransmetteur est l'acide γ -aminobutyrique. Aussi, l'eugénol aurait un effet spécifique sur les récepteurs de l'octopamine qui est un neuromodulateur et une neurohormone. L'octopamine est propre aux arthropodes et ce transmetteur participe à la tolérance relative des mammifères à ce genre de composés.

De plus, l'activité d'un monoterpénoïde semble dépendre de l'espèce d'insecte visé. A titre de comparaison, l' α -terpinène n'a pas été très toxique envers *A. obtectus* alors que, d'après les recherches bibliographiques de Papachristos *et al.* (2004), ce composé a été déterminé comme étant très toxique sur un autre bruche, *Callosobruchus maculatus*.

Enfin, Papachristos *et al.* (2004) ont déterminé, à l'instar d'autres équipes scientifiques, que des variations structurales mineures d'un monoterpénoïde pouvaient mener à d'importantes variations d'efficacité du composé en question. Par exemple, le terpinène-4-ol est 12 fois plus actif que son isomère, l' β -terpinéol.

En ce qui concerne les polyphénols, leurs modes d'action sont multiples et des effets antimicrobiens directs et indirects ont été signalés (El Modafar *et al.*, 2008) :

- Effets directs : effets biostatiques ou biocides. Ex : action inhibitrice de l'activité des enzymes hydrolytiques parasitaires (défenses naturelles), altérations membranaires, inhibitions intracellulaires.
- Effets indirects : l'oxydation des composés phénoliques mène à la formation d'autres composés toxiques, inhibiteurs, etc. Enfin, les composés phénoliques interviennent dans le renforcement des parois végétales permettant d'apporter une protection supplémentaire.

Enfin, Papachristos *et al.* (2004) ont constaté qu'une huile essentielle brute avait un pouvoir insecticide plus élevé que les monoterpénoïdes et phénols utilisés séparément.

En effet, comme le précise Regnault-Roger (2008) pour les plantes aromatiques, les plantes exercent une double activité de par la présence d'un cocktail de ces différentes molécules :

- Elles déciment une partie de la population adulte : les monoterpènes confèrent une action toxique rapide de type inhalatoire tandis que les polyphénols fournissent une activité insecticide d'une intensité moindre mais qui s'exerce dans la durée.
- Elles inhibent la fécondité et possèdent une action ovicide et larvicide.

Pourtant, l'utilisation de ces composés purs est plus aisée car ce sont des produits qui peuvent être standardisés et que leur activité est plus facilement prédictible sur les insectes.

1.2.2 Lutte contre d'autres bruches : *Callosobruchus* spp.

■ L'huile essentielle de citronnelle contre *C. maculatus* (Raja & William, 2008)

D'autres essais ont été menés contre la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus*) avec des huiles essentielles commerciales issues de trois espèces de citronnelle (*Cymbopogon winterianus*, *C. flexuosus* et *C. martini*), de vétiver (*Vetiveria zizanioides*) et d'eucalyptus citronné (*Eucalyptus citriodora*).

Tableau 19 : Effets larvicides et insecticides d'huiles essentielles sur la bruche du niébé (Raja & William, 2008)

Huile essentielle	Effet ovicide	Effet insecticide
- Protocole -	- Des graines de niébé ont été placées en flacon, traitées à la dose de 40 ml d'huile/kg de graines. Puis 5 couples de bruches ont été introduits. Les comptages ont été effectués 10 jours après. -	- 10 couples de bruches ont été placés dans des flacons fermés dans lesquels se trouvait du papier filtre imbibé avec 10 µl d'huile. Des observations ont eu lieu entre les 24 et les 96 heures suivantes. -
<i>Cymbopogon winterianus</i>	58 % des œufs pondus morts	Activité insecticide de 68 % après 96 h (B) ¹
<i>C. flexuosus</i>	45 % des œufs pondus morts	Activité de 92 % après 96 h (A)
<i>C. martini</i>	Environ 30 % d'œufs morts	Activité de 30 % après 96 h (C)
<i>Vetiveria zizanioides</i>	Environ 30 % d'œufs morts	Activité de 42 % après 96 h (C)
<i>Eucalyptus citriodora</i>	88,4 % des œufs pondus morts	Activité de 96 % après 96 h (A)

¹ les différentes lettres entre parenthèses distinguent des groupes statistiquement différents.

Ces résultats montrent que les différentes espèces de citronnelle ont une activité très variable. Cela appuie les constats effectués lors des études sur *A. obtectus* : l'activité d'une huile essentielle n'est pas non seulement liée au genre de la plante mais aussi à l'espèce.

L'eucalyptus citronné, quant à lui, a été particulièrement efficace dans cet essai. Il s'agirait de connaître la composition de son huile essentielle pour comprendre l'origine de cette activité.

■ **Le traitement des graines par extraits et poudres de plantes (Singh et al., 2006 ; Sathyaseelan et al., 2008)**

Mis à part la fumigation, les graines peuvent aussi être traitées directement avec des poudres de rhizomes ou de feuilles ou encore des extraits de plantes. Singh et al. (2006) ont étudié l'effet de différentes poudres et extraits alcooliques issus de 6 espèces de plantes sur la survie des adultes de bruches *Callosobruchus chinensis*.

Pour ce faire, des pois ont été traités par 2 g de poudre/kg de graines et d'autres par 2 ml d'extrait/kg, un extrait étant concentré à 10 %. Puis, 5 paires d'adultes ont été enfermées pendant 1 mois dans des pots contenant 50 g de graines traitées. A la fin de cette période, il a été calculé le pourcentage de grains endommagés, la perte éventuelle du poids total des graines et le nombre d'œufs pondus (tableau 20).

Tableau 20 : Efficacité de traitements de graines de niébé contre la bruche (Singh et al., 2006)

Nom de la plante	Nature du produit	Efficacité apportée
(témoin)	-	90 % des graines abîmées 33 % de poids en moins beaucoup d'œufs pondus
<i>Artemisia nilagirica</i>	Extrait de feuilles	Dans les conditions d'essai, protection de 100 % par rapport aux 3 critères évalués.
<i>Nerium indicum</i>	Extrait de feuilles et Poudre de feuilles	
<i>Thevetia peruviana</i>	Extrait de feuilles	
<i>Brassica juncea (moutarde)</i>	Huile	
<i>Curcuma caesia Roxb.</i>	Extrait de rhizome	
<i>Thevetia peruviana</i>	Poudre de feuilles	Faible part de grains abîmés (7 à 8 %) et légère perte en poids. Des œufs ont été retrouvés.
<i>Curcuma spp. Salisb.</i>	Poudre de rhizome	35 % de graines abîmées, 19 % du poids perdu et plusieurs œufs retrouvés.
<i>Curcuma caesia Roxb.</i>	Poudre de rhizome	

Comme le montre le tableau, les poudres ne se sont pas révélées très toxiques. Par contre, les extraits alcooliques de feuilles et de rhizomes ont été fort efficaces en protégeant entièrement les lots de graines.

En remarque, les plantes testées dans cet essai ne sont pas des plantes spontanées en France. Le curcuma est cultivé en France.

Ensuite, contre ce même ravageur, des extraits méthanoliques de feuilles de laurier rose (*Nerium oleander*), de basilic sacré (*Ocimum sanctum*), de troène de Chine (*Vitex negundo*), de pervenche de Madagascar (*Catheranthus roseus*), d'ortie d'Inde (*Acalypha indica*) et de bayarone (*Prosopis juliflora*) ont été mis à l'essai en conditions de laboratoire. Les doses testées allaient de 1 à 3 % d'extrait contenu dans de l'acétone. Quelque soit l'extrait de plante considéré, la dose de 1 % a permis une réduction significative des pontes, de la viabilité des œufs et de l'émergence des adultes. Les doses de 2 et 3 % ont se sont montrées encores plus toxiques. Puis, l'extrait de troène de Chine s'est montré le plus actif contre la viabilité des œufs et l'émergence des adultes. Il est suivi par l'extrait de pervenche de Madagascar. L'extrait d'*O. sanctum* a montré une activité plus faible que celle des deux précédents. La dose de 3 % a réduit la viabilité des œufs de 40 % et l'émergence des adultes de 60 %. Toutes ces données ont été acquises par l'équipe indienne de Sathyaseelan *et al.* (2008). D'après les auteurs, elles concordent avec celles rapportées par Dohray *et al.* (1990), Mulatu et Gebremedhin (2000) et Rahman et Talukder (2006), autres équipes scientifiques d'Orient ayant étudié *Callosobruchus chinensis* et *C. maculosus*.

Il resterait maintenant à étudier la composition de ces plantes afin de détecter les molécules actives. Pour une éventuelle valorisation, il s'agirait par ailleurs de prendre en compte le fait que *C. roseus* par exemple est très cytotoxique (nocif sur les cellules) (Bertrand, 2009, communication personnelle).

Par ailleurs, à noter que le poivre noir (*Piper nigrum*) moulu limite les infestations d'Acanthoscelides obtectus dans les stocks d'haricots secs et que *Piper guineense* peut efficacement prévenir la présence de *Callosobruchus maculatus* pendant 30 jours après le traitement. En fait, les pipéracées peuvent fournir des composés insecticides efficaces et le poivre noir peut également contrôler la présence de lépidoptères et d'hyménoptères (Arnason *et al.*, 2008).

■ Diverses formulations à partir d'*Acorus calamus* à l'essai (Nandi *et al.*, 2008)

Pour protéger les stocks de pois *Cajanus cajan* face à *Callosobruchus chinensis*, diverses formulations faites à partir de cendres de bouse de vache et de poudre ou d'extrait pur de rhizome d'*Acorus calamus* ont été mises à l'essai (*Acorus calamus* est une monocotylédone appelée acore odorant en France). L'extrait pur a été obtenu par macération de poudre de rhizome dans de l'eau à volumes égaux pendant 12 heures.

Le protocole expérimental mis en place a consisté à mélanger 200 g de pois avec :

- Soit, 100 g d'une poudre constituée avec 0,5 à 3 % de poudre de rhizome d'acore et avec de la cendre de bouse de vache.
- Soit, 100 g de comprimés constitués de 5 à 20 % de poudre de rhizome d'acore et de cendre de bouse de vache.
- Soit, 100 ml d'eau savonneuse contenant de 1 à 4 % d'extrait pur de rhizome.

Puis, 15 paires d'adultes ont été ajoutées. Des mesures ont été effectuées 120 jours après le lancement de l'essai, les meilleurs résultats sont consignés dans le tableau 21.

Tableau 21 : Protection de graines de *Cajanus cajan* contre *Callosobruchus chinensis* à partir de rhizome d'*Acorus calamus* (Nandi *et al.*, 2008)

Traitements	Nb d'œufs / 10 graines	Graines abimées (%)	Perte en poids (%)	Nb d'adultes / 100 g graines
Témoin sans traitement	105 ^a	41,1 ^a	28,3 ^a	120,7 ^a
Malathion (produit chimique de référence)	0 ^f	0	0	0 ^h
Cendre de bouse de vache seule	49,4 ^{bcd}	37,4 ^b	12,1 ^b	66,3 ^b
Poudre constituée de 4 % de poudre de rhizome et de cendre de bouse	35 ^d	16,3^h	1,6 ^g	33,1 ^{ef}
Comprimés constitués de 15 % de poudre de rhizome et de cendre de bouse	18,3^e	17,9 ^e	1^h	21,9^g

Remarque : Pour chaque colonne, les différentes lettres indiquent que les résultats sont significativement différents avec une marge d'erreur de 1 % ($p = 0,01$) selon le test de comparaison multiple de Duncan.

Toutes les préparations à partir d'*Acorus calamus* testées ont présenté un effet significatif par rapport au témoin non traité mais les deux traitements fournissant une meilleure protection sont ceux indiqués dans le tableau 21. Donc la préparation contenant 4 % de poudre de rhizome et la préparation en granulés contenant 15 % de poudre de rhizome sont les plus efficaces.

En remarque, des granulés contenant 20 % de poudre de rhizome n'ont pas apporté une meilleure protection mais se sont parfois montrés au contraire moins efficaces. De plus, ces résultats ont été comparés par leurs auteurs à d'autres études. Il est apparu que dans les autres cas, les doses d'*Acorus* présentant une action intéressante étaient plus faibles. Cela peut s'expliquer par des différences de protocoles dans la préparation des poudres ou par l'origine des rhizomes. L'intérêt d'utiliser des cendres de bouse de vache en tant qu'excipient n'est pas explicité dans l'article mais en Inde la bouse de vache est utilisée comme engrais naturel (site internet wikipedia).

1.2.3 Protection contre *Sitophilus zeamais*, le charançon du maïs

■ Etude de l'effet de monoterpènes contre *S. zeamais* (Rozman et al., 2007)

Dans le cadre de la protection du maïs contre le charançon *Sitophilus zeamais* en Croatie, les effets toxiques potentiels de monoterpènes retrouvés dans les principales plantes aromatiques de ce pays ont été estimés.

Dans un premier temps, la composition d'huiles essentielles de lavande (*Lavandula angustifolia*), de laurier sauce (*Laurus nobilis*), de romarin (*Rosmarinus officinalis*) et de thym (*Thymus vulgaris*) issues de Croatie a été analysée par chromatographie en phase gazeuse. Ont été retrouvés majoritairement : 1,8-cinéole, camphre, eugénol, linalol, carvacrol, thymol, bornéol, bornyl-acétate et linalyl-acétate.

Dans un deuxième temps, ces neuf composés ont été séparément achetés auprès de la firme Sigma-Aldrich afin d'être utilisés pour des tests réalisés *in vitro* et *in vivo*.

Les tests de laboratoire ont consisté à mettre 10 charançons adultes dans un bocal et d'y ajouter chacun des composés déposés sur du papier filtre. 5 doses (de 0,1 à 100 µl pour des pots de contenance 720 ml) ont été testées sur une période de 1 à 7 jours.

En conditions réelles de stockage, 10 adultes ont été introduits dans des sacs de 5 kg de graines. Chacun des composés a été incorporé à du papier poreux glissé dans les sacs ensuite fermés hermétiquement, les observations ont eu lieu tous les 4 jours pendant 24 jours.

En résultat, les essais en laboratoire ont montré une forte toxicité du 1,8-cinéole, du camphre, du linalol, du carvacrol, du thymol, du bornéol et du linalyl-acétate qui ont décimé 100 % de la population dès le 1er jour de l'essai et à la plus faible dose de 0,1 µl/720 ml.

L'eugénol, à la dose de 0,1 µl/720 ml, ne permet de tuer 100 % des nuisibles qu'après 4 j. d'inhalation. Autrement, il est efficace à 100 % dès le 1er jour à la dose de 1 µl/720 ml.

Concernant le bornyl-acétate, seules des doses de 50 et 100 µl se sont avérées efficaces au premier jour.

Quant aux tests en conditions réelles, ils ont montré que chaque molécule permettait de supprimer la totalité de la population après 24 jours mais que leur effet était plus ou moins progressif. Ainsi, le 1,8-cinéole et le thymol ont permis de supprimer de 90 à 100 % des charançons dès le 4^e jour de traitement. L'eugénol s'est montré efficace par rapport aux essais en laboratoire en éliminant tous les ravageurs en 8 jours. Le bornyl-acétate, le bornéol et le camphre ont eu une action très progressive aboutissant à la mort de tous les adultes de *S. zeamais* entre les 16^e et 20^e jours.

Les essais *in vitro* et *in vivo* ont permis de vérifier l'effet réel plus ou moins important de chacun des 9 composés qui dépend de la dose apportée et du temps de fumigation. De plus, ils ont abouti à des conclusions légèrement différentes, les essais *in vitro* seuls ne peuvent donc pas suffire pour établir des conclusions fiables. Il aurait pu être intéressant d'évaluer l'impact de ces huiles essentielles sur les éventuels dégâts causés par *S. zeamais* sur les denrées stockées afin de mieux valider la pertinence de l'utilisation de ces composés.

Il a été dit précédemment que les huiles essentielles possédaient une plus large toxicité que les composés qu'elles contiennent. Pourtant, Rozman *et al.* (2007) soulignent que ces composés, essentiellement des monoterpènes, possèdent une plus forte toxicité que l'huile essentielle étant donné que des doses moins élevées suffisent. Ils suggèrent donc de développer les recherches sur les effets de ces composés et d'encourager la culture de variétés produisant ces composés en fortes quantités afin de les inclure dans de nouvelles formulations de substances actives qui pourraient être brevetées dans l'industrie chimique (Rozman *et al.*, 2007).

■ **Etude du composé aromatique volatil, le (Z)-asarone issu d'*Acorus calamus* sur *S. zeamais* (Yao *et al.*, 2008)**

Au vu du potentiel insecticide d'*Acorus calamus*, l'équipe de Yao *et al.* (2008) a décidé d'approfondir les connaissances sur les effets répulsifs et toxiques de l'extrait de rhizome de cette plante et de déterminer quel est le composant qui confère à cet extrait ses propriétés particulières.

D'abord, un extrait éthanolique de rhizome a été testé pour son effet répulsif et toxique par contact. Pour l'évaluation de la toxicité, les adultes de *Sitophilus zeamais* n'avaient pas d'autre choix que de circuler sur du papier imbibé d'extrait éthanolique.

Dans un deuxième temps, un travail d'identification a été mené sur l'extrait. Des premières analyses ont permis de déterminer la bonne efficacité de la fraction d'éther de pétrole. Ensuite, une chromatographie sur gel de silice de cette fraction a permis de purifier le constituant actif. Sa nature a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse, spectrométrie de masse et par absorption infrarouge et résonance magnétique nucléaire. Ces recherches ont abouti à la caractérisation du (Z)-asarone, lui aussi testé pour ses qualités répulsives et toxiques.

Tableau 22 : Efficacité de l'extrait de rhizome d'*Acorus calamus* et de son principal composant le (Z)-asarone sur *Sitophilus zeamais* (Yao *et al.*, 2008)

Produit évalué	Effet répulsif sur des adultes		Mortalité des adultes par contact	
	Après 12 h	Après 60 h	Après 2 jours	Après 4 jours
Extrait éthanolique de rhizome	94 % avec une dose de 629 µg/cm ² ; 78 % avec une dose de 314 µg/cm ²	71 % avec une dose de 629 µg/cm ² ; 65 % avec une dose de 314 µg/cm ²	83 % avec 314 µg/cm ²	95 % avec 314 µg/cm ²
(Z)-Asarone	84,5 % avec une dose de 314 µg/cm ²	61 % avec une dose de 314 µg/cm ²	6,7 % avec 40 µg/cm ²	100 % avec 40 µg/cm ²

Il s'est avéré que l'effet répulsif diminuait avec des concentrations moins élevées en extrait et qu'il diminuait au fil du temps. Pour ce qui est de la mortalité des adultes par contact, le tableau 22 montre que le temps de contact nécessaire est d'au moins 2 jours.

D'autre part, une autre étude a déterminé que l'asarone avait une toxicité supérieure en milieu fermé en comparaison à un milieu ouvert, l'hypothèse que cette molécule agit donc principalement par fumigation a été émise (Yao *et al.*, 2008). Pourtant, les essais de Yao *et al.* ont été réalisés dans des récipients ouverts et l'action toxique a été très forte. L'équipe a donc formulé l'hypothèse que le (Z)-asarone possédait une action par contact et par fumigation.

Donc, l'asarone pourrait représenter un bon insecticide contre *S. zeamais* et éventuellement d'autres insectes des denrées stockées mais il s'agirait de mener des recherches sur l'écotoxicité de cette molécule.

1.2.4 Vapeurs d'huiles essentielles contre *Tribolium* spp.

■ L'huile essentielle d'*Echiochilon fruticosum*

Echiochilon spp. est un genre de plantes issues de la région du Nord-Est de l'Afrique. Celles-ci poussent dans des milieux sableux et secs. Des chercheurs tunisiens ont testé une espèce endémique : *E. fruticosum* pour protéger les denrées du tribolium brun de la farine *Tribolium confusum* (Zardi-Bergaoui et al., 2008).

D'abord, trois fractions volatiles ont été issues de l'extrait volatil d'*E. fruticosum* et ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. Les principaux composants détectés selon la fraction étudiée étaient les suivants :

- L'abietatriène et des esters contenus dans la première fraction.
- Le carvacrol, le α -caryophyllène et l'acide octadeca-9,12-dienoïque étaient les composés majoritaires de la seconde.
- La dernière fraction était riche en acide octadeca-9,12-dienoïque.

Ces fractions ainsi que l'extrait volatil brut ont été évalués sur leur pouvoir anti-appétent et leur toxicité par ingestion.

L'activité anti-appétente est jugée par l'humectation de galettes de nourriture par l'huile essentielle. Puis, des larves ou des adultes sont mis au contact de cette seule nourriture pendant 7 à 20 jours. A la fin, chaque galette est pesée pour juger de l'effet anti-appétent et les insectes sont observés afin d'évaluer l'effet toxique.

Chacun des quatre extraits a montré une forte activité anti-appétente contre les adultes mais aussi un effet phagostimulant sur les larves qui a pour conséquence la mort de ces larves. L'extrait volatil d'*Echiochilon fruticosum* pourrait donc être un agent protecteur des graines en agissant sur les insectes par contact.

■ Ajowan, aneth et nigelle à l'essai (Chaubey, 2007)

Les huiles essentielles de graines d'ajowan (*Trachyspermum ammi*), d'aneth (*Anethum graveolens*) et de nigelle cultivée (*Nigella sativa*, originaire d'Asie) ont été évaluées pour la lutte contre le petit ver de la farine *Tribolium castaneum*.

Ces huiles essentielles ont fait l'objet d'essais visant à apprécier leur effet répulsif et inhibiteur sur la ponte ainsi que leur action sur la mortalité des larves et des adultes mais aussi sur leur développement :

- D'abord, il est apparu après un test à deux choix, que des solutions à 0,3 % v/v en HE imbibées sur du papier filtre permettaient de repousser près de 100 % des adultes. Mais des doses peu élevées (effet à partir de 0,1 % v/v) suffisent à provoquer un effet répulsif significatif.
- Ensuite, concernant la mortalité des larves et des adultes, elle est corrélée à la dose apportée : plus la concentration augmente, plus la fumigation est efficace. Les LC 50 sont résumées dans le tableau 23. Les essais ont été effectués avec des larves du 4^{ème} stade isolées pendant 24 h dans une boîte de Petri de 80 mm de diamètre.
- Puis, la ponte est également significativement inhibée avec la fumigation des boîtes de Petri par chacune de ces HE apportées à des doses comprises entre 6 et 48 μ l dissous dans 600 μ l d'acétone.
- Pour l'évaluation de l'influence des HE sur le développement des larves et des pupes, une dizaine de vers sont placés en boîte de Petri et sont soumis à une fumigation pendant 24 h. Les larves ont ensuite été remises en conditions normales ; le taux de survie, le taux de transformation en pupes et le temps mis pour devenir adulte ont été comptés. Il a été constaté que la part de larves transformées en pupes et celle de pupes transformées en adultes décroît significativement avec l'augmentation de la concentration en huile essentielle. La dose à laquelle 50 % des larves ne peuvent se développer en pupes est précisée pour chaque huile essentielle dans le tableau 23.

Tableau 23 : Toxicité de trois huiles essentielles contre les larves et les adultes de *Tribolium castaneum* (Chaubey, 2007)

Nature de l'huile essentielle	LC 50 (µl)		Dose à laquelle 50 % des larves n'ont pas pu se transformer en pupe (µl)
	Mortalité larvaire	Mortalité des adultes	
<i>Trachyspermum ammi</i>	11,62	13,48	6,7
<i>Anethum Graveolens</i>	14,78	16,66	7,9
<i>Nigella sativa</i>	9,46	10,84	5,6

Les résultats de cette étude ont montré que les huiles essentielles de ces trois plantes (ajowan, aneth et nigelle cultivée) possédaient des qualités insecticides intéressantes car portant à tous les stades de développement du ver de la farine.

Chaubey évoque aussi dans son article les plantes *Anethum sowa*, *Artemisia annua*, *Lippia alba* et *Elettaria cardamomum* qui posséderaient un effet répulsif et toxique contre *T. castaneum*.

Il cite également une autre source qui avance l'hypothèse que ces huiles essentielles provoquent une suffocation et une inhibition du développement sur les différents processus métaboliques de l'insecte.

1.2.5 Autres informations pour la lutte contre les coléoptères et les lépidoptères par fumigation (Rajendran & Sriranjini, 2008)

Rajendran & Sriranjini ont compilé les effets de différentes huiles essentielles et de leurs principaux composés sur plusieurs insectes ravageurs des denrées stockées. Leur synthèse est résumée dans le tableau 24.

Tableau 24 : Huiles essentielles ayant un effet sur des insectes de denrées par fumigation (d'après la compilation de Rajendran & Sriranjini, 2008)

Plante	Molécule active	Insectes des denrées susceptibles
Lavandin - <i>Lavandula hybrida</i> , Romarin - <i>Rosmarinus officinalis</i> , Marjolaine - <i>Origanum majorana</i>	Non précisée(s)	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (bruche du haricot)
Roquette - <i>Eruca sativa</i> Roquette jaune - <i>Diplotaxis tenuifolia</i>	Isothiocyanates	<i>Oryzaephilus surinamensis</i> (sylvain) <i>Rhyzopertha dominicana</i> (capucin du grain)
Armoise - <i>Artemisia vulgaris</i> Anis vert - <i>Pimpinella anisum</i>	1,8-cinéole	<i>Tribolium castaneum</i> (petit ver de la farine)
Neem - <i>Azadirachta indica</i> (graines)	Di-n-propyl-disulfure	
<i>Citrus</i> spp.	Thiosulfates et disulfures	<i>Callosobruchus maculatus</i> (bruche causant des dommages sur niébé) <i>Sitophilus zeamais</i> (charançon du maïs)

Avec cette étude, il a été mis en avant cinq groupes de constituants ayant montré une efficacité insecticide face à différents coléoptères et lépidoptères lors d'une application en phase gazeuse :

- monoterpénoïdes
- cyanohydrines et cyanates
- composés soufrés : diméthyldisulfure, diéthyltrisulfure, etc.
- alcaloïdes
- autres (dérivés de benzène, méthyl salicylate, acétate de bornyle, terpinolène).

En remarque, parmi les terpénoïdes, le 1,8-cinéole retrouvé dans les huiles essentielles d'*Eucalyptus* spp., *Lavandula* spp., *Mentha* spp., *Ocimum* spp. et *Rosmarinus* spp., possède une bonne action quand il est appliqué par fumigation. Ensuite, les monoterpénoïdes oxygénés (par exemple carvacrol, linalol ou terpinéol) sont plus toxiques que des composés non-oxygénés comme le α -cymène, le cinnamaldéhyde ou l'anéthol (essais réalisés sur le bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus*).

Enfin, pour la protection des graines stockées face à *Tribolium castaneum* et *Acanthoscelides obtectus*, des poudres de graines et de feuilles de fenugrec *Trigonella foenum-graecum* ainsi que des extraits (nature non précisée), appliqués auprès des graines ont montré une activité toxique (Acharya et al., 2008).

1.2.6 Conséquences et opportunités pour les produits naturels en protection des denrées stockées

■ L'impact des traitements sur la qualité des stocks (Rajendran & Sriranjini, 2008)

Concernant la qualité des denrées alimentaires, les études tendent à prouver pour le moment que la qualité nutritionnelle d'un stock traité avec une huile essentielle quelle qu'elle soit n'est pas affectée. A propos du niébé, il a été montré que les substances actives étaient absorbées par les graines.

Parfois, il a été noté un transfert d'odeur de l'huile essentielle vers la denrée (constat sur blé). Des études plus approfondies sur ces deux aspects sont par conséquent nécessaires.

D'autre part, il a été remarqué que des graines de laitue (*Lactuca sativa*) voyaient leur croissance plus difficile et que les composés oxygénés semblaient plus toxiques que des composés non-oxygénés. La germination de graines de blé et du pois, en revanche, ne paraît pas subir d'impact négatif. Outre l'espèce végétale dont la graine est issue, la taille de la graine et la nature de la graine sont d'autres critères opérant sur la phytotoxicité du traitement (Bertrand, communication personnelle).

■ Discussion sur l'intérêt des produits naturels pour la protection des graines (Huignard et al., 2008)

En situation de stockage, les différentes études de laboratoire et de terrain montrent que les terpènes libérés par les huiles essentielles peuvent être efficaces à faibles doses contre les œufs et adultes ravageurs. Il semble donc possible d'utiliser ces molécules en tant que fumigants dans les systèmes de stockage. Cependant, différents problèmes ont été constatés :

- Les graines absorbent parfois les substances actives.
- Huignard et al. (2008) ont montré en laboratoire que le contrôle des stades larvaires qui se trouvent à l'intérieur des graines est difficile, ce qui empêche d'éliminer complètement les populations de ravageurs et mène à une multiplication des applications en huile essentielle. Par conséquent, la quantité de résidus dans les graines traitées risque d'être trop importante (essais effectués sur *Callosobruchus maculatus* et son parasitoïde avec des HE de *Cymbopogon nardus* et *Ocimum basilicum*).
- La même équipe a montré que les deux HE testées étaient aussi toxiques sur le bruche que sur son parasitoïde alors que ce dernier est très efficace en lutte biologique. Ce phénomène a également été observé sur d'autres couples ravageur/parasitoïde.
- Enfin, il est important de déterminer les effets exacts des huiles essentielles sur les insectes afin de maîtriser leur utilisation.

Ces différents problèmes et questions doivent donc être résolus avant d'envisager des débouchés industriels aux huiles essentielles dans la protection des denrées stockées.

1.3 Le potentiel du neem et d'autres plantes d'origine indienne

La méliacée *Azadirachta indica*, originaire d'Afrique et d'Asie, fournit à partir de ses graines une huile utilisée depuis des siècles par les paysans pour la protection des stocks de céréales face à divers insectes, papillons et coléoptères. En 1980, la molécule d'azadirachtine est isolée : elle appartient au groupe des limonoïdes qui sont des triterpènes oxydés et réarrangés (Sevenet, 2006).

Cette molécule possède des propriétés anti-appétentes et inhibitrices de croissance. Elle est présente dans l'huile de graines, dans les tourteaux ou encore dans les poudres et extraits de neem. Ces préparations sont ainsi utilisées dans divers pays mais restent à ce jour non autorisées en France (Sevenet, 2006) (Voir le paragraphe 7.1 pour plus d'informations sur le neem).

Dernièrement, le neem et d'autres plantes indiennes ont été étudiés pour la protection d'une culture de ginseng indien *Withania somnifera*. Cette culture a une forte valeur économique mais son feuillage subit les attaques d'un coléoptère, le hada *Henosepilachna vigintioctopunctata* (Manjoo & Swaminathan, 2007). Il s'agit de savoir si des huiles de graines et extraits de neem (*Azadirachta indica*), de karanja (*Pongamia glabra*) et de mahua (*Madhuca indica*) seraient aptes à fournir une protection efficace contre ce nuisible.

Des essais ont été menés sur des semis de 4 semaines et les résultats sont résumés dans le tableau 25.

Tableau 25 : Effets de solutions issues d'essences exotiques sur le coléoptère *Henosepilachna vigintioctopunctata* (Manjoo & Swaminathan, 2007), 1 et 3 jours après traitement

Composition des solutions testées	Réduction de la population		Rendement en graines*
	Après 1 jour	Après 3 jours	
Huile de graines de karanja 2 %	100 %	100 %	A
Huile de graines de neem 2 %	100 %	100 %	A
Huile de graines de mahua 2 %	100 %	91,7 %	A
Extrait d'amande (intérieur de la graine) de neem 10 %	90 %	71,3 %	C
Extrait de feuille de neem 10 %	89 %	75 %	D
Solution contenant 1500 ppm de la matière active azadirachtine	100 %	92,7 %	B

*Distinction de catégories statistiquement différentes, A représentant le meilleur rendement.

Les huiles de graines des trois arbres sont à l'origine des traitements les plus efficaces tout en n'ayant aucun impact négatif sur le rendement en graines des *Withania*. Il aurait été intéressant d'évaluer l'effet de ces produits sur plus de trois jours afin d'estimer la persistance de ces traitements.

1.4 Résumé

Les pistes étudiées pour la protection des cultures au champ portent sur des produits pouvant agir par contact et par fumigation. Pour la protection des denrées stockées, les recherches sont centrées sur des composés volatils répulsifs et toxiques. Les trois tableaux suivants reprennent les molécules, extraits et huiles essentielles qui se sont montrés intéressants contre les ravageurs.

■ Protection des cultures au champ contre les hémiptères

Produit actif		Insecte visé	Type d'action
Type / composant	Plante source		
Alcaloïdes (céradine, vératridine)	Divers	Thrips (<i>Thrips</i> et <i>Frankliniella</i> spp.)	Neurotoxique
Ryanoïdes	<i>Ryania</i> spp.	certain thrips, doryphore (<i>Leptinotarsa decemlineata</i>)	Neurotoxique, anti-appétent
Infusion (solution à 10 %)	<i>Mentha x piperita</i> et <i>Artemisia vulgaris</i>	Puceron vert du pommier (<i>Aphis pomi</i>)	Répulsif
Extrait alcoolique de racines	<i>Inula helenium</i> , <i>I. Viscosa</i> et <i>I. graveolens</i>	Punaise <i>Oncopeltus fasciatus</i>	Réduction de fécondité, malformations
Extrait alcoolique de feuilles	<i>Asarum europaeum</i>		Réduction de fécondité, malformations
Extrait alcoolique de feuilles	<i>Rumex crispus</i> et <i>Rumex acetosa</i>		Baisse la ponte, toxique sur pupes
Extrait alcoolique de fleurs	<i>Calendula officinalis</i>		Toxique
Huile essentielle	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Thrips des alliums	Répulsif
Huile essentielle (composés actifs non volatils)	<i>Origanum majorana</i> , <i>Lavandula angustifolia</i> , <i>Mentha arvensis</i>		Empêche la ponte

■ Protection des cultures au champ contre les lépidoptères

Produit actif		Insecte visé	Type d'action
Type / composant	Plante source		
Ryanoïdes	<i>Ryania</i> spp.	Carpocapse, ver du cotonnier, pyrales	Neurotoxique, anti-appétent selon l'insecte visé
Extrait éthanolique de fleurs (pyréthrines, carvone)	<i>Chrysanthemum coronarium</i>	Divers (essais sur le ver du cotonnier <i>Spodoptera littoralis</i>)	Toxique, inhibe le développement des insectes
Huile essentielle (solution à 1 %)	<i>Thymus herba-barona</i>	Bombyx défoliateur (<i>Lymantria dispar</i>)	Toxique sur 80 % des insectes
HE (solution à 1 %)	<i>Rosmarinus officinalis</i>		Toxique sur 70 % des insectes
HE (solution à 0,1 %)	<i>Ocimum basilicum</i>		Antiappétant
HE (solution à 3 %)	<i>Ocimum americanum</i>	Noctuelle (<i>Agrostis ipsilon</i>)	Toxique et répulsive
Huile essentielle	<i>Bellardia trixago</i> (racines)	Ver du cotonnier	Répulsive, anti-appétente
□-caryophyllène et ses oxydes	<i>Laurus novocanariensis</i>		Anti-appétent
Non précisé	<i>Ocimum basilicum</i>		Toxique sur larves
Huile essentielle (solution à 50 %)	<i>Thymus vulgaris</i> , <i>Laurus nobilis</i> , <i>Lavandula stoechas</i>	Chenille processionnaire (<i>Thaumetopoea pityocampa</i>)	Toxique sur larves

■ Protection des cultures stockées

Produit actif		Insecte visé	Type d'action
Type / composant	Plante source		
1,8-cinéole, camphre, linalol, carvacrol, thymol, bornéol	Divers	Charançon du maïs (<i>Sitophilus zeamais</i>)	Molécules fortement toxiques
Extrait éthanolique contenant la molécule Z-asarone	<i>Acorus calamus</i>	Charançon du maïs, Bruche (<i>Callosobruchus maculatus</i>)	toxique
Fumigation d'huile essentielle (composants actifs : terpinène-4-ol, camphre, 1,8-cinéole, verbénone, linalol)	<i>Thymus serpyllum, Rosmarinus officinalis, Ocimum basilicum, Origanum majorana, Cinnamomum verum</i>	Bruche (<i>Acanthoscelides obtectus</i>)	Fumigation toxique sur adultes, efficace à très faibles doses
	<i>Eucalyptus globulus</i>		Répulsif, toxique sur œufs et larves
	<i>Lavandula hybrida, Mentha microphylla et Rosmarinus officinalis</i>		Répulsif et toxique
	<i>Mentha spicata</i>		Répulsif et inhibe la ponte
Huile essentielle	<i>Eucalyptus citriodora</i>	Bruche (<i>Callosobruchus maculatus</i>)	Ovicide et insecticide
Huile essentielle	<i>Trachyspermum ammi, Anethum graveolens et Nigella sativa</i>	Ver de la farine (<i>Tribolium castaneum</i>)	Toxique sur tous les stades de développement
Extrait et poudre de feuilles et de graines	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Bruche (<i>A. obtectus</i>), ver de la farine	Toxique

En remarque, il s'agit également de porter attention sur l'absorption des composés volatils par les graines, phénomène qui risque de dénaturer leur goût ou d'influer sur leur développement physiologique.

Avec ces différents résultats et les différentes études bibliographiques menées, il a été mis en avant plusieurs groupes de constituants ayant montré une efficacité insecticide :

- Terpènes dont monoterpénoïdes.
- Composés phénoliques.
- Pyréthrinés.
- Alcaloïdes.
- Composés soufrés.
- Autres (azadirachtine, Z-asarone, ryanoïdes, cyanates...).

Mais il est souvent constaté que les huiles essentielles sont plus toxiques ou répulsives que les composés qui la composent employés purs. Seulement, l'utilisation des molécules actives seules permettrait de prédire avec plus de précision l'action déclenchée et de fabriquer des produits standardisés. En effet, la difficulté de travailler sur les extraits et huiles essentielles est que leur composition chimique est très variable selon la source de prélèvement, la saison, les conditions extérieures, la partie de la plante utilisée ainsi que la méthode et le temps d'extraction.

L'autre difficulté est celle des différences de sensibilité aux produits selon l'espèce d'insecte visée mais également selon le stade de développement ou le sexe.

Enfin, certaines substances naturelles apparaissent peu sélectives vis-à-vis des insectes et peuvent nuire aux insectes auxiliaires.

2 La lutte contre les champignons pathogènes

2.1 Lutte au champ

2.1.1 Criblages

■ Criblage d'extraits de diverses plantes contre *Verticillium dahliae* (Zhou et al., 2007)

Un criblage (screening) a été effectué sur 74 légumes, plantes et arbres pour la protection de l'aubergine contre *Verticillium dahliae*. Parmi les plantes étudiées, les plantes aromatiques et médicinales suivantes ont été testées : le souci (*Calendula officinalis*), le radis noir (*Raphanus sativus*), l'oseille (*Rumex acetosa*), le céleri (*Apium graveolens*), la coriandre (*Coriandrum sativum*), la bardane (*Arctium lappa*) ainsi que d'autres espèces appartenant au même genre que certaines plantes cultivées en France comme l'armoise (*Artemisia annua*), la sauge (*Salvia coccinea*), le pissenlit (*Taraxacum mongolicum*) et la menthe (*Mentha canadensis*).

Des essais ont été menés en laboratoire pour juger de l'effet des extraits éthanoliques de ces plantes sur la germination des spores et la croissance du mycélium. Afin d'estimer l'effet des extraits sur la croissance mycélienne, 1 ml d'extrait obtenu à partir d'1 gramme de plante a été ajouté à 49 ml de milieu de culture. Des tests de germination ont suivi.

D'autres essais ont eu lieu en plein champ sur des aubergines au stade « 3 feuilles ». Les extraits éthanoliques étaient apportés au niveau des racines par l'eau d'irrigation à la dose de 10 mg/ml. Des inoculations à l'aide de *Verticillium dahliae* ont eu lieu après ou avant l'application des extraits. Ce protocole permettait de juger l'action préventive et curative des différents extraits.

Aucune des plantes aromatiques et médicinales n'a montré un fort pouvoir antifongique lors de ces essais. Les deux plantes ayant donné les meilleurs résultats en laboratoire ainsi qu'au champ sont la vigne de l'Amour (*Vitis amurensis*) et la ciboule (*Allium fistulosum*).

Vitis amurensis et *Allium fistulosum* se sont montrés au champ plus efficace que le fongicide synthétique testé (matière active non précisée) en protégeant les plantes de manière préventive mais aussi curative. Selon l'équipe de recherche, *V. amurensis* est effectivement riche en substances antifongiques : flavonoïdes, terpénoïdes, acides phénoliques, alcaloïdes, phytostérols et huile volatile.

■ Screening de composés volatils issus de plantes aromatiques pour lutter contre *Fusarium oxysporum* (Sekine et al., 2007)

Les propriétés inhibitrices de différents composés volatils issus d'épices et de plantes aromatiques ont été estimées : 52 extraits secs d'espèces végétales ont été étudiés sur la croissance de *Fusarium oxysporum* via une méthode particulière.

Des boîtes à 6 puits ont été utilisées : un échantillon de 500 mg de poudre est disposé dans l'un des puits et dans les autres sont ajoutés de la gélose puis du mycélium de *F. oxysporum*. Ensuite, chaque boîte a été fermée hermétiquement et un espace d'1 mm entre le couvercle et le haut des puits a été maintenu afin que les composés volatils puissent être diffusés dans toute la boîte. Le tout a été placé en chambre noire à 25 °C pendant 3 jours. Ce système a ainsi permis d'estimer les degrés d'activité antifongique par mesure de la croissance du mycélium. La capacité de diffusion de la vapeur contenue dans l'extrait sec à également pu être appréciée.

Parmi les plantes aromatiques testées se trouvaient : carvi (*Carum carvi*), aneth (*Anethum graveolens*), coriandre (*Coriandrum sativum*), fenouil (*Foeniculum vulgare*), persil (*Petroselinum sativum*), céleri (*Apium graveolens*), cumin (*Cuminum cyminum*), anis (*Pimpinella anisum*), cardamome (*Elettaria cardamomum*), curcuma (*Curcuma domestica*), romarin (*Rosmarinus officinalis*), sauge (*Salvia officinalis*), thym (*Thymus vulgaris*), lavande (*Lavandula angustifolia*), sarriette (*Satureja hortensis*), basilic (*Ocimum basilicum*), origan (*Origanum vulgare*) et laurier (*Laurus nobilis*).

Sur les 52 espèces incluses, trois seulement ont entraîné une inhibition de la croissance des mycéliums. Il s'agit du cumin noir (*Bunium persicum*), du cumin (*Cuminum cyminum*) et de la cardamome (*Elettaria cardamomum*).

Une analyse de la vapeur de *B. persicum* a montré la présence de 7 composés volatils. Parmi eux, le cuminaldéhyde et le α -cymène ont manifesté un potentiel d'inhibition de croissance très élevé. Les essais menés sur *F. oxysporum* ont permis de déterminer qu'une vapeur à 99,7 ppm de α -cymène permettait d'inhiber la croissance mycélienne des champignons à 50 %. Le cuminaldéhyde, à une concentration de 0,0342 ppm a entraîné la même inhibition. L'activité totale du cuminaldéhyde s'est montrée 1700 fois supérieure à celle du α -cymène.

Le cuminaldéhyde est donc un composé volatil aux fortes propriétés antifongiques qui doit participer en majeure partie à l'efficacité du cumin en tant qu'inhibiteur.

■ Des plantes médicinales contre *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Srivastava & Yadav, 2008)

45 extraits éthanoliques de plantes issues du monde entier ont été jugés sur leur éventuel pouvoir inhibiteur envers *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Pour la préparation des extraits, 5 grammes de plante fraîche ont été réduits en pulpe et immergés dans 25 ml d'une solution à 50 % d'éthanol. Chaque extrait est imbibé à du papier filtre ensuite disposé sur un milieu gélosé. Puis, chaque boîte estensemencée par le champignon. L'efficacité de chaque traitement a enfin été évaluée à travers la mesure du diamètre des colonies fongiques développées.

Sur les 45 plantes à l'essai, 8 ont permis d'inhiber à plus de 80 % et plus le développement des champignons. Parmi ces 8 plantes se trouvaient des arbres et arbustes issus d'Asie du Sud-est et une graminée du désert.

Il faut retenir que l'aneth (*Anethum graveolens*) a provoqué une inhibition de 80 % tout comme les extraits de feuilles d'*Azadirachta indica* et de *Thevetia peruviana*. A noter que cette dernière plante empêche également les bruches de pondre dans les graines stockées (voir chapitre sur les insectes des denrées stockées).

La myrtacée *Callistemon lanceolatus*, cultivée en France en tant que plante ornementale, a un pouvoir inhibiteur à 92 %.

Le fenugrec *Trigonella foenum-graecum*, cultivé en France, a fourni un taux d'inhibition de 68 %.

Enfin, *Trachyspermum ammi*, vu précédemment dans le cadre de la lutte contre le ver de la farine et espèce proche de l'aneth, n'a inhibé *F. oxysporum* qu'à un taux de 54 %.

2.1.2 Evaluation de l'acide rosmarinique et des plantes de la famille des lamiacées

■ Le genre *Origanum*

Au sein du genre *Origanum*, se trouvent l'origan commun, *Origanum vulgare*, diverses marjolaines comme *Origanum majorana*, ou encore le dictamne de Crète, *Origanum dictamnus*. Le thymol contenu dans l'huile essentielle en quantité importante serait à l'origine d'une efficacité d'*Origanum* spp. contre *Botrytis cinerea* et *Fusarium solani* (dans Vasilakoglou et al., 2007).

Cette remarque est en accord avec les résultats obtenus par Salamone et al. (2006). Cette équipe a évalué *in vitro* le potentiel de trois préparations à base d'inflorescences d'*Origanum heracleoticum*, riche en thymol, contre différents champignons.

Les préparations mises à l'essai étaient une infusion (préparée avec 15 g de fleurs pour 60 ml d'eau distillée), une décoction (avec 200 g pour 1000 ml d'eau distillée) et une macération (200 g d'inflorescences pour 1000 ml d'eau distillée). Les trois solutions obtenues ont été ajoutées à des milieux de culture synthétiques ensuiteensemencés par des colonies fongiques.

L'infusion et la décoction ont présenté un fort pouvoir inhibiteur contre *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et *Phoma tracheiphila*. La mesure des diamètres des colonies développées ont permis d'estimer que le taux d'inhibition était proche de 90 % dans chaque cas. Contre *B. cinerea*, le pouvoir inhibiteur était plutôt moyen, n'atteignant pas les 50 %. La dose efficace pour chaque préparation était de 500 ml par litre de milieu de culture. Par contre, il s'est avéré que la solution obtenue par macération, pauvre en thymol, n'a pas été efficace.

■ Les Thymus

L'huile essentielle de *Thymus capitatus*, de par la présence de thymol et de carvacrol, a montré une activité fongicide contre *B. cinerea* et *F. solani* (dans Vasilakoglou *et al.*, 2007).

Pourtant, une mixture composée de prêle des champs et de thym (*Equisetum arvense* et *Thymus vulgaris*) n'a montré aucune activité contre l'oïdium de la courgette, *Sphaerotheca fusca*. Les essais ont été réalisés en Italie, en plein champ, dans des conditions très favorables à l'oïdium. La mixture était composée de 300 g/hl de prêle et de 300 g/hl de thym et elle a été appliquée en 7 traitements. Ces applications n'ont fourni aucune protection en comparaison avec des plantes non traitées (La Torre *et al.*, 2004). Aucune information n'est apportée sur le type chimique du thym.

■ Les espèces de sauge

L'huile essentielle de *Salvia fruticosa* contient majoritairement du 1,8-cinéole, des α - et β -thuyones (cétones monoterpénoides), du camphre et du caryophyllène. Lors d'essais menés *in vitro* par l'équipe de Pitarokili *et al.* (2003), il est apparu que cette huile essentielle possédait une forte activité antifongique contre les champignons du sol suivants : *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotinium*, *Fusarium solani* f. sp. cucurbitae. Cependant, elle a été moins efficace contre *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi et *F. proliferatum*.

Un autre essai en laboratoire a été réalisé avec une infusion de feuilles de *Salvia officinalis* riche en thuyone.

L'infusion a été préparée avec 15 g de feuilles fraîches jetées dans 60 ml d'eau distillée à 90 °C. Cette préparation a ensuite été ajoutée à un milieu de culture synthétique à la dose de 500 ml d'infusion par litre de gélose. Différents champignons ont été mis en culture sur ces gels et le développement des colonies a été observé afin d'évaluer le potentiel inhibiteur de l'infusion.

Cette préparation a inhibé la croissance de *Botrytis cinerea* à près de 60 % et celle de *Phoma tracheiphila* à 60 %. *Phytophthora cactorum* a, lui, été inhibé à 40 %. Une décoction et une macération de feuilles de sauge étaient également à l'essai. Chacune a été préparée à partir de 200 g de feuilles pour 1000 ml d'eau distillée. Ces préparations ont présenté une activité inhibitrice plus faible que l'infusion (Salamone *et al.*, 2006).

■ *Rosmarinus officinalis* (Salamone *et al.*, 2006)

Des feuilles et des fleurs de romarin (*Rosmarinus officinalis*), préparées en infusion, décoction ou macération ont été également étudiées par l'équipe de Salomone (2006). Les modalités d'extraction pour obtenir ces trois préparations sont précisées dans le paragraphe du dessus.

Il s'est avéré que ces trois préparations n'ont pas permis *in vitro* d'inhiber la croissance des champignons suivants : *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici, *Phoma tracheiphila*, *Phytophthora cactorum* et *B. cinerea*. Même la dose maximale de 500 ml de préparation par litre de milieu de culture n'a pas révélé d'activité. Ces préparations avaient été au préalable déterminées comme riches en α -pinène.

■ Activité fongicide de l'acide rosmarinique (Bais *et al.*, 2002)

Sept genres de champignons (*Aspergillus*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Alternaria* et *Verticillium*) ont été mis en culture sur milieu gélosé contenant une certaine quantité en acide rosmarinique. La tendance a montré que l'acide rosmarinique disposait bien de spécificités antifongiques et que plus la dose était forte, plus l'effet était marqué. Une inhibition de 100 % a été atteinte auprès de 2 espèces de *Phytophthora* et auprès d'*Aspergillus niger* avec une concentration de 250 μ M, soit 0,09 g/l.

Les examens microscopiques ont montré que les champignons ont eu leur morphologie affectée suggérant une action de l'acide rosmarinique sur les parois cellulaires.

Dans un deuxième temps, un essai de mise en contact entre des racines d'*O. basilicum* et un *Pythium* sp. a prouvé que l'acide rosmarinique était naturellement exsudé en tant qu'agent antimicrobien par les racines mises à proximité d'agents pathogènes. Il a été calculé lors de ces essais que la teneur en acide rosmarinique exsudée dans le milieu était de 162 μ M. Cette teneur est peu différente des concentrations actives déterminées dans la première partie de l'essai.

2.1.3 L'efficacité des sesquiterpénoïdes

■ Lutte contre divers champignons par l'huile essentielle de cèdre (Chang et al., 2008)

Une étude a porté sur le cèdre de Taïwan, *Calocedrus macrolepis* var. *formosana* et l'huile essentielle tirée de ses feuilles. Lors de cette étude, il a été extrait de l'huile essentielle différents monoterpènes et sesquiterpènes qui ont été jugés selon leurs propriétés antifongiques. Pour apprécier l'action toxique de ces terpènes, 6 champignons vecteurs de la fonte de semis, de maladies du feuillage et de la pourriture des racines ont été manipulés.

L'huile essentielle ainsi que chacun des terpènes ont été dissous dans 150 µl d'éthanol puis ajoutés à 15 ml de gel de culture. Chaque gel préparé a ensuite été ensemencé avec du mycélium. L'effet inhibiteur de l'huile essentielle et des terpènes est évalué à travers la mesure du diamètre des colonies fongiques développées.

L' α -pinène, la β -pinène, le limonène et le β -myrcène, principaux monoterpènes du cèdre de Taïwan, ont été estimés moyennement efficaces contre les 6 champignons par l'équipe de recherche.

Par contre, les sesquiterpénoïdes β -caryophyllène, oxyde de caryophyllène, T-muurolol et α -cadinol se sont avérés plus actifs (voir tableau ci-dessous). Le T-muurolol et l' α -cadinol sont les plus toxiques.

Tableau 26 : Effet de l'huile essentielle du cèdre de Taiwan et de ses principaux terpènes sur 6 espèces de champignons (Chang et al., 2008)

Champignons à l'essai	Taux d'inhibition avec 2 mg d'HE de cèdre/ml	IC 50 ¹ (µg/ml) des différents terpènes			
		β -caryophyllène	oxyde de caryophyllène	T-muurolol	α -cadinol
<i>Rhizoctonia solani</i>	33,1 %	> 200	125,9	15,2	21,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	15,0 %	> 200	164,0	34,2	30,1
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	16,7 %	57,9	66,1	17,1	11,7
<i>Pestalotiopsis funerea</i>	65,0 %	> 200	> 200	87,3	51,9
<i>Fusarium solani</i>	52,1 %	92,3	70,2	17,3	36,5
<i>Ganoderma australe</i>	22,5 %	> 200	> 200	93,0	44,3

¹ Comme pour la concentration létale 50, calculée pour évaluer l'efficacité d'un produit sur des insectes, la concentration en préparation végétale permettant d'inhiber 50 % des colonies de champignons - notée IC 50 - est calculée par les chercheurs. Les effets fongistatique et fongicide ne sont généralement pas distingués.

■ Le laurier de madère

Suite à une étude menée par Rodilla et al. (2008) sur le laurier de madère, *Laurus novocanariensis*, l'oxyde de β -caryophyllène (sesquiterpène) a présenté un fort pouvoir antifongique lors de tests effectués sur différentes espèces de *Fusarium* en inhibant de 60 à 90 % la croissance du mycélium.

2.1.4 Propriété d'autres métabolites secondaires

■ Les alcaloïdes

D'abord, l'extrait de pavot à panicule (*Macleaya cordata*) est homologué aux Etats-Unis par la société Camas en tant que fongicide contre les oïdiums, l'alternariose et la septoriose. *M. cordata* contient plusieurs alcaloïdes dont la sanguinarine et la chélerythrine qui représentent les deux matières actives du produit commercialisé sous le nom de Qwel[®]. Le mode d'action de ces molécules n'est pas encore bien connu et il est possible que celles-ci soient en fait stimulatrices de défenses naturelles (Copping & Duke, 2007).

Ensuite, les alcaloïdes nommés quinolizidines forment un groupe dominant de molécules au sein des plantes du genre *Lupinus*. Ces métabolites secondaires ont un rôle important dans les mécanismes de défense. Zamora-Natera *et al.* (2008) ont étudié l'effet d'un extrait alcaloïdique issu de *Lupinus mexicanus* sur la croissance de trois champignons : *Sclerotinia rolfii*, *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum*.

Après une procédure d'extraction sur les graines, une détermination des composés actifs du lupin a eu lieu par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. Les alcaloïdes suivants ont été caractérisés : lupanine (76 % des alcaloïdes), 3 β -hydroxylupanine, multiflorine, aphylline, épiaphylline et β -isolupanine. L'analyse d'autres variétés a montré que la lupanine ou le 3 β -hydroxylupanine étaient majoritaires mais en quantités plus ou moins variables selon l'espèce, le lieu et la date de récolte.

Concernant l'activité fongicide, les résultats ont indiqué que, quelque soit la dose en extrait alcaloïdique injectée dans le milieu de culture (de 1 à 5 mg d'extrait/ml de culture), aucune action n'a été constatée sur *F. oxysporum*.

Par contre, les deux autres pathogènes ont montré une forte sensibilité : *S. rolfii* a été inhibé à 72,5 % à la dose de 5 mg/ml et *R. solani* a été inhibé à 100 %. Après, plus la dose est faible et moins l'inhibition est importante. Une autre étude mettant en jeu *R. solani* et un extrait d'une autre espèce de *Lupinus* a révélé des résultats moins élevés : encore une preuve que l'espèce considérée et la modalité d'extraction sont des facteurs ayant une influence sur la toxicité des produits extraits.

■ Les glucosinolates

Les brassicacées (choux, radis, raifort) contiennent des glucosinolates qui peuvent libérer des composés très toxiques vis-à-vis des champignons de la rouille (Sevenet, 2006). En outre, l'utilisation de brassicacées en amendement réduirait la population de pathogènes des racines comme *Fusarium oxysporum* (Auger *et al.*, 2008).

■ Les thiophènes

Une étude a été menée sur l'action de polyacétylènes produits par les racines de *Tagetes patula*. Ceux-ci sont nommés thiophènes. Les thiophènes bithiényls étaient supposés avoir un effet fongicide et il est apparu lors d'un essai avec *F. oxysporum* que seules les molécules hydroxylées et acétylées possédaient un pouvoir fongicide à la différence des molécules non hydroxylées. En fait, les molécules non hydroxylées sont constamment présentes dans la plante et c'est lors d'une élicitation que ces molécules sont modifiées en composés hydroxylés qui se diffusent rapidement dans la rhizosphère et qui agissent contre les micro-organismes (Arroo *et al.*, 1995).

■ Le cinnamaldéhyde

Le cinnamaldéhyde est le principal composé de l'huile de graines de *Cassia obtusifolia* (Fabacée d'Afrique). Il est également présent dans l'huile essentielle de cannelle. Cette molécule représente la matière active d'un produit homologué aux Etats-Unis contre les genres *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* et *Sclerotinia*. Les applications sont à réaliser en préventif à des doses de 0,2 à 0,5 %. Aux USA, le cinnamaldéhyde est surtout utilisé dans les jardins de particuliers et non en production intensive (Copping & Duke, 2007). Le cinnamaldéhyde n'est pas une matière active autorisée en France (site internet e-phy). En remarque, les conditions d'homologations aux Etats-Unis sont différentes des conditions françaises et européennes. Ainsi, aux USA, les produits n'ont pas à faire preuve de leur efficacité pour qu'ils soient homologués. Seuls les tests d'écotoxicité sont importants.

2.1.5 Essai avec un extrait de *Robinia pseudoacacia* (Zhang *et al.*, 2008)

Le robinier faux acacia (*R. pseudoacacia*) a été étudié dans le cadre de la lutte contre l'oïdium du concombre, *Sphaerotheca fuliginea*.

Quatre extraits, un aqueux et trois organiques, ont été préparés à partir d'un extrait brut de feuilles de robinier. Ces extraits ont été appliqués à différentes doses sur des pousses de concombre au stade « 1 feuille ». 24 heures après, ces mêmes pousses ont été inoculées avec une suspension de conidies (concentration de 10^5 conidies/ml). 7 jours après, l'action de chaque extrait a été estimée par le calcul du « taux de protection ». Ce calcul prend en compte la surface foliaire sur laquelle le champignon s'est développé chez les plantes traitées et chez les plantes témoins. Ces dernières ont simplement subi une pulvérisation d'eau distillée.

Il s'est avéré que c'est la phase aqueuse qui contient les substances actives contre le champignon et non la phase organique.

En laboratoire, la phase aqueuse, appliquée à des concentrations de 20 et 40 mg/ml de solution, a permis un taux de protection de 84 et 90 % respectivement par rapport au témoin.

En conditions sous serre, la solution titrant à 20 mg/ml a apporté une protection de 64 % par rapport au témoin.

L'effet de l'extrait aqueux de *R. pseudoacacia* s'est montré dépendant de la dose apportée mais à partir de la dose de 20 mg/ml, la protection fournie semble atteindre un palier.

Bien que les composants actifs ne soient toujours pas connus, *R. pseudoacacia* se révèle être une source fongicide biologique potentielle d'autant plus qu'il a aussi manifesté une activité contre le mildiou de la vigne, *Plasmopara viticola* (dans Zhang *et al.*, 2008).

2.1.6 Les propriétés phytosanitaires de l'inule visqueuse (Aveline & Pajot, 2004 ; Wang *et al.*, 2004)

L'inule visqueuse (*Inula viscosa*) est une plante pérenne méditerranéenne fréquente dans les talus et au bord de la route. Elle est connue pour ses propriétés médicinales mais est apparue comme possédant également des vertus en protection des cultures. Des travaux ont notamment été menés contre le mildiou de la vigne, *Plasmopara viticola*, et se sont montrés encourageants (Aveline & Pajot, 2004).

L'équipe israélienne de Wang (2004) a travaillé sur cette plante dans le cadre de la protection préventive contre diverses maladies foliaires :

- Mildiou du concombre, *Pseudoperonospora cubensis*.
- Mildiou des solanacées, *Phytophthora infestans*.
- Rouille du tournesol, *Puccinia helianthi*.
- Oïdium du blé, *Blumeria graminis*.

Il a été préparé deux types de solutions à base d'*I. viscosa* :

- La première est une solution préparée avec de l'acétone contenant de 0,25 à 2 % p/v de pâte d'inule. Cette pâte a été obtenue par extraction de 100 g de feuilles sèches dans 1 litre de mélange acétone/n-hexane, filtration et séchage.
- La deuxième solution correspond à une émulsion aqueuse contenant de 0,125 à 1 % p/v de pâte. Cette deuxième formulation a été développée par l'équipe de chercheurs étant donné que l'acétone ne peut pas être utilisée au champ.

Les différentes solutions à l'épreuve ont été pulvérisées sur des plantes sensibles aux maladies étudiées. Puis, une inoculation artificielle de chaque souche fongique a eu lieu 30 minutes après le traitement.

Après 6 à 10 jours, l'étendue des infections a été estimée visuellement :

- Les IC 90 (concentrations en pâte qui permettent de diminuer de 90 % la surface foliaire infectée) ont été calculées. Avec une solution à base d'acétone, les IC 90 varient de 0,68 % à 1,02 % p/v de pâte dans la solution. L'ordre de sensibilité des champignons (du moins sensible au plus sensible) est le suivant : mildiou du concombre < mildiou des solanacées < rouille du tournesol < oïdium du blé.

- Les IC 90 des émulsions aqueuses se trouvent dans le même ordre de grandeur : de 0,65 à 1 % p/v et l'ordre de sensibilité est le même qu'avec l'extrait à l'acétone (Wang *et al.*, 2004).

Ainsi, cette étude montre que des extraits obtenus à partir d'*Inula viscosa* possèdent un large spectre d'activité contre les maladies foliaires des cultures. En outre, des études précédentes ont vérifié que de tels extraits étaient encore plus actifs contre le mildiou de la vigne causé par *Plasmopara viticola* (IC 90 estimée à 0,18 % p/v antérieurement par la même équipe).

Les extraits de feuilles récoltées pendant leur période de croissance (d'avril à octobre) sont particulièrement actifs et apportent une réponse homogène, qualité pour l'éventuelle fabrication d'une préparation commerciale. D'autres essais sont à mener pour améliorer les techniques de culture et les procédés d'extraction en vue d'une production industrielle.

2.1.7 Neem et aneth contre *Drechslera* sp. (Niaz *et al.*, 2008)

Des graines d'*Azadirachta indica* et d'*Anethum graveolens* ont été broyées puis soumises à extraction par du n-hexane. Les solutions obtenues ont été ensuite purifiées du n-hexane par évaporation. Les extraits finaux ont été évalués selon leurs propriétés antifongiques sur 4 espèces de *Drechslera*, pathogènes du blé, riz, orge et maïs.

Les champignons ont été mis en culture sur du gel nutritif contenant une concentration en extrait de 0,001, 0,01, 0,1 et 1 %. L'efficacité des extraits a été jugée par la mesure du diamètre de la colonie développée.

Les analyses des résultats ont révélé que plus la dose apportée était élevée, plus l'effet inhibiteur était important. Les chercheurs ont également constaté des différences significatives dans les réactions des 4 espèces de champignons face aux 2 extraits de plantes. Cela n'empêche pas que les deux plantes, aux 4 concentrations testées inhibent de manière significative par rapport au témoin le développement des colonies. Le traitement à base de fongicide de synthèse, apporté aux mêmes concentrations que les deux extraits de plante, ne s'est pas montré aussi efficace.

2.2 Traitement des graines et protection des denrées stockées

2.2.1 Screening d'huiles essentielles pour la protection du pois indien (Pandey *et al.*, 2007)

Dans le cadre de la protection du pois indien (*Cajanus Cajan*) face aux différentes espèces fongiques pouvant le contaminer, un screening à l'aide d'une cinquantaine de plantes a été effectué.

D'abord, en laboratoire, l'action des différentes huiles essentielles envers *Aspergillus flavus* et *A. niger* a été appréciée. Ces deux champignons ont été sélectionnés car ce sont ceux qui causent le plus de dégâts sur le pois indien. Ils ont été mis en culture en boîtes de Petri et le diamètre des colonies développées a été mesuré afin d'estimer l'effet inhibiteur de chaque fraction volatile :

- *Cuminum cyminum* a manifesté un pouvoir toxique de 100 % face à ces deux champignons en inhibant entièrement leur développement.
- Parmi les huiles essentielles de plantes aromatiques testées, les plantes de coriandre (*Coriandrum sativum*), fenouil (*Foeniculum vulgare*), anis vert (*Pimpinella anisum*), basilic (*Ocimum basilicum*) et menthe poivrée (*Mentha x piperita*) ont présenté une efficacité d'environ 90 % sur ces champignons.
- Le curcuma (*Curcuma amada*) et l'aneth (*Anethum graveolens*) ont montré une efficacité moyenne de 40 à 57 % d'inhibition de la croissance mycélienne.

Puis, seule l'huile essentielle de cumin a été étudiée *in vivo* sur les pois stockés. Le protocole de test consistait à introduire du coton imbibé d'huile essentielle dans des sacs de polyéthylène contenant 200 grammes de pois. Un traitement à une dose de 400 ppm a favorisé une inhibition totale de tous les champignons à l'essai et ce, pendant une période de 6 mois. Parmi les 10 champignons à l'essai, se trouvaient 4 espèces d'*Aspergillus* dont *A. niger*, 2 *Fusarium* dont *F. oxysporum*, *Alternaria alter*

nata ainsi que des espèces de *Curvularia*, *Penicillium* et *Rhizopus*. En outre, il a été vérifié que l'huile essentielle de cumin n'avait aucun effet phytotoxique sur les graines de pois et leur développement ultérieur.

Nous pouvons constater que le cumin possède de fortes propriétés antifongiques (huile essentielle mais aussi extrait sec), ces résultats étant appuyés par ceux obtenus par l'équipe de Sekine (2007) sur le développement de *Fusarium oxysporum* en laboratoire.

2.2.2 Traitement de graines d'oignon, de carotte et de chou (Tylkowska & Dorna, 2001)

Il arrive que des maladies se développant au champ soient dues à la contamination des graines lors de leur stockage. Par exemple, les botrytis *B. cinerea* et *B. allii* sont à l'origine de la pourriture des bulbes d'oignon tandis qu'*Alternaria dauci* provoque l'alternariose su carotte et ces pathogènes peuvent être retrouvés sur les graines de ces légumes. Des expérimentations ont été menées sur une dizaine de champignons retrouvés sur des graines d'oignon, de carotte et de chou (un *Fusarium* sp., deux *Botrytis* spp., cinq *Alternaria* spp., un *Phoma* sp. et un *Stemphylium* sp.). 4 produits naturels ont été évalués :

- Ecorce moulue de cannelle, *Cinnamomum zeylanicum*.
- Pulpe fraîche d'ail, *Allium sativum*.
- Poudre de rhizome de gingembre, *Zingiber officinale*.
- Poudre de feuilles et tiges de grande chélidoine, *Chelidonium majus*.

Chacun de ces 4 produits a été ajouté à un milieu gélosé à hauteur de 2,5 % (p/v). Les champignons ont ensuite été mis en culture sur les gels préparés. Des modalités portant sur des fongicides synthétiques ont également été incluses. Puis, des mesures sur le diamètre des colonies ont été effectuées après 3, 5, 7, 10 et 14 jours d'incubation.

Lors des analyses, il a été déterminé que les fongicides testés (Benlate®, interdit en France, ou Rovral®) ont été les plus efficaces. Le gingembre fournit en 2^{ème} position la meilleure protection, suivi de l'ail :

- La poudre de gingembre s'est montrée très efficace contre *Alternaria brassicae*, *A. brassicola* et *Stemphylium botryosum*. La poudre inhibe leur croissance à un taux se rapprochant de celui obtenu avec les molécules fongicides de synthèse. Par contre, elle est moyennement efficace contre *Botrytis allii*.
- La pulpe d'ail est presque aussi efficace que les molécules de synthèse contre *Alternaria radicina*, *A. Alternata*, *A. dauci*, *Fusarium avenaceum* et *Phoma lingam*.
- Enfin, la cannelle, l'ail et la grande chélidoine n'ont pas eu d'effet inhibiteur envers *B. cinerea*. Le gingembre a manifesté un pouvoir inhibiteur moyen, moins efficace que les molécules chimiques.

L'action antifongique et antibactérienne de l'ail est maintenant bien connue. Les composés inclus dans ce bulbe sont majoritairement de l'ajoène et de l'alicine, inhibiteurs de champignons, bactéries et virus (Tylkowska & Dorna, 2001).

2.2.3 La protection du raisin contre le botrytis en post-récolte (Tripathi et al., 2008)

Botrytis cinerea est un champignon pathogène de la vigne au champ mais aussi lors de la conservation du raisin de table en post-récolte. 26 huiles essentielles extraites de plantes issues d'Afrique et d'Asie ont été étudiées concernant le potentiel inhibiteur de leur phase volatile contre *B. cinerea*.

Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation de 250 grammes de feuilles ou de rhizome (cas des *Zingiber* sp.) plongés dans 750 g d'eau. Lors des tests in vitro, des gels de culture contenant 500 mg/l (soit 500 ppm) de chaque huile essentielle ont été préparés. Les diamètres des colonies développées ont été utilisés pour mesurer l'effet inhibiteur des huiles essentielles.

Parmi les 26 HE mises à l'essai, 10 HE ont permis, à la dose de 500 ppm, d'inhiber à 100 % la croissance de *B. cinerea*. Peuvent être citées au sein de ces 10 HE celle d'*Eucalyptus citriodora*, les HE

d'*Ocimum canum*, *O. gratissimum*, *O. sanctum*, ainsi que les HE de *Prunus persica* et de *Zingiber officinale*. *Ocimum basilicum*, inclus dans l'essai a inhibé la croissance des champignons à 80 %. *Cymbopogon citratus* a inhibé les champignons à 95 %. Enfin, l'HE de feuilles de neem, *A. indica*, n'a été efficace qu'à 65 %.

Dans un deuxième temps, il s'agissait de calculer la concentration minimale inhibant 100 % des champignons. Les HE d'*O. sanctum*, *P. persica* et *Z. officinale* sont les plus inhibitrices. Elles possèdent une action fongistatique à 200, 100 et 100 ppm ainsi qu'un pouvoir fongicide à partir de 2000, 1500 et 2500 ppm respectivement. Par ailleurs, ces doses sont efficaces quelque soit le nombre de colonies fongiques présentes sur le gel de culture.

Par ailleurs, ces huiles essentielles conservent leur activité toxique pendant plusieurs mois (de 24 à 48 mois selon l'HE) et sont actives sous une large gamme de températures (de 5 à 50 °C). Ces constats ont incité les expérimentateurs à approfondir les recherches. Ils ont mis en évidence que ces trois HE ont un pouvoir inhibiteur sur une quinzaine d'autres champignons pathogènes des fruits.

Lors des essais effectués directement sur les raisins conservés, les raisins non traités mais inoculés ont commencé à pourrir après 4 jours tandis que les raisins traités ont été conservés 9 jours avec l'HE d'*O. sanctum*, 8 jours avec *P. persica* et 10 jours avec l'HE de *Z. officinale*.

Ces résultats sont donc très prometteurs d'autant plus que des comparaisons avec différents fongicides toxiques ont montré que ces derniers agissaient à une dose élevée (entre 1000 et 5000 ppm) en comparaison avec les doses minimales inhibitrices des 3 HE testées. Il faudrait maintenant comprendre quelle est réellement l'activité biologique de ces HE et leur effet sur la qualité des fruits.

2.2.4 L'huile essentielle de citronnelle (Duamkhanmanee, 2008)

L'huile essentielle de citronnelle (*Cymbopogon citratus*) a montré un pouvoir contre le développement de *Colletotrichum gloesporioides* lors d'essais sur mangues récoltées.

L'huile a été extraite à partir des feuilles par distillation.

Un premier essai a consisté à immerger les fruits dans une eau chaude contenant 4000 ppm d'huile essentielle, 10 jours avant que l'inoculation artificielle ait lieu. La protection obtenue était équivalente à celle d'un traitement chimique. En traitement post-inoculation (10 jours après), les résultats ont été encore meilleurs. Le traitement serait donc à valoriser en tant que traitement curatif plutôt qu'en tant que traitement préventif.

2.3 Résumé des résultats obtenus pour la lutte contre les champignons

► Produits actifs dans le cadre de la lutte au champ

Rappel : sauf mention contraire, tous les essais ci-dessous ont été réalisés en conditions de laboratoire.

	Produit actif	Champignon-cible
Molécules actives issues d'huiles essentielles ou extraits de plantes	Acide rosmarinique	<i>Phytophthora</i> sp. <i>Aspergillus niger</i>
	Thymol / carvacrol (retrouvés dans différentes lamiacées)	<i>Fusarium solani</i> <i>Botrytis cinerea</i>
	Alcaloïdes issus de <i>Lupinus</i> spp.	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia rolfsii</i> (non efficaces contre <i>F. oxysporum</i>)
	Alcaloïdes issus de <i>Macleaya cordata</i>	Contre oïdiums, alternariose et septoriose
	Cinnamaldéhyde, issu de la <i>Cinnamomum</i> sp.	Genres <i>Verticillium</i> , <i>Pythium</i> , <i>Rhizoctonia</i> et <i>Sclerotinia</i> (dans le cadre d'une homologation aux USA)
	Cuminaldéhyde, issu de <i>Bunium persicum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
	Oxyde de α -caryophyllène, issu de <i>Laurus novocanariensis</i>	<i>Fusarium</i> spp.
	Sesquiterpénoïdes : T-murolol et β -cadinol puis caryophyllène	<i>Fusarium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
Thiophènes hydroxylés issus de <i>Tagetes patula</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	
Huile essentielle	<i>Salvia fruticosa</i>	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotinium</i> et <i>Fusarium solani</i> (non efficace contre d'autres <i>Fusarium</i> spp.)
Extraits aqueux ou éthanoliques	<i>Vitis amurensis</i> et <i>Allium fistulosum</i> (aucune action des plantes aromatiques)	<i>Verticillium dahliae</i> (également testé in vivo sur aubergines)
	<i>Anethum graveolens</i> , <i>Azadirachta indica</i> , <i>Thevetia peruviana</i> , <i>Callistemon lanceolatus</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>
	<i>Origanum heracleoticum</i> en décoction ou infusion, riche en thymol	Fort pouvoir contre <i>V. dahliae</i> , <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> , <i>Phoma tracheiphila</i> et <i>Phytophthora cactorum</i> . Pouvoir moyen contre <i>B. cinerea</i>
	<i>Salvia officinalis</i> en infusion riche en thuyone	Pouvoir assez bon contre <i>B. cinerea</i> et <i>Phoma tracheiphila</i> sinon faible
	<i>Rosmarinus officinalis</i> en infusion, décoction ou macération	Peu efficace notamment contre <i>V. dahliae</i> , <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> ou <i>B. cinerea</i>
	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Plasmopara viticola</i> et <i>Spaerotheca fulginea</i> , vecteur de l'oïdium du concombre
	<i>Anethum graveolens</i> et <i>Azadirachta indica</i>	<i>Drechslera</i> sp. (vecteur de l'helminthosporiose)
<i>Inula viscosa</i>	<i>Plasmopara viticola</i> , mildious du concombre et des solanacées, rouille du tournesol et oïdium du blé	
Poudre (test des composés volatils)	<i>Bunium persicum</i> <i>Cuminum cyminum</i> <i>Elettaria cardamomum</i> (aucune action des plantes aromatiques)	<i>Fusarium oxysporum</i>

► Produits actifs pour la protection des graines et des denrées stockées

Produit actif		Champignon-cible	Cadre de l'évaluation
Pulpe fraîche	<i>Allium sativum</i>	<i>Alternaria</i> sp. sur graines infectées	En laboratoire
Poudre de rhizome	<i>Zingiber officinale</i>	<i>Alternaria</i> sp. sur graines infectées	En laboratoire
Extrait sec	<i>Cuminum cyminum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	En laboratoire
Huile essentielle	<i>Cuminum cyminum</i>	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Aspergillus</i> spp. et <i>Fusarium</i> spp.	En laboratoire et <i>in vivo</i> sur le pois <i>Cajanus cajan</i>
	<i>Coriandrum sativum</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> , <i>Pimpinella anisum</i> , <i>Ocimum basilicum</i> , <i>Mentha x piperita</i>	<i>Aspergillus</i> spp.	En laboratoire dans le cadre de la protection de <i>Cajanus cajan</i>
	<i>Ocimum sanctum</i> , <i>Prunus persica</i> et <i>Zingiber officinale</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	En laboratoire et <i>in vivo</i> sur du raisin de table
	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>In vivo</i> sur la mangue

3 Les produits naturels aux propriétés herbicides

Les substances végétales qui possèdent des propriétés herbicides sont des substances dites allélopathiques. En fait, le terme « allélopathie » est défini de manière plus large : l'allélopathie correspond à tout effet positif ou négatif, direct ou indirect de la part d'un végétal –micro-organismes inclus– sur un autre par le biais de composés chimiques libérés dans l'environnement (Rice, 2004).

Donc, outre la prise en compte de ce phénomène pour la mise en place de rotations, l'allélopathie pourrait être utilisée dans le cadre d'une protection contre les mauvaises herbes.

Pour cela, la recherche à mener est encore importante. Actuellement, la majorité des produits et des molécules aux effets allélopathiques sont testés sur la germination et/ou la croissance de jeunes plantules car ces stades physiologiques correspondent à des phases du développement particulièrement sensibles.

Ensuite, le lien entre l'effet biologique du produit allélopathique et les symptômes observés chez la plante-cible n'est pas toujours facile à établir. Les phénomènes observés sont de diverses natures (Chiapusio *et al.*, 2008) :

- Division et élongation cellulaires affectées (souvent par l'inhibition de la synthèse d'ADN).
- Perturbation de la synthèse et de l'activité des hormones végétales.
- Perturbation de l'activité respiratoire.
- Réduction de l'activité photosynthétique.
- Dérèglement des mécanismes d'absorption minérale (en particulier phosphore et potassium).

Les paragraphes qui suivent ne portent pas sur les mécanismes déclenchés par les composés allélopathiques mais sur la détection de composés végétaux de différentes natures ayant une action anti-germinative, inhibitrice de croissance et herbicide.

3.1 Screening d'huiles essentielles et d'extraits de plantes

3.1.1 Extraits de plantes médicinales (Qasem & Hassan, 2003)

Deux mauvaises herbes, la mauve (*Malva sylvestris*) et le pourpier (*Portulaca oleracea*), ont servi de support pour un screening de plantes médicinales communes en Inde.

■ Tests en laboratoire, sur substrat artificiel

Extrait aqueux

Les graines sont posées sur du papier imbibé d'une solution contenant 4 ml d'extrait aqueux. Cet extrait est préparé à partir de 300 grammes de matériel végétal frais (pousses, feuilles ou fleurs) mixés dans 1 litre d'eau distillée.

La plupart des vingt plantes à l'essai ont provoqué la baisse du taux de germination et une réduction de croissance chez la mauve.

Les essais menés avec le pourpier ont révélé que les extraits de plantes n'ont pas d'effet sur sa germination. Seul l'extrait aqueux de câprier (*Capparis spinosa*) a permis de bloquer la germination de plus de 70 % des graines. Seule la croissance des plantules a été affectée par les extraits aqueux de manière plus ou moins prononcée.

Ce premier test a permis de sélectionner cinq plantes qui ont montré le plus de potentiel (de la plus à la moins efficace) :

- *Capparis spinosa*
- *Lavandula angustifolia*
- *Origanum syriacum*
- *Rhus coriaria*
- *Teucrium polium*

D'autres plantes communément cultivées en France ont montré un certain pouvoir allélopathique mais moins important.

Tableau 27 : Effets d'extraits aqueux de plantes aromatiques sur la germination et la croissance de la mauve et du pourpier (Qasem & Hassan, 2003)

Plantes testées (extraits aqueux)	<i>Malva sylvestris</i>			<i>Portulaca oleracea</i>		
	Germination (%)	Croissance (mm)		Germination (%)	Croissance (mm)	
		épicotyle	racines		épicotyle	racines
Témoin	88	38,5	21,0	98	30,1	27,4
<i>Coriandrum sativum</i>	36	4,7	0,4	98	20,8	3,3
<i>Mentha viridis</i>	47	13,2	5,8	98	13,4	5,8
<i>Ocimum basilicum</i>	70	19,9	4,4	98	25,9	14,5
<i>Rosmarinus officinalis</i>	68	28,0	8,4	98	14,2	5,7
<i>Salvia officinalis</i>	58	13,7	1,8	98	22,2	7,0

En remarque, l'extrait aqueux d'*Allium cepa* s'est avéré inefficace. D'une manière générale, la croissance des racines a été plus inhibée que celle des parties aériennes. Et, il est souvent apparu que l'extrait de feuilles était plus puissant qu'un extrait de tige.

De plus, le phénomène allélopathique s'est avéré fonction de l'extrait considéré, du volume apporté et de la mauvaise herbe visée.

Effet des percolats foliaires

Mis à part *Rhus coriaria* qui n'a pas été inclus dans cette partie, les extraits aqueux des quatre plantes les plus efficaces ont été testés. Ces quatre plantes se sont également avérées efficaces en étant employées sous forme de lixiviats.

Effet des composés volatils des 3 plantes les plus efficaces

Les composés volatils émanant de segments végétaux frais de *C. spinosa*, *L. angustifolia* et *O. syriacum* ont la propriété d'inhiber la germination et la croissance du pourpier en laboratoire. La croissance de l'épicotyle a été plus affectée que celle des racines.

■ Tests sous serre

Effet de résidus secs mélangés au terreau de production

De 0,5 à 4 g de poudre de plantes ont été mélangés à 250 g de terreau dans lequel ont été semées 25 graines. Les essais ont eu lieu avec les 20 plantes aromatiques et médicinales. Les observations se sont déroulées sur un mois.

Les résidus de *L. angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* et *T. polium* ont entraîné une inhibition de la croissance de la mauve et du pourpier et cette inhibition a été visible dès la dose de 0,5 g/250 g de terreau. Une dose de 4 g/250 g a un effet maximal.

Cependant, il est également indiqué dans l'article qu'une dose de 4 g/250 g de terreau de *Mentha viridis*, *Coriandrum sativum*, *Allium cepa* et *Allium porrum* a un effet stimulateur de croissance sur le pourpier.

Effet d'une application d'extrait au sol

75 ml d'extraits aqueux de tiges ou de feuilles de *C. spinosa*, *L. angustifolia*, *O. syriacum* et *T. polium* ont été apportés sur les semis en pot. L'application de *C. spinosa* s'est montrée la plus inhibitrice sur les deux mauvaises herbes testées. Ce traitement a notamment fait chuter les taux de germination au dessous de 20 %. *L. angustifolia* et *T. polium* n'ont pas bloqué la germination mais la croissance des plantes de manière significative par rapport au témoin. Enfin, *O. syriacum* n'a pas été puissant, en particulier sur le pourpier.

Extrait en application foliaire

Les extraits appliqués sur des feuilles de plants de 2 semaines n'ont pas procuré d'effet inhibiteur significatif.

Il faut retenir que les extraits de plantes sont généralement plus puissants que des percolats car ils sont plus riches en composés allélopathiques. Le cas de la lavande, dont le percolat est très actif, indique que les composés toxiques de cette plante sont solubles dans l'eau. Par ailleurs, des extraits de feuilles sont plus efficaces que des extraits de tiges.

Pour ce qui est de l'effet des résidus secs, il est très variable selon la plante source. *R. officina* -

lis s'est montré plus actif sous la forme de résidu sec. Cela est sûrement dû à l'augmentation de la concentration en principes actifs suite au séchage de la plante. Peut-être aussi qu'une transformation de composés toxiques en molécules encore plus actives a eu lieu.

Selon les auteurs, des travaux portant sur l'interaction avec les micro-organismes devraient être menés car ces derniers peuvent avoir une influence sur la puissance d'action des extraits allélopathiques apportés.

Enfin, nous pouvons constater que beaucoup de pistes de travail sont à explorer afin de déterminer le mode d'application idéal des extraits ou des résidus de plantes possédant des propriétés herbicides.

3.1.2 Huiles essentielles de plantes aromatiques

■ Essais sur une monocotylédone, le blé tendre (Dudai et al., 1999)

32 huiles essentielles (HE) préparées à partir d'organes aériens de plantes aromatiques ont été testées sur la germination du blé tendre *Triticum aestivum* en boîte de Petri. Les concentrations inhibant la germination de 50 % des graines (les IC 50) ont été calculées. *Micromeria fruticosa* (thym du Liban), *Mentha x piperita*, *Cymbopogon citratus* sont parmi les 5 plantes les plus toxiques en ayant une IC 50 de 30 nl/ml d'air (Dudai et al., 1999).

Parmi les autres plantes étudiées, peuvent être citées les plantes suivantes communément cultivées en France :

- *Melissa officinalis*, *Salvia officinalis* et *Rosmarinus officinalis* qui ont une IC 50 de 40 nl/ml.
- *Carum carvi*, *Lavandula angustifolia*, *Hyssopus officinalis* et *Coriandrum sativum*. Ils ont une IC 50 comprise entre 48 et 56 nl/ml.
- Les *Origanum* spp. ont une IC 50 de 60-68 nl/ml.
- *Thymus vulgaris*, *Laurus nobilis* et *Pelargonium graveolens* possèdent une IC 50 peu intéressante de 76 et 84 nl/ml respectivement.
- Enfin, *Artemisia absinthium* et *Artemisia dracuncululus* se sont avérées inintéressantes avec une IC 50 supérieure à 100 nl/ml.

■ Essais sur blé tendre et amarante (Dudai et al., 1999)

Les chercheurs ont choisi arbitrairement d'effectuer des tests supplémentaires avec les huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*, d'*Origanum syriacum* et de *Micromeria fruticosa* sur l'émergence du blé tendre (*Triticum aestivum*) et de l'amarante (*Amaranthus palmeri*) en terre.

Des premiers essais ont été réalisés en laboratoire. Des pousses d'1 à 2 mm ont été disposées sur du papier filtre imbibé d'HE dans des boîtes de Petri. Les IC 50 ont été obtenues après avoir attendu 48 heures à 27 °C.

D'autres essais ont eu lieu sur des graines semées dans des pots contenant différents types de sol. Les huiles essentielles ont été administrées sous forme d'arrosage au niveau de la surface du sol.

Les résultats se trouvent dans le tableau 28.

Tableau 28 : Effet de trois huiles essentielles sur la germination *in vitro* et *in vivo* du blé tendre et de l'amaranthe (selon Dudai et al., 1999)

Huiles essentielles	Principaux composés	IC 50 sur la germination du blé <i>in vitro</i> (nl/ml)	Germination du blé en terre (%) ¹	Germination de l'amaranthe en terre (%) ¹
<i>Cymbopogon citratus</i>	Géranial et néral (monoterpènes aldéhydiques), myrcène	32	0	8
<i>Origanum syriacum</i>	Carvacrol (monoterpène phénolique), α -cymène, β -terpinène	60	10	0
<i>Micromeria fruticosa</i>	Pulégone (monoterpène cétonique) et isomenthol	28	67	56

¹ Résultats obtenus à la suite d'un apport de 50 ml d'une solution à 2 % en huile essentielle pour 230 g de terre limoneuse.

Concernant les tests sur l'émergence des plantules dans un sol, il a été constaté que le type de sol et la profondeur de semis, outre la dose apportée en HE, avaient une influence sur l'efficacité du traitement.

Au niveau des essais en boîtes de Petri, il est apparu que la croissance des plantules était inhibée par des doses moins élevées : 16 nl d'HE de citronnelle/ml d'air sont suffisants pour bloquer la croissance de 50 % des plantules. Selon les auteurs, des tests plus proches des conditions de terrain devraient être réalisés car ces résultats sont prometteurs (Dudai et al., 1999).

■ Essai sur une dicotylédone, le pissenlit (Tworkoski, 2002)

Tworkoski (2002) a étudié l'effet des huiles essentielles ou huiles simples de 25 plantes. Parmi les plantes aromatiques, se trouvaient le basilic (*Ocimum basilicum*), le carvi (*Carum carvi*), le fenouil (*Foeniculum vulgare*), la sarriette (*Satureja hortensis*), le thym (*Thymus vulgaris*) mais aussi la cannelle *Cinnamomum zeylanicum* et le girofle *Syzygium aromaticum*. Dans le cas de ces plantes, ce sont bien les huiles essentielles qui ont été utilisées. Elles ont été achetées dans le commerce.

L'essai a eu lieu en laboratoire, sur feuilles de pissenlit (*Taraxacum officinale*). Parmi les 25 plantes testées, la sarriette, suivie du clou de girofle, du thym et de la cannelle ont provoqué le plus de dommages visibles associés à une fuite d'électrolytes (par la mesure de la conductivité électrique). En effet, Tworkoski a repris l'hypothèse émise par d'autres chercheurs suggérant qu'une huile essentielle toxique provoque une altération de la perméabilité des membranes cytoplasmiques. Cette hypothèse est confirmée par les observations de Tworkoski mais les mécanismes aboutissant à cette altération restent à être déterminés. Des essais ont été menés avec les quatre huiles essentielles précédentes sur trois mauvaises herbes : *Chenopodium album*, *Ambrosia artemisiifolia* et *Sorghum halepense*. Il a été pulvérisé sur ces plantes âgées de 3 mois, une solution de 1 à 10 % v/v d'HE contenant également un agent mouillant et de l'huile de paraffine. Des différences notables ont été constatées selon l'HE appliquée et la mauvaise herbe étudiée :

- *S. halepense* est sensible à de faibles doses (1 %) après 7 jours mais il n'est pas détruit à 100 %. *C. album* et *A. artemisiifolia* nécessitent une plus forte dose (au moins 5 %) mais peuvent être éliminés à 100 %.
- Les HE de cannelle et de clou de girofle ont été plus efficaces que celles de thym et de sarriette. Ensuite, comme ce genre de produit n'est pas systémique, il est impératif qu'il couvre bien la plante. L'ajout de meilleurs adjuvants devrait faciliter la couverture de la plante. Enfin, 30 jours après le traitement, quelques repousses ont été observées. Il faudrait donc réitérer le traitement.

Des analyses plus développées sur l'HE de cannelle ont abouti à la conclusion que l'eugénol était le composé toxique principal de cette huile. Ce phénol a également la qualité de posséder une faible toxicité. Sa dose létale pour 50 % d'une population de rats est estimée à 2650 mg/kg. En comparaison, le dinosèbe, molécule phénolique herbicide non autorisée en France, a une DL50 de 58 mg/kg.

3.2 L'action des huiles essentielles riches en terpènes et phénols

3.2.1 Quelques huiles essentielles connues

L'étude de Rodilla *et al.* (2008) sur le laurier de madère (*Laurus novocanariensis*), a montré que l'huile essentielle extraite des feuilles était riche en terpènes oxygénés (dans l'ordre d'importance : 1,8-cinéole, pinocarvone, linalol, α -terpinyl acétate, α -muurolol et α -caryophyllène). Ces terpènes confèrent à l'HE un pouvoir antigerminatif et un potentiel d'inhibition de la croissance des radicules (essais effectués sur *Lactuca sativa*). Il a été reporté à plusieurs reprises que les monoterpènes oxygénés ont un effet sur la respiration mitochondriale et induisent l'éclatement des membranes cellulaires (dans Arminante *et al.*, 2006).

L'huile essentielle d'armoise (*Artemisia vulgaris*) permet de réduire la germination et le développement de la lampourde (*Xanthium strumarium*), de l'amaranthe réfléchie (*Amaranthus retroflexus*), du chénopode blanc (*Chenopodium album*), mais aussi du trèfle blanc (*Trifolium repens*), du concombre (*Cucumis sativus*) ou du cresson frisé (*Lepidium sativum*). L'HE a totalement inhibé la germination du panic pied-de-coq (*Echinochloa crus-galli*) ou encore de la luzerne (*Medicago sativa*), de la tomate (*Solanum lycopersicum*), du chou chinois (*Brassica pekinensis*) et de la carotte (*Daucus carota*).

Cette huile essentielle est riche en terpènes, en particulier en monoterpènes : α -pinène, β -pinène, camphre, eucalyptol (= 1,8-cinéole) et oxyde de caryophyllène. Ces composés, appliqués seuls, possèdent une faible action inhibitrice et l'effet inhibiteur n'est obtenu que par l'utilisation de l'huile essentielle en tant que telle. Ces monoterpènes ainsi que d'autres composés doivent donc agir en synergie pour de meilleurs résultats. De plus, il s'est avéré qu'une huile essentielle extraite de tissus foliaires jeunes était plus riche en monoterpènes que celle issue de feuilles plus anciennes, et que par conséquent, elle possédait un meilleur potentiel inhibiteur (dans Onen, 2007).

Puis, l'huile de clou de girofle, obtenue par distillation des feuilles d'*Eugenia caryophyllus*, est composée de divers terpénoïdes et d'eugénol, phénylpropanoïde hautement phytotoxique. Cette préparation possède une action sur les plantes levées en provoquant la perte d'intégrité des membranes. Cependant, elle n'est pas systémique dans la plante. Elle est peu toxique pour l'homme et l'environnement (Copping & Duke, 2007).

En outre, ce produit semble bien moins efficace sur graminées par rapport aux dicotylédones. Boyd et Brennan (2006) ont testé l'application de solutions à diverses teneurs et en différentes quantités. Ils ont constaté que cette HE n'était pas efficace sur le seigle (*Secale cereale*) mais qu'elle l'était contre l'ortie brûlante (*Urtica urens*), et le pourpier (*Portulaca oleracea*). Puis, plus les plantes sont développées et plus le produit perd en efficacité, le mieux est de traiter au stade 1 à 2 feuilles. Enfin, Boyd et Brennan ont conclu que l'HE de clou de girofle est efficace mais que le coût de l'opération peut être très élevé aux doses requises pour un résultat optimal (solution de 10 à 40 % en HE, appliquée à raison de 12 à 60 l/ha). A réserver donc aux cultures à haute valeur ajoutée.

L'huile de clou de girofle associée au 2-phénétyl propionate (issu de la menthe poivrée) représente la substance active d'un produit qui a été homologué aux Etats-Unis en tant qu'herbicide. Chaque substance est contenue à hauteur de 21,4 % dans la préparation qui doit être diluée 4 fois avant son application.

Un autre produit homologué aux USA contient 5 % d'huile de clou de girofle, 5 % de 2-phénétyl propionate, 4 % d'huile de sésame et 0,5 % de sodium lauryl sulfate (Copping & Duke, 2007).

Enfin, le carvacrol, monoterpène phénolique majeur chez plusieurs huiles essentielles, a montré une forte activité sur la germination de graines et l'élongation de plantules d'euphorbe (*Croton capitatus*). C'est également le cas avec le linalol, monoterpène notamment retrouvé dans *Lavandula angustifolia* (Vokou *et al.*, 1993).

3.2.2 Le cas des lamiacées

■ Potentiel de 8 lamiacées (Arminante *et al.*, 2006)

Les huiles essentielles de 8 lamiacées ont été analysées puis testées contre la germination du radis (*Raphanus sativus*), de la laitue (*Lactuca sativa*) et du cresson (*Lepidium sativum*). Les huit lamiacées sont le basilic (*Ocimum basilicum*), l'hysopé (*Hyssopus officinalis*), la lavande (*Lavandula angustifolia*), la marjolaine (*Origanum majorana*), la mélisse officinale (*Melissa officinalis*), l'origan (*Origanum vulgare*), la sauge officinale (*Salvia officinalis*) et le thym vulgaire (*Thymus vulgaris*).

D'abord, les analyses portant sur la composition de ces HE ont montré une forte teneur en monoterpènes oxygénés et de faibles teneurs en autres monoterpènes et sesquiterpènes.

Quant à la toxicité de ces HE, elle a d'abord été testée en laboratoire par contact direct des graines avec 7 ml d'une solution contenant de 0,06 µg/ml à 2,5 µg/ml d'HE. Les plus faibles doses ont parfois provoqué la stimulation de croissance des graines au lieu de les inhiber, ce phénomène est nommé hormesis⁴ (Romagni *et al.*, 2000). Les meilleures inhibitions ont été observées avec la plus forte concentration : les résultats sont indiqués dans le tableau 29.

Tableau 29 : Inhibition de la germination et de l'élongation du radis, de la laitue et du cresson, au contact d'une solution contenant 2,5 µg/ml d'huile essentielle (résultats en pourcentages)

	Basilic	Hysopé	Lavande	Marjolaine	Mélisse	Origan	Sauge	Thym
Radis	40/30*	100/100	100/100	100/88	100/100	100/100	100/100	100/100
Laitue	75/75	95/100	60/75	100/100	100/100	100/100	88/81	100/100
Cresson	63/96	100/100	85/98	30/92	100/100	100/100	85/98	100/100

* % d'inhibition de germination/% d'inhibition d'élongation

Enfin, la toxicité des vapeurs d'huiles essentielles a été évaluée. Pour ce faire, les graines ont été mises à germer en boîte de Petri à proximité d'1,5 ml d'HE. Les résultats obtenus sont assez différents (voir tableau 30).

Tableau 30 : Inhibition de la germination et de l'élongation du radis, de la laitue et du cresson par différentes huiles essentielles vaporisées (résultats en pourcentages)

	Basilic	Hysopé	Lavande	Marjolaine	Mélisse	Origan	Sauge	Thym
Radis	94/94	100/100	100/100	93/94	100/100	100/100	88/74	83/72
Laitue	100/100	100/100	100/100	100/100	100/100	100/100	100/100	100/100
Cresson	100/100	89/96	89/96	100/100	89/96	100/100	100/100	100/100

■ Un faible potentiel herbicide du basilic (Vasilakoglou *et al.*, 2007)

Les huiles essentielles de 4 variétés d'*Ocimum basilicum* ont été testées in vitro sur leur effet inhibiteur de la croissance du panic pied-de-coq (*Echinochloa crus-galli*) et du chénopode blanc (*Chenopodium album*).

Les deux principes actifs supposés du basilic sont l'eugénol et le linalol. Suivant les variétés utilisées pour l'extraction, les teneurs de ces deux composés variaient de 0,7 à 0,9 % et de 32 à 38 % respectivement. Elles sont plus faibles que dans une huile essentielle commercialisée.

Les essais ont eu lieu sur des lots de 50 graines placés sous 5 g de perlite en boîte de Petri. Ces graines ont été arrosées avec 15 ml d'eau distillée. Puis, de 4 à 32 µl d'HE ont été ajoutés au milieu de culture.

Il est apparu qu'aucune des 4 variétés n'avait un effet inhibiteur de la germination et la croissance racinaire du panic pied-de-coq. L'huile commerciale a montré un meilleur potentiel mais non suffisant selon les expérimentateurs.

Concernant le chénopode blanc, les inhibitions obtenues étaient un peu plus importantes et une

⁴ L'hormesis désigne une réponse biologique favorable suite à l'application à faible dose d'une toxine ou d'un composé habituellement stressant.

fois encore, c'est l'huile essentielle commerciale qui a fourni plus fortes inhibitions. La germination a pu être diminuée de 53 % et la longueur des racines a été inhibée à 68 % en moyenne.

D'autre part, plus la concentration testée est élevée, plus l'inhibition est importante, mais ce phénomène n'a pas eu lieu de manière proportionnelle.

Ainsi, l'huile essentielle de basilic n'apparaît pas comme ayant un bon potentiel herbicide et ces résultats sont appuyés par d'autres obtenus sur la germination du blé d'hiver (Dudai *et al.*, 1999) ou sur des feuilles de pissenlit (Tworkoski, 2002) En fait, les résultats ont permis de détecter un effet herbicide de la part de l'eugénol et du linalol mais ces composés ne se trouvent pas en quantités suffisantes pour que l'huile essentielle de basilic, utilisée en tant que telle, ait un réel effet herbicide.

■ Le thymol de l'origan confère un fort pouvoir herbicide (Vasilakoglou *et al.*, 2007)

Comme l'huile essentielle de basilic, les huiles essentielles de 6 espèces d'origan et de marjolaine ont été testées concernant leur effet inhibiteur de la croissance du panic pied-de-coq et du chénopode blanc. Le principe actif présumé de ces plantes est le thymol. Le protocole de test respecté est identique à celui suivi pour l'évaluation du basilic : les doses apportées allaient de 4 à 32 µl d'HE par boîte de Petri (soit une concentration de 80 à 640 nI d'HE/ml milieu).

Toutes les huiles essentielles d'*Origanum* ont entraîné une inhibition du chénopode. Les résultats ont été plus variables sur le panic pied-de-coq :

- L'huile de marjolaine (*O. majorana* et *O. onites*) a été considérée comme modérément phytotoxique ;
- L'huile d'origan (*O. vulgare*) s'est montrée fortement phytotoxique. En effet, l'origan a permis en moyenne de bloquer la germination et la croissance des racines de 80 à 90 %, et ce, sur les deux mauvaises herbes étudiées.
- La marjolaine égyptienne (*O. maru*) a montré également un fort pouvoir inhibiteur.

L'huile essentielle des espèces communes de marjolaine ne contenait en moyenne que 1 % de thymol tandis que l'huile essentielle d'origan en contenait 60 %. L'équipe de recherche en a déduit que l'effet inhibiteur était donc bien dû à la présence de ce métabolite. Pourtant, la marjolaine égyptienne ne contenait, elle, que 1,9 % de thymol.

3.2.3 Remarque sur les effets du cinéole (Romagni *et al.*, 2000)

Les cinéoles sont des monoterpènes volatils retrouvés communément dans l'huile essentielle de *Laurus nobilis*, *Salvia* spp., *Eucalyptus* spp. ou *Artemisia* spp. Il a été montré que leur toxicité était due à la présence d'une partie époxyde (dans Romagni *et al.*, 2000). Le 1,8-cinéole est le cinéole phytotoxique retrouvé le plus abondamment mais il existe aussi le 1,4-cinéole retrouvé en quantités bien plus faibles mais également toxiques. Ces deux molécules ont la même formule et le même poids moléculaire, la différence réside dans la position du pont oxygène.

L'objectif de Romagni *et al.* (2000) était de comparer les effets phytotoxiques de ces deux molécules analogues contre une monocotylédone : *Echinochloa crus-galli* et contre une dicotylédone : *Cassia obtusifolia*. Cette deuxième plante appartient à la famille des fabacées, elle est retrouvée sur tout le continent américain, en Afrique et en Asie.

Pour évaluer l'effet des doses sur le développement des plantes, du papier filtre imbibé de cinéole est placé dans un pot de Petri de 300 ml. 200 g de sable stérile sont ajoutés par-dessus, avec 25 graines et 50 ml d'eau. Chaque pot a été fermé hermétiquement. Les doses testées sont de 0, 10, 100 et 1000 µg de cinéole/g de sable.

Concernant la germination, le 1,8-cinéole a diminué significativement le taux de germination des deux mauvaises herbes à toutes les doses. L'autre molécule n'a commencé à opérer qu'à la dose de 100 µg/g et une dose de 10 µg/g a eu un effet de stimulation de la germination de *C. obtusifolia* (phénomène d'hormesis).

Le 1,4-cinéole et le 1,8-cinéole ont tous les deux bloqué la croissance racinaire. De plus, le 1,4-cinéole a entraîné une malformation des pousses dès la dose de 10 µg/g sable. Le 1,8-cinéole, lui, a induit une baisse plus ou moins forte de la hauteur des pousses. Par ailleurs, *E. crus-galli* s'est montré plus sensible que la dicotylédone.

Ensuite, des analyses de chlorophylle ont montré que seul le 1,4-cinéole causait un stress important par rapport au témoin.

Puis, des analyses sur le déroulement des mitoses sur l'oignon ont apporté des informations complémentaires : le 1,8-cinéole bloque fortement le taux de mitoses à la différence du 1,4-cinéole.

Donc, la position du pont oxygène provoque un changement de conformation tel que les deux molécules possèdent un mode d'action bien spécifique. Et, comme ces composés sont généralement retrouvés ensemble dans une plante, ils semblent contribuer aux propriétés allélopathiques de cette plante de manière synergique.

3.3 L'action d'autres molécules végétales herbicides

3.3.1 Le potentiel des flavonoïdes (Iqbal *et al.*, 2005)

Une étude a été menée sur les plantes de sarrasin du genre *Fagopyrum*, qui possèderaient des propriétés allélopathiques puissantes. Si l'hypothèse était validée, le sarrasin pourrait être utilisé en tant que couvert végétal et remplacerait l'application de produits chimiques herbicides. Dans ce cadre, les principes actifs de *Fagopyrum* spp. ont été recherchés.

Il a été isolé des parties aériennes fraîches de *F. tataricum*, 3 composés flavonoïdes : la rutine, la quercitrine et la quercétine, aux doses respectives de 600 mg, 22 mg et 18 mg (données dépendantes des conditions d'essais).

Leur activité a été testée sur des jeunes plants de laitue. Ces expérimentations ont abouti aux conclusions suivantes :

- La dose nécessaire de rutine pour éliminer 50 % des mauvaises herbes (I'IC 50) s'élève à 98 µg/g laitue.
- La quercitrine présente une IC 50 de 45 µg/g laitue.
- Enfin, la quercétine a une IC 50 estimée à 90 µg/g laitue.

Donc, la quercitrine est le composé le plus actif contre la germination des graines. Cependant, la rutine, même si elle a une IC 50 plus élevée, se trouve dans la plante à une teneur 27 fois plus élevée que la quercitrine. Ces deux molécules ont donc un rôle primordial dans les propriétés allélopathiques du genre *Fagopyrum*. Elles sont retrouvées en quantités particulièrement élevées au sein de *F. tataricum*. Cette plante pourrait donc être utilisée pour enherber les parcelles devant être protégées des mauvaises herbes.

3.3.2 L'intérêt des alcaloïdes (Zamora-Natera *et al.*, 2008)

Il a été vu dans le chapitre portant sur les champignons pathogènes que les alcaloïdes nommés quinolizidines sont abondamment retrouvés dans les plantes du genre *Lupinus*. Hormis les recherches portant sur les champignons, ces alcaloïdes ont été également jugés sur leurs propriétés allélopathiques.

Il a été étudié l'effet de l'espèce *L. mexicanus* sur la germination de graines de la dicotylédone *Amaranthus hybridus* et de la monocotylédone *Echinochloa crus-galli*. Le lupin étudié était composé des alcaloïdes suivants : lupanine (76 % des alcaloïdes), 3- β -hydroxylupanine, multiflorine, aphylline, épiaphylline et β -isolupanine.

Pour évaluer l'effet herbicide de *L. mexicanus*, 40 graines de mauvaises herbes ont été traitées avec 4 ml d'eau distillée contenant de 1 à 4 mg d'extrait alcaloïdique.

Sur les graines d'*A. hybridus*, il a été constaté qu'à la plus forte dose, 80 % des graines n'ont pas germé. A l'inverse, aucun effet n'a été observé sur les graines d'*E. crus-galli*.

Selon les auteurs, une autre équipe a étudié un extrait de feuilles de *Calia secundiflora* contenant aussi des quinolizidines. Cette plante est un arbuste de la famille des fabacées, originaire d'Amérique du Sud. Il a été observé une inhibition des graines d'*A. hybridus* mais seulement à hauteur de 27 %. Ce constat est sûrement dû à la présence de ces composés dans les plantes en quantités variables selon l'espèce, le lieu et la date de récolte.

3.3.3 L'utilisation de différents acides végétaux

Les acides hydroxamiques et en particulier ceux du type benzoxazinone constituent une famille chimique importante chez de nombreuses poacées. Différents travaux portant sur ces composés ont mis en évidence un fort potentiel allélopathique de la part de ces molécules (Chiapusio *et al.*, 2008).

L'acide pélargonique (ou acide nonanoïque), acide gras issu des géraniacées, est le principe actif d'une spécialité distribuée aux USA en tant qu'herbicide non sélectif et non systémique qui agit par éclatement des cellules végétales. Il a un faible impact sur l'environnement, il est peu toxique et il laisse très peu de résidus (Copping & Duke, 2007).

Enfin, l'huile de pin, composée de terpènes et d'acides gras saponifiés, est disponible sur le marché des Etats-Unis. Cette huile agit très rapidement sur les mauvaises herbes et, comme les autres produits naturels, elle n'est pas sélective ni systémique. Son efficacité est variable et sa rémanence n'est que de 3 jours (Copping & Duke, 2007).

3.3.4 Guaïanolides et dérivés (Macías *et al.*, 2006)

Le dehydrocostuslactone issu de la résine de costus (*Saussurea lappa*), ainsi que trois guaïanolides issus de l'artichaut (*Cynara scolymus*) ont été testés en tant que tels ou légèrement modifiés afin de déterminer leur pouvoir phytotoxique.

Des premiers essais portant sur le développement des coléoptiles de blé ont mis en évidence la forte activité biologique des guaïanolides. Ces guaïanolides sont de deux types : certains sont composés d'une partie alkylable, comme l'oxétane ; d'autres possèdent un groupe carbonyle α - ou β -insaturé.

Puis, la phytotoxicité de ces molécules a été évaluée sur *Lactuca sativa*, *E. crus-galli* et *Lolium rigidum*. Dans ce cas, la phytotoxicité s'est avérée être dépendante de l'espèce de mauvaise herbe. Les laitues ont été résistantes face aux différents guaïanolides sauf aux lactones oxétanes qui ont montré un certain effet. Ces oxétanes ainsi que le dehydrocostuslactone ont été très efficaces contre l'ivraie raide (*Lolium rigidum*). Enfin, le panic pied-de-coq a été bien maîtrisé avec les oxétanes, la cynaropicrine et un composé 1,4-dicarbonylé.

3.3.5 Les glucosinolates présentent un effet limité (Kaiser-Alexnat, 2008)

Les brassicacées sont riches en composés nommés glucosinolates aux activités herbicides et toxiques. De la poudre de silicules de la guède (*Isatis tinctoria*), contenant ces composés, a été évaluée sur ses propriétés herbicides. Tandis qu'en laboratoire, les résultats ont montré une activité herbicide intéressante, il s'est avéré qu'en conditions réelles, la quantité de poudre nécessaire à mélanger dans le sol était trop importante pour envisager une utilisation à grande échelle. Donc, il s'agit de trouver d'autres méthodes de préparation afin de profiter au mieux des effets toxiques des glucosinolates contenus dans la guède.

3.4 Le lien entre la méthode d'extraction et l'activité des biopesticides (Azizi *et al.*, 2008)

L'objectif de l'étude était d'analyser les effets de différentes méthodes d'extraction de la menthe poivrée (*Mentha x piperita*) et du thym (*Thymus vulgaris*) sur la germination d'*Amaranthus retroflexus*, de *Portulaca oleracera* et de *Lactuca sativa*.

Les trois protocoles d'extraction qui ont été effectués sont les suivants :

- Extraction au Soxhlet : 1 g d'organes aériens mélangé à 20 ml d'une solution hydro-alcoolique et placé en Soxhlet pendant 3 h à 60 °C.
- Macération d'1 g de plante dans 10 ml d'eau.
- Macération d'1 g de plante dans 10 ml d'une solution éthanolique à 10 %.

Les tests de germination se déroulent en boîtes de Petri avec 2 ml de solution versés sur 30 graines.

Les résultats obtenus sont les suivants :

- Quelque soit l'espèce de plante étudiée, les extraits à l'eau de menthe et de thym ne se sont montrés que moyennement efficaces. Par exemple, ils ne bloquent que 20 à 25 % de la germination du pourpier.
- La menthe poivrée en solution éthanolique préparée par Soxhlet ainsi que l'extrait éthanolique de thym se sont révélés très puissants contre la germination de la laitue et de l'amarante en inhibant 100 % de la germination.
- Le développement des graines de pourpier est totalement bloqué par l'extrait de thym obtenu au Soxhlet. La solution de menthe issue du Soxhlet a bloqué le développement de 73 % des graines, résultat qui reste intéressant. Enfin les deux extraits éthanoliques de thym et de menthe poivrée ont entraîné une baisse de 55 % de la germination.

Ces résultats montrent que des différences d'efficacité de produits peuvent être constatées selon l'espèce de plante visée mais aussi selon la préparation contenant la substance active. L'efficacité moyenne des extraits à l'eau peut s'expliquer par la faible quantité de molécules extraites (peu de résidus à sec).

3.5 Le phénomène d'autotoxicité (Onen, 2007)

Comme nous l'avons vu tout au long de cette partie, l'allélopathie concerne certaines plantes qui produisent et libèrent des composés affectant d'autres plantes de manière directe ou indirecte. Si la plante productrice et la plante influencée appartiennent à la même espèce, le phénomène est alors appelé autotoxicité.

L'armoise, *Artemisia vulgaris*, sécrète des composés réputés pour leur effet inhibiteur sur la germination de diverses graines et la croissance des jeunes pousses mais elle possède également des propriétés autotoxiques. Cette autotoxicité s'avère utile à l'espèce qui subit par conséquent moins de compétition. De plus, elle permet aux plantes de mieux réguler leur croissance et de se disperser dans le temps et dans l'espace de manière plus homogène.

3.6 Résumé des informations sur l'allélopathie

Le tableau ci-dessous reprend les différentes molécules, huiles essentielles et extraits de plantes qui possèdent une action herbicide en agissant sur la germination, la croissance de la plante et la viabilité de la plante.

Produit herbicide		Mauvaise herbe testée	Type d'action
Molécule / préparation	Espèce végétale		
Terpènes oxygénés	<i>Laurus novocanariensis</i> notamment	<i>Lactuca sativa</i>	Antigerminatif Inhibe la croissance
Carvacrol	Diverses plantes	<i>Croton capitatus</i>	Antigerminatif Inhibe la croissance
Linalol	<i>Lavandula angustifolia</i> notamment	<i>Croton capitatus</i>	Antigerminatif Inhibe la croissance
1,4-cinéole	Diverses plantes	<i>Echinochloa crus-galli</i> et <i>Cassia obtusifolia</i>	Induit malformation des jeunes pousses
1,8-cinéole			Antigerminatif et inhibe l'activité mitotique
Quercétine et quercitrine	<i>Fagopyrum</i> spp. dont <i>Fagopyrum tataricum</i>	<i>Lactuca sativa</i>	Antigerminatif
Quinolizidines dont lupanine	<i>Lupinus</i> sp.	<i>E. crus-galli</i> , <i>Amaranthus hybridus</i>	Antigerminatif pour l'amaranthe seulement
Huile essentielle (riche en monoterpènes)	<i>Artemisia vulgaris</i>	<i>Echinochloa crus-galli</i>	Fort antigerminatif
		<i>Amaranthus retroflexus</i> , <i>Chenopodium album</i> , <i>Trifolium repens</i> , <i>Xanthium</i> sp.	Antigerminatif et inhibe la croissance
Huile essentielle (riche en terpénoïdes et eugénol)	<i>Eugenia caryophyllus</i>	Produits homologués aux USA	Détruit les plantes levées
Huile essentielle (riche en géraniol et néral)	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Triticum aestivum</i> , <i>Amaranthus palmeri</i>	Antigerminatif
Huile essentielle (riche en carvacrol, α -cymène, terpinène)	<i>Origanum syriacum</i>	<i>Triticum aestivum</i> , <i>Amaranthus palmeri</i>	Antigerminatif
Huile essentielle (riche en eugénol) diluée, pulvérisation sur feuilles	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> et <i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Chenopodium album</i> , <i>Ambrosia artemisiifolia</i> et <i>Sorghum halepense</i>	Détruit plantes levées
Huile essentielle	<i>Origanum vulgare</i> (HE à 60 % de thymol)	<i>C. album</i>	Antigerminatif
Huile essentielle	<i>Origanum maru</i> (HE à 1,6 en thymol)	<i>C. album</i>	Antigerminatif
Huile essentielle	<i>Pinus</i> sp.	- produits homologués aux USA -	
Extrait aqueux et percolats foliaires (en laboratoire)	<i>L. angustifolia</i> <i>Origanum syriacum</i> <i>Capparis spinosa</i>	<i>Malva sylvestris</i> . <i>Portulaca oleracea</i> seulement avec <i>C. spinosa</i>	Antigerminatif Inhibent la croissance
Composés volatils en laboratoire	<i>L. angustifolia</i> <i>Origanum syriacum</i> <i>Capparis spinosa</i>	<i>Malva sylvestris</i> <i>Portulaca oleracea</i>	Antigerminatif Inhibent la croissance
Résidus sec mêlés au terreau	<i>L. angustifolia</i> <i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Salvia officinalis</i> et <i>Teucrium polium</i>	<i>Malva sylvestris</i> <i>Portulaca oleracea</i>	Inhibent la croissance
Extrait aqueux pulvérisé sur semis	<i>L. angustifolia</i> et <i>Capparis spinosa</i>	<i>Malva sylvestris</i> <i>Portulaca oleracea</i>	Antigerminatif Inhibent la croissance
Extrait en application foliaire	<i>L. angustifolia</i> , <i>Origanum syriacum</i> , <i>Capparis spinosa</i> non efficaces	<i>Malva sylvestris</i> <i>Portulaca oleracea</i>	Pas d'effet en contact foliaire sur plantes levées
Extrait éthanolique au soxhlet	<i>Thymus vulgaris</i> et <i>Mentha x piperita</i>	Laitue, amarante, pourpier	Antigerminatif
Extrait éthanolique			Antigerminatif moyen
Extrait aqueux			Faible antigerminatif

De plus, parmi les plantes aromatiques étudiées, rappelons les résultats suivants obtenus avec des huiles essentielles lors d'essais *in vitro* sur la germination du blé ainsi que la germination et la croissance du radis, de la laitue et du cresson :

- Les HE de *Melissa officinalis*, *Salvia officinalis* et *Rosmarinus officinalis* possèdent un très bon pouvoir antigerminatif sur le blé. La mélisse est également très efficace contre le radis, la laitue et le cresson ainsi que la sauge mais de manière moins radicale.
- *Carum carvi*, *Lavandula angustifolia*, *Hyssopus officinalis* et *Coriandrum sativum* possèdent une action intéressante sur le blé. L'HE d'*H. officinalis* est également efficace sur les trois autres espèces à l'essai.
- Les *Origanum* spp. présentent une action moyenne contre la germination du blé alors qu'*O. vulgare* a été très efficace contre la laitue, le radis et le cresson. La marjolaine a montré des résultats plus variables mais l'effet de la vapeur de cette HE sur laitue et cresson est radical.
- *Thymus vulgaris*, *Laurus nobilis* et *Pelargonium graveolens* possèdent un faible pouvoir antigerminatif sur le blé. Pourtant, l'HE de *T. vulgaris* est efficace contre la laitue, le radis et le cresson par contact ou par vaporisation.
- Puis, *Artemisia absinthium* et *Artemisia dracunculus* se sont avérées inintéressantes lors de l'étude portant sur le blé.
- Enfin, l'HE d'*Ocimum basilicum* est bien moins efficace par contact que par vaporisation (testée sur radis, laitue, cresson) et il en est de même pour l'HE de *L. angustifolia*.

En remarque, des tests avec certaines huiles essentielles de basilic n'ont pas été convaincants. Il est possible que ces huiles n'étaient pas assez riches en eugénol et linalol, les deux composés supposés comme étant les plus actifs. Enfin, l'huile essentielle d'origan, riche en thymol, et l'HE de marjolaine égyptienne (*Origanum maru*) semblent avoir un bon potentiel herbicide.

Pour finir, nous pouvons noter que, mise à part l'utilisation d'huiles essentielles et d'extraits, peuvent être testés des amendements de matériel végétal. En effet, il a été expérimenté en Chine l'apport de 1 à 2 tonnes de composants végétaux par hectare de culture de riz. Grâce à de tels apports avec des plantes intéressantes, il est possible de maîtriser le développement des mauvaises herbes mais aussi favoriser celui de la culture en apportant des matières fertilisantes et parfois même limiter l'infestation de ravageurs et pathogènes. Pour les cultures de riz, le sarrasin (*Fagopyrum esculentum*), l'ageratum (*Ageratum conyzoides*) ou le neem (*Azadirachta indica*) font partie des plantes ayant du potentiel (Xuan *et al.*, 2005).

4 La défense face aux acariens

4.1 Les huiles essentielles contre *Tetranychus cinnabarinus* (Mansour et al., 1986)

L'effet de 14 huiles essentielles de lamiacées a été évalué en conditions de laboratoire. Après avoir extrait ces huiles essentielles par vapeur, des solutions de différentes concentrations en huile essentielle ont été pulvérisées sur des feuilles d'haricot. Ensuite, l'IC 50 a été évaluée sur une population d'araignées carmines (*T. cinnabarinus*). Cette IC 50 correspond à la concentration en HE de la solution pulvérisée. Les huiles essentielles ont ainsi pu être classées en différents groupes selon leur IC 50, le groupe n° 1 représentant l'huile la plus efficace (voir tableau 31).

Tableau 31 : Efficacité de différentes huiles essentielles sur *Tetranychus cinnabarinus*

Nom latin	Principaux composants détectés par GC	Efficacité – entre parenthèses, IC 50 correspondantes
<i>Lavandula angustifolia</i> x <i>L. latifolia</i>	Linalol, acétate de linalyl	1 (0,09 %)
<i>Lavandula angustifolia</i>	Linalol, acétate de linalyl	2 (0,10 %)
<i>Melissa officinalis</i>	Géranial et néral	3 (0,12 %, protection pendant 7 jours)
<i>Mentha x piperita</i>	Menthol	4 (1,30 %)
<i>Salvia fruticosa</i>	1,8-cinéole	5 (1,40 %)
<i>Ocimum basilicum</i>	Linalol	6 (1,40 %)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1,8-cinéole	7 (2,20 %)
<i>Hyssopus officinalis</i>	Pinocamphone	>7
<i>Mentha spicata</i>	Carvone	>7
<i>Micromeria fruticosa</i>	Pulegone	>7
<i>Origanum majorana</i>	Linalol, terpinène-4-ol	>7
<i>Origanum vulgare</i>	Carvacrol, thymol, p-cymène	>7
<i>Salvia dominica</i>	Acétate de linalyl, linalol	>7
<i>Salvia officinalis</i>	□- et □-thuyone, camphre	>7
<i>Salvia sclarea</i>	Acétate de linalyl, linalol	>7

Certaines plantes de la famille des lamiacées possèdent des propriétés acaricides, propriétés qui devraient être testées sur le terrain. Les auteurs de cette expérimentation n'ont pas pu établir de lien entre l'effet des huiles essentielles et leurs composés principaux, ils ont donc émis l'hypothèse que les propriétés des huiles essentielles peuvent être dues à la présence d'autres composés.

4.2 Se protéger contre *Tetranychus urticae* sans nuire à l'auxiliaire *Phytoseiulus persimilis* (Tsolakis et Ragusa, 2008)

En Grèce, le produit Acaridoil 13 SL® à base d'huile essentielle de carvi (*Carum carvi*) et de sels de potassium d'acides gras est disponible contre *Tetranychus urticae*, l'acarien tétranyque.

La composition chimique de ce produit est la suivante :

- sels de potassium d'acide gras 13,4% p/p,
- huile essentielle de *Carum carvi* 3% p/p,
- mono et diglycérides et acide oléique 5% p/p,
- huiles végétales dont huile de soja 70% p/p,
- eau.

Les sels de potassium d'acides gras fonctionnent par contact : ils pénètrent dans les arthropodes et provoquent l'éclatement des cellules.

L'huile essentielle de carvi est riche en carvone et en limonène, elle aurait un impact sur le fonctionnement du système nerveux.

Il s'agissait de savoir pour Tsolakis et Ragusa (2008) si l'application de ce produit était également toxique contre les acariens auxiliaires *Phytoseiulus persimilis*.

Le produit a d'abord été testé sur les ravageurs adultes. Un traitement de plantes aux doses recommandées par le fournisseur (1,3 mg/cm²) a provoqué, 6 jours après, la mort de 83,4 % des femelles de *T. urticae*. Le traitement a également réduit significativement le nombre d'œufs pondus par femelle.

Concernant la toxicité du produit sur *P. persimilis*, 24 % des femelles sont mortes après traitement, mais le taux de pontes n'a pas été affecté.

Cette sélectivité peut s'expliquer par le fait que les sels de potassium d'acides gras pénètrent plus facilement à travers *T. urticae* qu'à travers *P. persimilis*. Pourtant, l'équipe de Tsolakis a constaté que d'autres chercheurs avaient observé le contraire. Ces divergences proviennent peut-être des protocoles établis qui étaient différents. Tsolakis *et al.* ont appliqué le traitement sur une surface (papier dans l'essai) sur laquelle les acariens sont ensuite installés. L'autre équipe a testé l'efficacité du produit en l'appliquant directement sur les acariens.

Concernant la toxicité sur les œufs, le produit s'est, une fois de plus, montré plus toxique sur *T. urticae* que sur *P. persimilis*, avec près de 54 % de pertes contre 9 %. Peut-être que ce phénomène est dû au fait que les œufs de l'auxiliaire n'éclosent qu'en 24 heures alors que les œufs de l'acarien phytophage nécessitent 3 jours.

Ainsi, ce produit commercial peut être *a priori* considéré comme étant un insecticide sélectif capable de contrôler *T. urticae* sans affecter *P. persimilis*. Cependant, des essais menés sous serre ou au champ, et non en laboratoire, apporteraient des réponses plus adaptées.

5 Les composés nématocides

Beaucoup de composés de natures diverses ont dévoilé des propriétés nématocides. Kong *et al.* (2007) ont établi que pour la lutte contre le nématode du pin (*Bursaphelenchus xylophilus*), des monoterpénoïdes, quelques acétylènes, des quinolizidines (alcaloïdes), des liganes et des composés phénoliques et phénylpropanoïques possédaient une activité plus ou moins forte.

Ensuite, les exsudats racinaires des tagètes (*T. patula*, *T. erecta* et *T. tenuifolia*) contiennent une forte concentration de thiophènes bithiényl et α -terthiényl, toxiques pour de nombreux nématodes phytoparasites. Les doses létales de ces exsudats sont de 0,2, 0,5 et 5 ppm contre *Globodera ros-tochiensis*, *Anguina tritici* et *Ditylenchus dipsaci* respectivement (Dijan-Caporalino *et al.*, 2008).

Puis, l'arbre neem et la molécule azadirachtine qu'il renferme peuvent être amendés à un sol afin de limiter les agressions de la part de différents nématodes (voir partie 7.1.2).

Enfin, *Ocimum basilicum* et *Pelargonium graveolens* contiennent les terpénoïdes suivants : citral, citronellol, linalol, géraniol et dérivés qui sont efficaces contre *Meloidogyne* spp., *Heterodera* spp., *Anguina tritici*, *Tylenchulus semipenetrans* et *Rotylenchulus reniformis* (Dijan-Caporalino *et al.*, 2008).

Dans la 2^e édition coordonnée par Regnault-Roger *et al.* (2008) portant sur les biopesticides d'origine végétale, un chapitre entier est consacré aux plantes nématocides et les rédacteurs de ce chapitre, Dijan-Caporalino, Bourdy et Cayrol, ont établi une liste exhaustive de tous les végétaux permettant de combattre les nématodes.

5.1 Lutte contre *Bursaphelenchus xylophilus*

Le nématode du bois de pin, *Bursaphelenchus xylophilus*, représente un fléau dans les pays asiatiques (Corée, Chine) en provoquant des pertes économiques considérables chaque année (Hong *et al.*, 2007). En parallèle, les produits nématocides de synthèse sont dangereux et s'avèrent de moins en moins efficaces. Les chercheurs de ces pays ont donc lancé des études sur l'effet nématocide d'extraits de plantes et d'huiles essentielles.

5.1.1 Criblage de 30 extraits éthanoliques d'arbres (Hong et al., 2007)

Une équipe de chercheurs chinois a évalué le potentiel nématocide de 30 végétaux face à *B. xylophilus* mais aussi face à *Panagrellus redivivus*, qui est un nématode saprophyte. Au total, 48 solutions correspondant à divers extraits éthanoliques de feuilles et de branches séchées ont été préparées. Ces diverses plantes appartiennent à 24 familles différentes.

Les extraits de feuilles des magnoliacées *Magnolia grandiflora* et *Michelia hedyosperma* ainsi que l'extrait de branches de *Nerium indicum* ont présenté une forte activité nématocide contre les deux nématodes. Cette activité a été évaluée suite à une mise en contact d'une centaine de nématodes avec 2 ml d'une solution contenant 5 mg d'extrait/ml d'eau stérile.

Ainsi, après 48 heures, chacun des trois extraits avait provoqué la mort de 100 % des nématodes saprophytes. Concernant *B. xylophilus*, l'extrait de *M. grandiflora* en a supprimé 73 % et l'extrait de feuilles de *M. hedyosperma*, 66%. Enfin, *N. indicum* a provoqué la mort de 45 % de la population.

Par ailleurs, seulement 4 autres extraits ont montré un effet nématocide et uniquement sur l'espèce *Panagrellus redivivus*.

Etant donné que l'extrait de feuilles de *Magnolia grandiflora* a été le plus efficace parmi tous les extraits testés, une étude sur la composition chimique de ces feuilles a été réalisée. La fraction d'éthyl-acétate s'est avérée la plus active. Au sein de cette fraction, un sesquiterpène a été isolé et défini. Il s'agit du 4,5-époxy-1(10)E,11(13)-germacradien-12,6-olide. Les valeurs IC 50 de ce composé sont de 46 et de 71 mg/l contre *P. redivivus* et *B. xylophilus* respectivement.

A titre de comparaison, l'ivermectine, molécule de synthèse autorisée en Chine en tant que pesticide⁵ possède une IC 50 de 0,2 mg/l contre *B. xylophilus* et reste inoffensive pour *O. redivivus* (tests réalisés jusqu'à la dose de 200 mg/l). En remarque, l'abamectine, de la famille des avermectines est contenue dans certains produits autorisés en France pour la lutte contre les acariens et les thrips (site Internet e-phy).

Les rédacteurs de cet article restent enthousiastes face à la découverte de ce sesquiterpène aux propriétés nématocides mais n'évoquent pas le fait que ce composé est apparemment non sélectif. Ils ne parlent pas non plus des répercussions de l'éventuelle disparition du nématode saprophyte *O. redivivus*.

5.1.2 Criblage de 88 huiles essentielles (Kong et al., 2006)

Une étude menée en laboratoire a évalué le potentiel de 88 huiles essentielles de plantes, préparées ou directement achetées en magasin.

Parmi ces 88 plantes, les plantes aromatiques et médicinales suivantes étaient retrouvées : absinthe, achillée millefeuille, aneth, angélique, anis vert, basilic, carvi, camomille, citronnelle, coriandre, hysope, lavandin, lavande, mélisse, organ, persil, menthes, menthe poivrée, romarin, sarriette annuelle, sauge sclarée, sauge officinale, thym et valériane.

Les effets toxiques de ces huiles essentielles ont été estimés par immersion d'adultes de *Bursaphelenchus xylophilus* dans une solution titrant à 10 mg d'HE/ml. Les analyses des nématodes ont eu lieu 24 heures après la mise en contact.

62 huiles essentielles ont montré une activité faible voire nulle. Les mortalités causées par les 26 autres HE, sont résumées dans le tableau suivant.

⁵ Informations sur le site Internet www.agrofar.com, page <http://www.agrofar.com/sdp/75827/4/pd-1064104/151182-533487.html>

Tableau 32 : Toxicité d’huiles essentielles sur les adultes du nématode *B. xylophilus* (d’après Kong et al., 2006)

Nom latin	Nom commun	Mortalité après 24 h	LC 50 (mg/ml)
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Cannelle	100 %	0,12
<i>Coriandrum sativum</i>	Coriandre (feuilles)	100 %	0,14
<i>Cymbopogon citratus</i>	Citronnelle de Madagascar	100 %	0,57
<i>Thymus capitatus</i>	Origan d'Espagne	100 %	0,82
<i>Thymus vulgaris</i>	Thym	100 %	0,82
<i>Eugenia caryophyllus</i>	Girofle	100 %	0,88
<i>Satureja hortensis</i>	Sarriette annuelle	100 %	1,15
<i>Origanum vulgare</i>	Origan	100 %	1,42
<i>Pimenta officinalis</i>	Quatre-épices	100 %	1,8
<i>Cymbopogon nardus</i>	Citronnelle de Ceylan	100 %	2,11
<i>Pimenta racemosa</i>	Bay - Bois d'Inde	100 %	2,27
<i>Coriandrum sativum</i>	Graines de coriandre	100 %	2,76
<i>Acorus calamus</i>	Acore	92 %	2,85
<i>Aniba rosaedora</i>	Bois de rose	94 %	2,99
<i>Litsea cubeba</i>	Verveine exotique	100 %	3,65
<i>Melissa officinalis</i>	Mélisse	91 %	4,11
<i>Rosa damascena</i>	Rose	90 %	4,47
<i>Citrus limonum</i> & <i>Citrus aurantium</i>	Citron, Néroli	Entre 80 et 89 %	
<i>Pelargonium graveolens</i> , <i>Eucalyptus citriodora</i> , <i>Mentha x piperita</i>	Géranium, eucalyptus citronné, menthe poivrée	Entre 70 et 79 %	
<i>Citrus aurantifolia</i> , <i>Mentha spicata</i> , <i>Bulnesia sarmienti</i> & <i>Anethum graveolens</i>	Citron vert, menthe verte, bois de Guaiac, aneth	<70 %	

Ainsi, les HE de cannelle, coriandre, citronnelle de Madagascar, origan d’Espagne, thym vulgaire et clou de girofle ont soulevé un fort intérêt pour les chercheurs. Par contre, sur le terrain il s’agirait d’injecter les HE directement dans les arbres, comme c’est le cas pour les produits nématicides de synthèse actuellement. La prochaine étape serait d’effectuer les essais sur le terrain afin de juger de l’éventuelle phytotoxicité des huiles essentielles et de leurs capacités à se diffuser de manière systémique dans les arbres.

5.1.3 Essais avec l’huile essentielle de thym (Kong et al., 2007)

Concernant l’utilisation de terpénoïdes en tant que nématicides, des études ont révélé que l’huile essentielle de thym contenait à la fois des composés terpénoïdes nématicides et des composés stimulant leur propagation.

Ces conclusions ont été tirées à la suite d’un essai mené contre *Bursaphelenchus xylophilus*. Il s’agissait de tester différents composants purs extraits de l’huile essentielle de *Thymus vulgaris*, dont le thymol et le linalol.

Dans un premier temps, un essai de contact direct avec une suspension de nématodes (3000 nématodes/ml) a été réalisé. Les résultats sont résumés dans le tableau 33.

Tableau 33 : Effet nématicide de l’huile de thym et de ses composants (Kong et al., 2007)

Composant testé	CL 50 estimée	Efficacité
Huile rouge de thym	1,39 mg/ml	Bonne activité nématicide
Huile blanche de thym	1,64 mg/ml	Bonne activité nématicide
Géraniol	0,47 mg/ml	Composé pur le plus efficace
Thymol	1,08 mg/ml	Composé efficace
Carvacrol	1,23 mg/ml	Composé efficace
□-terpinéol et terpinène-4-ol		Modérément efficaces
Linalol		Faible activité nématicide

Dans un second temps, l'effet sur la propagation des nématodes a été évalué dans des boules de coton. Alors que les nématicides chimiques ont entièrement bloqué la propagation des nématodes, les composants de l'huile essentielle de thym ont induit des réponses variables :

- D'abord le α -cymène a entraîné une inhibition significative.
- Ensuite, l'aromadendrane, le bornéol, le camphène, le camphre, le α -caryophyllène, la menthone et le β -pinène n'ont induit qu'une inhibition modérée.
- Enfin, les composés suivants : limonène, oxyde de linalol et de caryophyllène, ledène, β -pinène, β -terpinène, β -myrcène, β -phellandrène ont provoqué une stimulation des nématodes de manière plus ou moins marquée.

En conclusion, cette étude a démontré que l'huile essentielle de thym avait la spécificité de contenir des terpénoïdes nématicides et d'autres stimulateurs. Une utilisation de produit à base d'huile essentielle de thym pourrait par conséquent être envisageable à condition qu'elle soit pauvre en composés favorisant la propagation des nématodes.

5.2 Extraits aqueux contre *Meloidogyne incognita* (Saxena & Sharma, 2004)

L'ail (*Allium sativum*), la crucifère *Brassica campestris*, le piment de cayenne (*Capsicum frutescens*) et le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) ont été jugés sur leurs propriétés nématicides sur le stade juvénile de *Meloidogyne incognita*.

Des feuilles et des racines fraîches ont été mouluées dans de l'eau distillée à la concentration « S » correspondant à 1 kg de végétal pour 1 litre d'eau. Cette solution stock a ensuite été diluée à S/2, S/4, S/10, S/20 et S/100. Puis, 1 ml d'une suspension de nématodes a été mis au contact d'1 ml de chacune des solutions préparées.

Les résultats ont montré que les extraits aqueux de racines étaient moins puissants que les extraits de feuilles. De plus, l'effet toxique augmentait avec la concentration de la solution apportée mais aussi avec le temps. Par exemple, le tableau ci-dessous reprend les taux de mortalité des nématodes à trois doses différentes et après 72 h de traitement.

Tableau 34 : Taux de mortalité de *Meloidogyne incognita* 72 heures après différents traitements à base d'extraits aqueux (Saxena & Sharma, 2004)

Espèces étudiées	Parties étudiées	Concentration S	Concentration S/2	Concentration S/20
<i>Allium sativum</i>	Feuilles	100 %	100 %	66 %
	Racines	70 %	58 %	20 %
<i>Brassica campestris</i>	Feuilles	100 %	100 %	75 %
	Racines	100 %	93 %	48 %
<i>Capsicum frutescens</i>	Feuilles	100 %	96 %	52 %
	Racines	98 %	86 %	13 %
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	Feuilles	94 %	81 %	18 %
	Racines	88 %	62 %	12 %

A. Sativum et *B. campestris* présentent un meilleur pouvoir nématicide que les deux autres plantes. L'allicine doit être le composant conférant à l'ail ses propriétés nématicides. Concernant le fenugrec, les auteurs ont recensé une autre étude ayant abouti à des conclusions similaires.

6 La lutte contre les virus et les bactéries

6.1 La lutte contre les virus par les triterpènes et glycosides triterpénoïdes

Un moyen de lutte contre les virus est traduit par l'application de triterpènes et de glycosides triterpénoïdes qui sont par exemple efficaces contre le virus de la mosaïque du tabac (TMV). Comme cette catégorie regroupe de nombreuses molécules, il s'agit pour les chercheurs d'établir des relations entre la structure de ces molécules végétales et l'efficacité de la protection fournie. Zhang *et al.* (2007) ont testé pas moins de 47 molécules pour leur efficacité contre la réplication du TMV *in vivo* par la méthode ELISA indirecte.

Parmi les triterpènes et glycosides triterpénoïdes, diverses structures ont été distinguées :

- Certains étaient composés d'un aglycone relié ou non à des molécules de glucoses (les aglycones reliés au glucose sont des saponines).
- D'autres étaient dérivés de l'ursane.
- Enfin, des triterpènes étaient dérivés de l'oléanane et comprenaient un nombre variable de molécules de glucose.

Il est apparu que l'activité des triterpènes et des glycosides triterpénoïdes n'était pas seulement déterminée par la structure du noyau mais par tous les constituants :

- Le nombre de molécules de glucose influence l'activité : plus le nombre de glucoses est élevé et moins l'activité est importante.
- Pour les triterpènes du type ursane, un lactone en position C20 et C28, un arabinosyl en C3 et un glucosyl en C28 permettent d'augmenter l'activité anti-TMV.
- Les structures du type oléanane ont une activité diminuée par la présence d'un -hydroxyl en C19, de xylosyl en C3 et glucosyl en C28.

Ainsi, il a été déterminé que 6 des 48 molécules testées, apportées à une concentration de 0,2 mg/ml, ont permis lors du test ELISA indirect d'inhiber la réplication du virus à 70 % et que cette activité augmentait avec la concentration appliquée.

6.2 Les produits naturels aux propriétés bactéricides

6.2.1 Conservation de la pomme de terre et protection contre *Erwinia carotovora* (Vokou *et al.*, 1993)

Les pommes de terre stockées peuvent développer des maladies et pourrir car elles portent un certain nombre de bactéries à leur surface. Il s'agit donc de déterminer le taux de protection fourni par une application d'huile essentielle pure ou diluée. Les tests ont été réalisés *in vitro* avec 7 HE issues de lamiacées contre *Erwinia carotovora* et 6 autres espèces bactériennes isolées après prélèvements à la surface des tubercules.

Les huiles essentielles ont été obtenues directement au laboratoire par distillation à l'eau pendant 2 heures, puis elles ont été analysées par GC/MS.

Ensuite, des bactéries ont été mises en culture dans des boîtes de Petri contenant de la gélose. Au milieu de chaque boîte était placé du papier imbibé de 0,003 ml d'HE non diluée. Pour le cas d'*E. carotovora*, de plus amples mesures ont été effectuées avec des HE diluées à 50% dans de l'éthanol. Après incubation pendant 24 heures à 37°C, le rayon d'inhibition des bactéries autour du papier a été mesuré.

Les résultats concernant l'évaluation des huiles essentielles diluées sont rapportés dans le tableau ci-après.

Tableau 35 : Huiles essentielles, composition et pouvoir d'inhibition contre *Erwinia carotovora in vitro*, à la dilution 1:1 dans l'éthanol (Vokou et al., 1993)

Plante	Composition de l'huile essentielle	Zone inhibée (mm) d' <i>E. carotovora</i>
<i>Lavandula angustifolia</i>	Linalool, acétate de linalyl, terpinène-4-ol	2,0
<i>Mentha pulegium</i>	Pulégone, menthone	2,5
<i>Mentha spicata</i>	Carvone, dihydrocarvone	3,0
<i>Origanum microphyllum</i>	?	0,0
<i>Origanum vulgare ssp. hirtum</i>	Thymol, carvacrol	9,0
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1,8-cinéole, camphre, bornéol, \square -terpinéol	1,0
<i>Salvia fruticosa</i>	1,8-cinéole, camphre, \square -terpinéol	0,5

O. vulgare s'est donc montré très efficace contre *E. carotovora* mais aussi contre les 6 autres espèces étudiées. Une autre étude a validé le pouvoir de cette huile essentielle d'origan contre *Erwinia herbicola* et *Pseudomonas syringae* grâce à la présence de thymol et de carvacrol dans l'HE (Vasilakoglou et al., 2007).

Les autres HE fournissent des résultats moins spectaculaires mais qui sont tout de même très satisfaisants selon les auteurs de l'étude. Reste l'*O. microphyllum* qui s'est montré complètement inefficace. L'hypothèse est émise que c'est le carvacrol qui apporte à *O. vulgare* ses propriétés bactéricides.

Le niveau d'efficacité de chaque HE reste à peu près le même envers chacune des sept bactéries mises à l'essai.

En parallèle à ces recherches, des tests ont été effectués sur les propriétés anti-germinatives de ces HE. Il a été révélé que les deux *Origanum* ont été inefficaces à la différence des 5 autres plantes étudiées.

Ces résultats induisent que, pour qu'un traitement de pommes de terre stockées soit le plus efficace, il devra faire appel à plusieurs huiles essentielles et non une seule. D'autre part, des tests préliminaires sur l'impact de tels traitements sur les qualités organoleptiques de la patate n'ont pas détecté d'altération dans le goût et l'odeur des tubercules consommés.

6.2.2 Pouvoirs de l'acide rosmarinique (Bais et al., 2002)

Des essais ont été menés sur des bactéries afin de mesurer l'efficacité de l'acide rosmarinique contre leur développement.

Des doses de 18 à 90 μg d'acide rosmarinique/ml ont été ajoutées à des milieux contenant les bactéries suivante : *Xanthomonas campestris*, *Erwinia carotovora*, *Agrobacterium rhizogenes*, *Pseudomonas fluorescens* mais aussi *P. aeruginosa* pathogène vis-à-vis de l'homme.

Contre *Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas fluorescens* et *Erwinia carotovora*, il a été constaté que plus la dose était forte, plus l'effet inhibiteur était marqué.

A. rhizogenes, lui, n'a pas été affecté par l'acide rosmarinique.

Enfin, *Pseudomonas aeruginosa* est la bactérie la plus sensible à l'acide rosmarinique. Il a été mis en évidence chez *P. aeruginosa* une condensation de l'ADN, signe que cette bactérie s'est rapidement divisée afin de survivre au traitement en acide rosmarinique, en vain. Par contre, aucun dommage au niveau des parois cellulaires et du cytosquelette n'a été observé. Dans ce cas et à la différence des champignons (voir chapitre 2 - § 2.1.2), l'acide rosmarinique agit au niveau génétique (Bais et al., 2002).

7 Revue de classes de molécules aux diverses propriétés pesticides

7.1 Le neem

7.1.1 Eléments de botanique

Le neem est un arbre originaire de la partie sud de l'Asie et est maintenant présent en Australie, en Afrique, en Amérique du Sud et Centrale ainsi que sur différentes îles (Parmar, 1995).

Cet arbre appartient à la famille des méliacées et au genre *Azadirachta*, constitué de 3 espèces (Puri, 1999) :

- *Azadirachta indica* A. Juss (syn. *Melia azadirachta*, *Melia indica*), le neem lui-même.
- *A. excelsa* (Jack) Jacobs (syn. *A. integrifolia*).
- *A. siamensis* Val., reconnue comme espèce à part entière en 1995.

7.1.2 Le potentiel pesticide du neem (Puri, 1999 et Guet, 2002)

L'intérêt pour le neem est apparu il y a plusieurs dizaines d'années. Au début des années 80, ont paru de nombreuses publications aux résultats prometteurs sur les propriétés insecticides et répulsives des graines (utilisation de l'huile, du tourteau et de la poudre sèche) ainsi que des extraits de feuilles et d'écorce. D'autres études ont montré l'intérêt des extraits de feuilles et d'écorce pour éliminer les virus. Dans les années 1990, des publications parlent de toxicité du neem envers des insectes mais aussi contre des nématodes et champignons. Les deux pistes de travail les plus abouties portent sur la maîtrise des insectes et des nématodes.

Les graines de neem sont particulièrement intéressantes. En effet, le pouvoir du neem provient de la richesse de l'extrait de graines en limonoïdes (triterpènes) principalement l'azadirachtine, la salanine et la nimbine et leurs analogues. Ces composés sont en fait retrouvés dans toutes les parties de l'arbre mais ce sont les graines qui en sont les plus riches. *A. Indica* produit également de nombreux sulfures et particulièrement le disulfure de dipropyle (molécule également produite par les alliées – voir partie 7.3).

■ Les propriétés insecticides du neem et de l'azadirachtine

Puri (1999) a listé les modes d'action de l'azadirachtine sur les insectes :

- Action anti-appétente et toxique par ingestion.
- Action par contact : la molécule pénètre à travers la cuticule et inhibe la synthèse de chitine.
- Action répulsive en perturbant la communication entre les insectes.
- Action inhibitrice de la croissance en empêchant le phénomène de mue par la suppression de l'activité de l'ecdysone chez l'insecte.
- Perturbe la ponte.
- Perturbe le fonctionnement du système nerveux des insectes.

En remarque, le neem n'a pas un effet universel mais variable d'insecte en insecte. Les lépidoptères y sont particulièrement sensibles (Puri, 1999).

Les autres critères faisant du neem une plante intéressante sont les suivants :

- L'azadirachtine possède un large spectre d'activité mais reste sélective en favorisant les ennemis naturels et les pollinisateurs.
- De plus, sa toxicité sur les mammifères la classe dans les substances atoxiques. Par exemple, la CL50 du produit commercial Margosan-O® (voir après) est de 5 g/kg sur le rat.

- Enfin, le neem présente peu de persistance dans l'environnement car il est photolabile. (Philogène *et al.*, 2008).

L'azadirachtine est distribuée aux Etats-Unis sous différentes formulations. En 1997, étaient disponibles l'Azatin®XL, l'Align® et le Turplex® contenant 3 % d'azadirachtine ainsi que BioNeem® ou Neemex® à seulement 1 % en matière active (Lajeunesse, 1997).

Actuellement sur Internet, nous retrouvons de l'information commerciale sur Azatin®XL Plus et sur Neemix® 4,5% homologués par Certis USA. Sur les étiquettes commerciales, il est indiqué que leur application convient sur de très nombreuses cultures dont les cultures biologiques. Les insectes contrôlés sont à la fois des lépidoptères, des coléoptères et des hémiptères. Une application commune avec un pyréthrianoïde est recommandée (voir site internet www.certisusa.com).

En Europe, le neem est homologué en Allemagne, en Suisse, en Italie et en Espagne (Guet, 2002).

Malgré les nombreux travaux qui lui ont été accordés, l'utilisation massive du neem en tant que pesticide est freinée par certains problèmes (Philogène *et al.*, 2008 ; Isman, 2008) :

- Cet arbre n'est traditionnellement pas planté pour de la culture intensive.
- Difficultés pour organiser une filière de production en Inde.
- Lots aux caractéristiques qualitatives variables.
- Complexité de l'extraction des principes actifs.
- Besoin d'une mise au point de formulations allongeant sa durée d'action.
- Stockage du produit.

■ Le neem dans le cadre de la lutte contre les nématodes

Le neem est une des plantes les plus étudiées par les nématologistes. Il a été montré à plusieurs reprises que des apports de feuilles et de tourteaux permettent de réduire de près de 50 % les attaques de *Meloidogyne* sp. mais aussi de *Pratylenchus* sp., *Anguina tritici* et *Rotylenchus reniformis*. Pour obtenir ce résultat, 50 à 100 g de feuilles doivent être ajoutés pour chaque kg de terre. Concernant le tourteau, il semble nécessaire d'appliquer 1 tonne de tourteau/ha, 4 fois par an (Dijan-Caporalino *et al.*, 2008).

Guet (2002) a constaté qu'un apport de 2 tonnes de tourteau/ha, 75 jours avant la mise en culture était généralement recommandé en Inde. Or, des essais menés au GRAB⁶ d'Avignon n'ont donné de bons résultats qu'à la dose de 5 tonnes/ha. Peut être que cela était dû à une moindre qualité du tourteau.

Enfin, Perveen *et al.* (2007) ont constaté qu'un apport de 100 kg de poudre de graines séchées pour 1 hectare permettait à des plantes au contact de *M. incognita* de ne pas développer de galles et de croître comme des plantes non soumises à la pression du nématode (essai effectué sur des cultures de *Mentha arvensis*).

7.2 Le pyrèthre

7.2.1 Présentation (Philogène *et al.*, 2008 ; Regnault-Roger, 2005)

Le pyrèthre est un insecticide naturel utilisé pour lutter contre de nombreux insectes nuisibles. Il est produit par les fleurs de certains chrysanthèmes, en particulier le pyrèthre de Dalmatie (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) appartenant à la famille des astéracées. Le pyrèthre de Dalmatie est une espèce originaire du sud-est de l'Europe (Croatie, Monténégro, Albanie) qui a été largement répandue pour sa culture, notamment en Europe (France, Italie, Espagne), au Japon, en Afrique du Nord, au Kenya, au Rwanda et en Australie. Actuellement, il provient principalement des régions du Kenya, de la Tanzanie et de l'Equateur.

Ce sont les capitules de fleurs de chrysanthème qui contiennent naturellement le pyrèthre. Le pyrèthre est en fait un mélange d'esters : pyrèthrines I et II, cinérines I et II, et jasmolines I et II. La pyrèthrine I est le composé le plus abondamment produit.

⁶ Groupe de Recherche en Agriculture Biologique

7.2.2 Mode d'action (Philogène *et al.*, 2008 ; Regnault-Roger, 2005)

Les 4 esters les plus abondants ont des toxicités très différentes :

- pyrèthrine I possède 100 % de toxicité relative,
- pyrèthrine II : 23 %,
- cinérine I : 71 %,
- cinérine II : 18 %.

Ces molécules confèrent au pyrèthre un effet toxique rapide dit « knock down » sur les insectes. Elles agissent en perturbant l'influx nerveux par la fermeture des canaux sodium. En conséquence, les insectes mis au contact d'une solution à base de pyrèthre présentent une hyperactivité puis meurent. Le pyrèthre est efficace contre un grand nombre d'insectes adultes mais l'est beaucoup moins sur les larves.

Cette toxicité rapide et importante de la part du pyrèthre sur les insectes lui a valu son succès. De plus, il est faiblement toxique pour les mammifères. Cependant, il est toxique vis-à-vis des organismes aquatiques. Enfin, il n'est pas dangereux pour les abeilles ni pour les larves de coccinelles mais il peut quand-même affecter un grand nombre d'insectes bénéfiques.

Puis, le pyrèthre a une faible durée de vie (de 12 à 48 heures) car il est facilement biodégradable et se décompose rapidement par exposition à la lumière et par la pluie. Ces propriétés réduisent considérablement les risques liés à son utilisation mais ont conduit à rechercher des dérivés de synthèse plus stables nommés les pyrèthrinoïdes. Ces dernières molécules constituent aujourd'hui un pilier de la lutte phytosanitaire.

Enfin, l'effet du pyrèthre est accentué par l'addition de molécules synergistes. Ainsi, les spécialités commerciales homologuées en France contenant du pyrèthre sont en fait des mélanges de différentes matières actives.

7.2.3 Moyen d'obtention (AFPP, 2008)

Les fleurs sont d'abord séchées à l'air libre puis subissent une extraction à l'hexane. Après filtration des parties de plantes non dissoutes, et retrait du solvant, une oléorésine est obtenue. Celle-ci subit ensuite un raffinage qui a souvent lieu avec du CO₂ liquide afin de séparer les pyrèthrines des cires et des résines. Le produit raffiné contient de 25 à 50 % p/p de pyrèthrines.

7.3 Utilisation des composés soufrés des *Allium* sp. et des brassicacées en tant qu'insecticides

Les espèces des familles des alliacées et des brassicacées possèdent des propriétés insecticides et fongicides bien connues de par le fait qu'elles émettent des composés volatils soufrés.

7.3.1 Les composés issus des alliacées (Auger *et al.*, 2002)

Concernant les *Allium*, les composés actifs proviennent de dérivés de la cystéine, acide aminé soufré très retrouvé au sein de ce genre végétal. Ces dérivés, nommés sulfoxydes d'alkenyl-L-cystéine, sont mis au contact d'enzymes lors de la destruction des cellules et ce phénomène mène à la synthèse de toute une série de composés soufrés volatils dont les thiosulfates.

Les thiosulfates contiennent un ou des groupes méthyle, propyle ou aluminium. Ils sont assez instables et donnent d'autres molécules soufrées dont les disulfures et trisulfures. Ce sont ces 3 molécules qui ont été étudiées tout particulièrement sur leur activité toxique. Vis-à-vis des insectes, ces molécules présentent des propriétés répulsives anti-appétentes et toxiques.

■ Effets pesticides

Auger *et al.* (2002) ont testé les thiosulfates dans le cadre de la protection des denrées stockées contre coléoptères et lépidoptères. Lors des évaluations des LC 50 sur deux lépidoptères (*Ephesia kuehniella* et *Plodia interpunctella*) ainsi que trois coléoptères (*Calobruchus maculatus*, *Sitophilus granarius* et *Sitophilus orizae*), il a été constaté que les lépidoptères étaient plus sensibles que les coléoptères. De plus, quelque soit l'espèce étudiée, les thiosulfates sont apparus plus toxiques que les disulfures et même que le bromure de méthyle (fumigant de référence dans l'étude).

Ensuite, les stades adultes sont plus sensibles que les stades larvaires. Cependant, un parasitoïde de bruche s'est avéré plus sensible que les phytophages, conséquence néfaste en lutte intégrée.

Auger et son équipe font également l'état des lieux de la recherche sur les composés soufrés tirés d'alliacées. Ainsi, il est apparu que :

- Des extraits d'ail et d'oignon perturbent l'établissement du puceron *Myzus persicae* sur une plante hôte et empêchent son alimentation.
- L'extrait d'ail s'est également révélé toxique contre les pucerons *Sitobion avenae* et *Rhopalosiphum padi*, les larves de doryphore (*Leptinotarsa decemlineata*), la piéride du chou (*Pieris brassicae*) ou encore la teigne de la pomme de terre (*Phthorimaea operculella*).
- *Bemisia argentifolii*, mouche blanche des serres est également sensible à des extraits d'ail.
- Certains composés soufrés se sont montrés très actifs face au nématode *Meloidogyne incognita*.
- Enfin, très peu d'études ont été publiées sur le pouvoir acaricide des *Allium* spp. Un travail démontre cependant que des extraits et préparations d'ail ont un effet répulsif contre *Tetranychus urticae*.

Il en a été conclu par Auger *et al.* que ces composés sont potentiellement utilisables pour le contrôle de nombreux ravageurs et en particulier en fumigation pour lutter contre les ravageurs des denrées stockées. Les thiosulfates semblent être les plus intéressants. Cependant, étant donné l'instabilité des thiosulfates, les disulfures, plus stables, paraissent plus facilement utilisables. En remarque, il existe également le disélényure de diméthyle, fortement toxique contre la mite *Tineola bisselliella* avec une LC 50 dix fois plus faible que celle du disulfure correspondant mais trouvé dans la plante 1 000 à 10 000 fois moins abondamment.

7.3.2 Les molécules actives des brassicacées (Auger *et al.*, 2008)

Les brassicacées produisent les glucosinolates. Une centaine de glucosinolates a été identifiée et ils sont classés en trois familles selon leur structure chimique. A partir des glucosinolates, un mécanisme enzymatique analogue à celui décrit chez les *Allium* permet la production de composés volatils soufrés. Les composés volatils émis sont des thiocyanates, des nitriles et des isothiocyanates (ITC) (Auger *et al.*, 2008).

Concernant l'action insecticide, les ITC par exemple, génèrent divers effets comportementaux et physiologiques et en particulier répulsion des adultes, anti-appétence et toxicité.

Ensuite, les ITC ont une activité nématocide sur de nombreuses espèces comme les *Meloidogyne* spp. et les *Pratylenchus* spp.

Puis, les plantes productrices de glucosinolates ont montré une nette activité herbicide.

Enfin, pour ce qui est des effets fongicides, l'utilisation de brassicacées en amendement est censée réduire la population de pathogènes des racines comme *Fusarium oxysporum* (Auger *et al.*, 2008). Et, selon Sevenet (2006), les glucosinolates peuvent libérer des composés toxiques pour les champignons vecteurs de la rouille.

Concernant l'effet des glucosinolates sur les bactéries, le centre expérimental Serail a récemment mené des expérimentations avec l'UMR 5557 sur la communauté bactérienne d'un sol après biofumigation (Bertrand, 2009, communication personnelle).

Conclusion

Toutes les études menées sur les produits végétaux afin de protéger les cultures des ravageurs, maladies et végétaux concurrents ont abouti à la détection de divers produits disposant d'un potentiel (cf. résumés de chaque partie). Toutefois, leur utilisation de manière industrielle apparaît encore souvent délicate. De plus, il reste sûrement de nombreuses pistes de travail à explorer.

D'abord, les espèces végétales pouvant être étudiées sont nombreuses mais il faut prendre en compte le fait que leur choix doit se faire selon leur disponibilité (approvisionnement aisé et constant) qui est l'un des critères régissant la mise au point et la commercialisation d'un pesticide d'origine végétale (Isman, 2008).

Pour ce qui est du protocole de fabrication des préparations végétales testées, il faut retenir que :

- D'abord, la qualité de préparation peut varier selon l'origine géographique et génétique de la plante utilisée, selon la période de récolte, les conditions climatiques, etc.
- En outre, il existe divers procédés de fabrication de la préparation végétale : comme nous l'avons vu, ont été testés par les chercheurs des poudres, des extraits aqueux ou éthanoliques et préparés par Soxhlet ou non, des huiles simples et huiles essentielles, des infusions ou décoctions... issus de plantes entière ou d'un organe en particulier.
- Ensuite, la connaissance des composés actifs de la préparation et leurs caractéristiques chimiques (sont-ils organosolubles ou volatils ?) est indispensable afin d'établir un protocole d'application de la préparation le plus adapté qui soit. Cependant, souvent les molécules actives ne sont pas connues et les tests à réaliser sont multipliés.

Pour ce qui est de l'action de ces produits sur les organismes nuisibles et les végétaux concurrents :

- Il a souvent été observé que plus la teneur en principes actifs de la solution était élevée et plus le produit était efficace. Mais, les surdosages doivent être évités et il faut savoir que parfois, cette efficacité atteint un palier à partir d'une certaine dose. A l'opposé, il a parfois été constaté que de trop faibles doses provoquaient un effet stimulant plutôt qu'inhibiteur.
- Il faut retenir que les préparations en solution ne sont pas systémiques, il s'agit donc d'établir des modalités d'application permettant d'atteindre au mieux le parasite ou la mauvaise herbe visée.
- Ensuite, l'action résiduelle de ces préparations naturelles est généralement brève de par leur grande biodégradabilité. Cette caractéristique est un point positif en ce qui concerne le respect de l'environnement. Cependant, pour la protection des cultures face à un même fléau pendant plusieurs semaines, cela implique la multiplication des traitements.
- Puis, la sélectivité des différents produits étudiés peut être très variable. Par exemple, il a été parfois constaté avec certaines matières actives que les insectes auxiliaires se trouvaient également affectés alors qu'ils représentent un moyen de lutte biologique très efficace.
- Après, pour le cas des insectes, sur une même espèce visée, des différences de sensibilités sont souvent constatées selon le stade de développement de l'insecte et le sexe.

Enfin, des équipes ont également étudié l'effet de certaines molécules actives issues des préparations végétales. La plupart du temps, il a été observé que la préparation et le cocktail de molécules qu'elle contient sont plus efficaces que chaque molécule étudiée seule. Donc, au sein d'une préparation végétale, les molécules agissent en synergie ou, du moins, présentent des actions complémentaires. Par contre, dans une optique d'industrialisation, l'utilisation des molécules actives seules permettrait de prédire avec plus de précisions l'action déclenchée et de fabriquer des produits standardisés. En effet, l'uniformisation et la purification des préparations végétales représente une autre condition pour leur commercialisation.

Selon Isman (2008), même s'il semble que les produits d'origine végétale ne parviendront pas à supplanter les produits de synthèse, ils peuvent occuper des créneaux de marché importants et accaparer de plus grandes parts sur le marché des pesticides. Donc, les préparations végétales naturelles pour la protection des cultures dont les principes actifs sont souvent des molécules produites par les plantes aromatiques, médicinales et industrielles sont une piste d'étude opportune pour les acteurs de ces filières. Mais, les travaux à accomplir pour évaluer la faisabilité d'un tel projet sont encore importants. Les études en laboratoire s'avèrent encore nécessaires et il s'agit également de réaliser des essais au champ. En effet, jusqu'ici, très peu de tests au champ ont été entrepris par les chercheurs-expérimentateurs.

Index des noms latins des plantes testées

A

Acalypha indica31
Acorus calamus ..31, 32, 33, 39, 66, 80, 83, 86
Ageratum conyzoides62
Allium cepa14, 20, 52
Allium fistulosum40, 49
Allium porrum14, 52
Allium sativum20, 47, 50, 67
Allium spp.3, 72, 73
Anethum graveolens28, 34, 39, 40, 41, 46, 49, 66, 81
Aniba rosaedora66
Apium graveolens24, 25, 28, 40
Arnica montana17
Artemisia absinthium13, 17, 53, 62
Artemisia dracunculus.....53, 62
Artemisia nilagirica30
Artemisia spp.57
Artemisia vulgaris.....13, 35, 38, 55, 60, 61, 83
Asarum europaeum17, 38
Azadirachta indica20, 35, 37, 41, 46, 49, 62, 70, 84

B

Bellardia trixago20, 38, 79, 82
Brassica campestris67
Brassicacées (famille)3, 12, 13, 20, 44, 59, 72, 73
Bunium persicum41, 49, 85

C

Calendula officinalis17, 38, 40
Calia secundiflora58
Callistemon lanceolatus.....41, 49
Calocedrus macrolepis43, 81
Capparis spinosa51, 52, 61
Capsicum frutescens67
Carum carvi17, 40, 53, 54, 62, 63
Cassia obtusifolia44, 57, 61
Catheranthus roseus31
Centaurea cyanus17
Chelidonium majus47
Chrysanthemum cinerariaefolium71
Chrysanthemum coronarium21, 38, 85
Cinnamomum spp.49
Cinnamomum verum.....24, 28, 39
Cinnamomum zeylanicum18, 47, 54, 61, 66
Citrus aurantium66

Citrus limon24, 28, 66
Citrus limonum66
Citrus sinensis.....25
Corchorus acutangulus20
Coriandrum sativum17, 24, 28, 40, 46, 50, 52, 53, 62, 66
Cuminum cyminum24, 28, 40, 41, 46, 49, 50, 83
Cupressus sempervirens22
Curcuma amada46
Curcuma caesia30
Curcuma domestica40
Curcuma spp.30
Cymbopogon citratus48, 50, 53, 54, 61, 66, 82
Cymbopogon flexuosus29, 30
Cymbopogon martini29, 30
Cymbopogon nardus24, 28, 36, 66
Cymbopogon winterianus29, 30
Cynara scolymus59
Cynodon dactylon20

D

Diplotaxis tenuifolia35

E

Echiochilon fruticosum34, 86
Elettaria cardamomum.....35, 40, 41, 49
Emblica officinalis20
Epilobium angustifolium17
Equisetum arvense42
Eruca sativa35
Eucalyptus camaldulensis22
Eucalyptus citriodora29, 30, 39, 47, 66
Eucalyptus globulus.....18, 20, 24, 25, 26, 27, 28, 39
Eucalyptus spp.36, 57
Eugenia caryophyllus55, 61, 66

F

Fagopyrum spp.58, 61
Fagopyrum tataricum58
Ficus glomerata20
Foeniculum vulgare17, 40, 46, 50, 54

H

Hyssopus officinalis53, 56, 62, 63

I

Inula graveolens17, 38

Inula helenium.....17, 38

Inula viscosa17, 38, 45, 46, 49, 86

J

Juniperus communis.....22

L

Laurus nobilis22, 24, 25, 28, 32, 38, 40, 53, 57, 62

Laurus novocanariensis21, 38, 43, 49, 55, 61, 84

Lavandula angustifolia.....15, 16, 17, 22, 24, 25, 28, 32, 38, 40, 51, 52, 53, 55, 56, 61, 62, 63, 69

Lavandula hybrida25, 26, 27, 35, 39

Lavandula spp.36

Lavandula stoechas22, 38

Levisticum officinale17

Lippia alba35

Liquidambar orientalis22

Litsea cubeba66

Lupinus mexicanus44, 58, 86

Lupinus spp.....44, 49, 58, 61

M

Macleaya cordata43, 49

Magnolia grandiflora65, 82

mahua37

Melissa officinalis.....53, 56, 62, 63, 66

Mentha arvensis15, 16, 38, 71, 84

Mentha microphylla25, 39

Mentha pulegium69

Mentha spicata39, 63, 66, 69

Mentha spp.36, 39, 63, 66, 69

Mentha viridis25, 52

Mentha x piperita13, 17, 24, 28, 38, 46, 50, 53, 59, 61, 63, 66

Michelia hedyosperma65

Micromeria fruticosa53, 54, 63

Myristica fragrans.....24, 28

Myrtus communis18

N

Nerium oleander20, 30, 31, 65

Nigella sativa34, 35, 39, 81

O

Ocimum americanum19, 38, 81

Ocimum basilicum17, 18, 21, 24, 25, 28, 36, 38, 39, 40, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 62, 63, 64, 81, 85

Ocimum canum48

Ocimum gratissimum48

Ocimum sanctum20, 31, 48, 50

Ocimum spp.16, 36

Origanum dictamnus41

Origanum heracleoticum41, 49

Origanum majorana15, 16, 24, 28, 35, 38, 39, 41, 56, 57, 63

Origanum maru57, 61, 62

Origanum microphyllum69

Origanum spp.41, 53, 62, 85

Origanum syriacum51, 52, 53, 54, 61

Origanum vulgare17, 24, 25, 28, 40, 41, 56, 61, 63, 66, 69

P

Papaver rhoeos17

Pelargonium graveolens53, 62, 64, 66

Petroselinum sativum23, 24, 28, 40

Pimenta officinalis66

Pimenta racemosa66

Pimpinella anisum35, 40, 46, 50

Pinus brutia22

Piper nigrum31

Pistacia terebinthus25

Plantago lanceolata17

Pongamia glabra37

Prosopis juliflora31

Prunus persica48, 50

R

Rhus coriaria51, 52

Robinia pseudoacacia2, 45, 49, 86

Rosmarinus officinalis15, 16, 18, 24, 25, 26, 27, 28, 32, 35, 38, 39, 40, 42, 49, 52, 53, 61, 62, 63, 69

Rosmarinus spp.36

Rumex acetosa.....17, 38, 40

Rumex crispus17, 38

Ryania spp.22, 38

S

<i>Salvia dominica</i>	63
<i>Salvia fruticosa</i>	42, 49, 63, 69, 84
<i>Salvia officinalis</i>	14, 15, 17, 18, 24, 28, 40, 42, 49, 52, 53, 56, 61, 62, 63
<i>Salvia sclarea</i>	63
<i>Salvia</i> spp.	57
<i>Saponaria officinalis</i>	13
<i>Satureja hortensis</i>	24, 28, 40, 54, 66
<i>Saussurea lappa</i>	59
<i>Schoenocaulon officinale</i>	16
<i>Solanum nigrum</i>	20
<i>Syzygium aromaticum</i>	54, 61

T

<i>Tagetes erecta</i>	20, 64
<i>Tagetes minuta</i>	16
<i>Tagetes patula</i>	44, 49, 64, 81
<i>Tagetes tenuifolia</i>	64
<i>Tanacetum annuum</i>	13
<i>Taraxacum officinale</i>	17, 54
<i>Teucrium polium</i>	51, 52, 61
<i>Thevetia peruviana</i>	30, 41, 49
<i>Thuja orientalis</i>	25
<i>Thymus capitatus</i>	42, 66
<i>Thymus herba-barona</i>	18, 38
<i>Thymus serpyllum</i>	23, 24, 28, 39
<i>Thymus vulgaris</i>	17, 22, 24, 28, 32, 38, 40, 42, 53, 54, 56, 59, 61, 62, 66
<i>Tilia cordata</i>	17
<i>Trachyspermum ammi</i>	34, 35, 39, 41, 81
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	36, 39, 41, 67
<i>Tropaeolum peregrinum</i>	17

V

<i>Verbena officinalis</i>	24, 28
<i>Vetiveria zizanioides</i>	29, 30
<i>Viola tricolor</i>	17
<i>Vitex negundo</i>	31
<i>Vitis amurensis</i>	40, 49

Z

<i>Zingiber officinale</i>	47, 48, 50
----------------------------------	------------

Index des tableaux

Tableau 1	Influence de solutions contenant diverses huiles essentielles sur l'attractivité d'alliacées pour le thrips (Koschier & Sedy, 2003)	15
Tableau 2	Influence de solutions contenant diverses huiles essentielles sur la ponte du thrips sur alliacées (Koschier & Sedy, 2003)	15
Tableau 3	Influence de différentes huiles essentielles sur l'attractivité des plantes pour le puceron <i>Myzus persicae</i> (compilé par Koschier & Sedy, 2003)	16
Tableau 4	Extraits de plantes médicinales testées contre <i>Oncopeltus fasciatus</i> (Alexenizer & Dorn, 2007)	17
Tableau 5	Effet de différentes émulsions d'huiles essentielles sur les chenilles <i>Lymantria dispar</i> (Kostiç et al., 2008)	18
Tableau 6	Effet d'une nourriture saine ou traitée avec une solution d'huile essentielle ou d'eugénol issu d' <i>O. americanum</i> sur des larves d' <i>A. ipsilon</i> (Abd El-Aziz et al., 2007)	19
Tableau 7	Effets d'une pulvérisation en huile essentielle d' <i>O. americanum</i> ou en eugénol sur des adultes d' <i>A. ipsilon</i> (Abd El-Aziz et al., 2007)	19
Tableau 8	Effet d'huiles essentielles de <i>Bellardia trixago</i> contre le ver du cotonnier (Formisano et al., 2008)	20
Tableau 9	Effet d'huiles essentielles de 9 plantes en solution sur les larves de <i>T. pityocarpa</i> et les principes actifs contenus dans ces huiles essentielles (Kanat & Alma, 2004)	22
Tableau 10	Classement de différentes huiles essentielles selon leur pouvoir toxique sur des adultes d' <i>A. obtectus</i> (Regnault-Roger et al., 1993 ou Regnault-Roger, 2008)	24
Tableau 11	Classement de différentes huiles essentielles selon leur pouvoir inhibiteur révélé significatif sur les différents stades de développement d' <i>A. obtectus</i> (Regnault-Roger, 2008)	24
Tableau 12	Effets de différentes huiles essentielles sur le comportement et le développement d' <i>A. obtectus</i> (Papachristos & Stamopoulos, 2002a)	25
Tableau 13	Effet de trois vapeurs d'huiles essentielles sur la mortalité de larves et pupes de bruches <i>A. obtectus</i> (Papachristos & Stamopoulos, 2002b)	26
Tableau 14	Effet de trois vapeurs d'huiles essentielles sur la mortalité des œufs d' <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Papachristos & Stamopoulos, 2004)	26
Tableau 15	Composition des huiles essentielles de lavandin, de romarin et d'eucalyptus bleu selon l'organe utilisé ou la période de récolte (Papachristos, Karamanoli et al., 2004)	27
Tableau 16	Composition de 22 huiles essentielles testées pour leur toxicité contre <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Regnault-Roger et al., 1993)	28
Tableau 17	Classement des principales molécules retrouvées dans les huiles essentielles selon leur pouvoir toxique sur des adultes d' <i>A. obtectus</i> (Regnault-Roger, 2008)	28
Tableau 18	Classement des principales molécules retrouvées dans les huiles essentielles selon leur pouvoir inhibiteur sur les différents stades de développement d' <i>A. obtectus</i> (Regnault-Roger, 2008)	29
Tableau 19	Effets larvicides et insecticides d'huiles essentielles sur la bruche du niébé (Raja & William, 2008)	30
Tableau 20	Efficacité de traitements de graines de niébé contre la bruche (Singh et al., 2006)	30

Tableau 21	Protection de graines de <i>Cajanus cajan</i> contre <i>Callosobruchus chinensis</i> à partir de rhizome d' <i>Acorus calamus</i> (Nandi <i>et al.</i> , 2008)	31
Tableau 22	Efficacité de l'extrait de rhizome d' <i>Acorus calamus</i> et de son principal composant le (Z)-asarone sur <i>Sitophilus zeamais</i> (Yao <i>et al.</i> , 2008)	33
Tableau 23	Toxicité de trois huiles essentielles contre les larves et les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> (Chaubey, 2007)	35
Tableau 24	Huiles essentielles ayant un effet sur des insectes de denrées par fumigation (d'après la compilation de Rajendran & Sriranjini, 2008)	35
Tableau 25	Effets de solutions issues d'essences exotiques sur le coléoptère <i>Henosepilachna vigintioctopunctata</i> (Manjoo & Swaminathan 2007), 1 et 3 jours après traitement	37
Tableau 26	Effet de l'huile essentielle du cèdre de Taiwan et de ses principaux terpènes sur 6 espèces de champignons (Chang <i>et al.</i> , 2008)	43
Tableau 27	Effets d'extraits aqueux de plantes aromatiques sur la germination et la croissance de la mauve et du pourpier (Qasem & Hassan, 2003)	52
Tableau 28	Effet de trois huiles essentielles sur la germination <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> du blé tendre et de l'amaranthe (selon Dudai <i>et al.</i> , 1999)	54
Tableau 29	Inhibition de la germination et de l'élongation du radis, de la laitue et du cresson, au contact d'une solution contenant 2,5 µg/ml d'huile essentielle (résultats en pourcentages)	56
Tableau 30	Inhibition de la germination et de l'élongation du radis, de la laitue et du cresson par différentes huiles essentielles vaporisées (résultats en pourcentages)	56
Tableau 31	Efficacité de différentes huiles essentielles sur <i>Tetranychus cinnabarinus</i>	63
Tableau 32	Toxicité d'huiles essentielles sur les adultes du nématode <i>B. xylophilus</i> (d'après Kong, Lee <i>et al.</i> , 2006)	66
Tableau 33	Effet nématocide de l'huile de thym et de ses composants (Kong, Park <i>et al.</i> , 2007)	66
Tableau 34	Taux de mortalité de <i>Meloidogyne incognita</i> 72 heures après différents traitement à base d'extraits aqueux (Saxena & Sharma, 2004)	67
Tableau 35	Huiles essentielles, composition et pouvoir d'inhibition contre <i>Erwinia carotovora in vitro</i> , à la dilution 1:1 dans l'éthanol (Vokou <i>et al.</i> , 1993)	69

Références bibliographiques

Abd El-Aziz S.E., Omer E.A. & Sabra A.S. (2007). Chemical composition of *Ocimum americanum* essential oil and its biological effects against *Agrotis ipsilon*, (Lepidoptera: Noctuidae). Res. J. Agric. & Biol. Sci. **3(6)**: 740-747.

Acharya S.N., Thomas J.E. & Basu S.K. (2008). Fenugreek, an alternative crop for semiarid regions of North America. Crop Sci. **48**: 841-853.

AFPP (2008). Pyréthrines naturelles [en ligne].

<http://www.afpp.net/commande/commissions/Fiches%20ppts%20alt/Pyr%C3%A9thrines%20naturelles.pdf>

Alexenizer M. & Dorn A. (2007). Screening of medicinal and ornamental plants for insecticidal and growth regulation activity. J. Pest Sci. **80(4)**: 205-215.

Arminante F., De Falco E., De feo V., De Martino L., Mancini E. & Quaranta E. (2006). Allelopathic activity of essential oils from mediterranean Labiatae. Proc Ist IC on Labiatae Acta Hort. **723**: 347-352.

Arnason J.T., Durst T., Philogène B.J.R. & Scott I.M. (2008). Prospection d'insecticides phytochimiques de plantes tempérées et tropicales communes ou rares. In : Regnault-Roger C., Philogène B.J.R. & Vincent C. coord. Biopesticides d'origine végétale. Deuxième édition. Editions Tec & Doc, Paris, 87-99.

Arroo R.R., De Brouwer A.P., Croes A.F. & Wullems G.J. (1995). Thiophene interconversion in elicitor-treated roots of *Tagetes patula* L. Plant cell Rep. **15**: 133-137.

Auger J., Dugravot S., Naudin A., Abo-Ghalia A., Pierre D. & Thibout E. (2002). Utilisation des composés allélochimiques des *Allium* en tant qu'insecticides. IOBC wprs Bulletin **25(9)**: 295-306.

Auger J., Arnault I. & Thibout E. (2008). Les substances soufrées des *Allium* et des crucifères : potentialités phytosanitaires et applications à la biofumigation. In : Regnault-Roger C., Philogène B.J.R. & Vincent C. coord. Biopesticides d'origine végétale. Deuxième édition. Editions Tec & Doc, Paris, 101-123.

Aveline N. & Pajot E. (2004). Les propriétés phytosanitaires de l'inule visqueuse. Veille Technologique BRITTA – fiche VÉGÉTAL/**23**-2004.

Azizi M., Mosavi A. & Nazdar T. (2008). Extraction methods affects allelopathic activity of peppermint and thyme extract on weed seed germination. Acta Hort. **767**: 97-104.

Bais H.P., Walker T.S., Schweizer H.P. & Vivanco J.M. (2002). Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. Plant Physiol. Biochem. **40**: 983-995.

Boyd N.S. & Brennan E.B. (2006). Burning nettle, common purslane, and rye response to a clove oil herbicide. Weed tech. **20**: 646-650.

Chang H.T., Cheng Y.H., Wu C.L., Chang S.T., Chang T.T. & Su Y.C. (2008). Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *formosana* Florin leaf against plant pathogenic fungi. Bioresour. Technol. **99**: 6266-6270.

Chaubey M.K. (2007). Insecticidal activity of *Trachyspermum ammi* (Umbelliferae), *Anethum graveolens* (Umbelliferae) and *Nigella sativa* (Ranunculaceae) essential oils against stored-product beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). Afr. J. Agric. Res. **2(11)**: 596-600.

Chiapusio G., Pellissier F. & Gallet C. (2008). A la découverte de molécules allélopathiques phytotoxiques dans les écosystèmes forestiers et les agrosystèmes. In : Regnault-Roger C., Philogène B.J.R. & Vincent C. coord. Biopesticides d'origine végétale. Deuxième édition. Editions Tec & Doc, Paris, 65-86.

Copping & Duke (2007). Review – Natural products that have been used commercially as crop protection agents. Pest Manag. Sci. **63(6)**: 524-554.

Dijan-Caporalino C., Bourdy G. & Cayrol J.-C. (2008) Plantes nématocides et plantes résistantes aux nématodes. In : Regnault-Roger C., Philogène B.J.R. & Vincent C. coord. Biopesticides d'origine végétale. Deuxième édition. Editions Tec & Doc, Paris, 125-185.

Dohray R. B. (1990). Exotoxicological studies on pulse beetle *Callosobruchus chinensis* infesting green gram *Vigna radiata* (L.). Bulletin of Grain Technology 28: 116-119.

Duamkhanmanee R. (2008). Natural essential oils from lemon grass (*Cymbopogon citratus*) to control postharvest anthracnose of mango fruit. Int. J. Biotechnology **10(1)**: 104-108.

Dudai N., Poljakoff-Mayber A., Mayer A.M., Putievsky E. & Lerner H.R. (1999). Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. J. Chem. Ecol. **25(5)**: 1079-1089.

El Modafar C., El Boustani E.-S. & El Aabidine A.Z. (2008). Contribution des polyphénols aux mécanismes de défense des plantes contre les phytopathogènes. Résistance du palmier dattier à la fusariose In : Regnault-Roger C., Philogène B. & Vincent C. coord. Biopesticides d'origine végétale. Deuxième édition. Editions Tec & Doc, Paris, 259-276.

E-phy, catalogue des produits phytopharmaceutiques et de leurs usages, des matières fertilisantes et des supports de culture homologués en France [en ligne]. <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>. Site du Ministère de l'agriculture et de la pêche en partenariat avec l'office national de la protection des végétaux. Mises à jour permanentes.

ExToxNet, Extension Toxicology Network (1996) Pesticide Information Profiles – Ryania [en ligne]. <http://extoxnet.orst.edu/pips/ryania.htm>

Formisano C., Rigano D., Senatore F., Simmonds M.S.J., Bisio A., Bruno M. & Rosselli S. (2008). Essential oil composition and antifeedant properties of *Bellardia trixago* (L.) All. (Sin. *Bartsia trixago* L.) (Scrophulariaceae). Biochem. Syst. Ecol. **36**: 454-457.

González-Coloma A., Gutiérrez C., Hübner H., Achenbach H., Terrero D. & Fraga B.M. (1999). Selective insect antifeedant and toxic action of ryanoid diterpenes. J. Agric. Food Chem. **47**: 4419-4424.

Guét G. (2002). Applications du neem comme insecticide/nématocide en agriculture biologique. Ater Agri **54**: 4-6.

Hong L., Li G., Zhou W., Wang X. & Zhang K. (2007). Screening and isolation of a nematocidal sesquiterpene from *Magnolia grandiflora* L.. Pest Manag. Sci. **63**:301-305.

Huignard J., Dugravot S., Kétoh G.K., Thibout E. & Glitho A.I. (2008). Utilisation des composés secondaires des végétaux pour la protection des graines d'une légumineuse, le niébé. Conséquences sur les insectes ravageurs et les parasitoïdes. In : Regnault-Roger C., Philogène B. & Vincent C. coord. Biopesticides d'origine végétale. Deuxième édition. Editions Tec & Doc, Paris, 187-206.

Inra (dernière consultation le 11/09/2009). Ver du cotonnier, Prodénia [en ligne]. <http://www.inra.fr/hyppz/RAVAGEUR/3spolit.htm>

Iqbal Z., Golisz A., Furubayashi A., Nasir H. & Fujii Y. (2005). Allelopathic potential of buckwheat [en ligne]. In : Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base", Wagga Wagga 21-26 août 2005. http://www.regional.org.au/au/allelopathy/2005/2/7/2751_iqbalzi.htm#TopOfPage

Isman M.B. (2008). Problèmes et perspectives de commercialisation des insecticides d'origine botanique. In : Regnault-Roger C., Philogène B. & Vincent C. coord. Biopesticides d'origine végétale. Deuxième édition. Editions Tec & Doc, Paris, 465-476.

Kaiser-Alexnat R. (2008). Färberwaid (*Isatis tinctoria* L.): perspektiven einer vielseitigen nutzpflanze. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. **60(5)**: 97-103.

Kanat M. & Alma H. (2004). Insecticidal effects of essential oils from various plants against larvae of pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). Pest Manag. Sci. **60**: 173-177.

Kong J.O., Lee S.M., Moon Y.S., Lee S.G. & Ahn Y.-J. (2006). Nematicidal activity of plant essential oils against *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae). J. Asia-Pacific Entomol. **9(2)**: 173-178.

Kong J.O., Park I.K., Choi K.S., Shin S.C. & Ahn Y.J. (2007). Nematicidal and propagation activities of thyme red and white oil compounds toward *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae). J. Nematol. **39(3)**: 237-242.

Koschier E.H. & Sedy K.A. (2003). Labiate essential oils affecting host selection and acceptance of *Thrips tabaci* lindeman. Crop Prot. **22(7)**: 929-934.

Kostic M., Popovic Z., Brkic D., Milanovic S., Sivcev I. & Stankovic S. (2008). Larvicidal and antifeedant activity of some plant-derived compounds to *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Limntriidae). Bioresour. Technol. **99**: 7897-7901.

Lajeunesse S. (1997). Neem a botanical insecticide [en ligne]. <http://scarab.msu.montana.edu/YardGarden/docs/neem-insect.htm>

La Torre A., Spera G. & Lolletti D. (2004). Activity of natural products against courgette powdery mildew. Comm. Appl. Biol. Sci. **69(4)**: 671-678.

Lequet A. (dernière consultation le 11/09/2009) La processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa*, Lépidoptère *Notodontidae*) [en ligne]. <http://insectes-net.fr/processionnaire/process2.htm??>

Macías F.A., Viñolo V. & Molinillo J. (2005). Rational development of herbicide models from guaïanolides [en ligne]. In : Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base", Wagga Wagga 21 -26 août 2005. http://www.regional.org.au/au/allelopathy/2005/2/3/2547_maciasfa.htm#TopOfPage

Manjoo S. & Swaminathan R. (2007). Bio-ecology and management of *Henosepilachna vigintioctopunctata* (Fabricius) (Coleoptera: Coccinellidae) infesting aswagandha [*Withania somnifera* (L.) Dunal]. J. Med. Aromat. Plant Sci. **29**: 16-19.

Mansour F., Ravid U. & Putievsky E. (1986). Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of labiateae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. Phytoparasitica **14(2)**: 137-142.

Meisner J., Fleischer A. & Eizick C. (1982). Phagodeterreny induced by (-)carvone in the larvae of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology **75**: 462-466.

Moretti M., Sanna-Passino G., Demontis S. & Bazzoni E. (2002). Essential oil formulations useful as a new tool for insect pest control. AAPS ParmSciTech **3(2)** article 13.

Mulatu B. & Gebremedhin T. (2000). Oviposition-deterrent and toxic effects of various botanicals on the Adzuki bean beetle, *Callosobruchus chinensis* L. Insect Science and Its Application **20**: 33-38.

Nandi R., Naganagoud A. & Patil B. (2008). Effects of sweet flag rhizome, *Acorus calamus* L. formulations with cow dung ash as a carrier against *Callosobruchus chinensis* Linn. in pigeonpea. J. Agric.

Sci. **21(1)**:45-48.

Niaz I., Sitara U. & Qadri S. (2008). Effect of different seed oils and benlate fungicide on *in vitro* growth of four Drechslera species. Pak. J. Bot. **40(1)**: 397-401.

Ondet S.J. (2006). Tisanes et decoctions de plantes contre ravageur(s). Arbo Bio Infos 105.

Ondet S.J. (2007). La thérapie par les plantes Arbo Bio Infos 118.

Onen H. (2007). Autotoxic potential of mugwort (*Artemisia vulgaris*). Allelopathy J. **19(2)**: 323-336.

Pandey V., Kumar N. & Tripathi N.N. (2007). Inhibition of fungal deterioration of stored pigeonpea seeds by *Cuminum cyminum* oil. Indian Phytopath. **60(3)**: 306-312.

Papachristos D.P. & Stamopoulos D.C., (2002a). Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapour on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. **38**: 117-128.

Papachristos D.P. & Stamopoulos D.C., (2002b). Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. **38**: 365-373.

Papachristos D.P. & Stamopoulos D.C., (2004). Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. **40**: 517-525.

Papachristos D.P., Karamanoli K.I., Stamopoulos D.C. & Menkissoglu-Spiroudi U. (2004). The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). Pest Manag. Sci. **60(5)**: 514-520.

Parmar B.S. (1995). Neem. In: K.L. Chadha & Rajendra Gupta. Advances in horticulture, medicinal and aromatic plants. **Volume 11**. Malhotra Publishing House, New Dehli, p. 503-511.

Perveen K., Haseeb A. & Shukla P.K. (2007). Efficacy of pesticides, neem seed powder and bio-control agents on *Meloidogyne incognita* and growth and oil yield of *Mentha arvensis*. Nematol. Medit. **35**: 75-79.

Philogène B.J.R., Regnault-Roger C. & Vincent C. (2008). Biopesticides d'origine végétale : bilan et perspectives. In : Regnault-Roger C., Philogène B.J.R. & Vincent C. coord. Biopesticides d'origine végétale. Deuxième édition. Editions Tec & Doc, Paris, 1-24.

Pitarokili D., Tzakou O., Loukis A. & Harvala C. (2003) Volatiles metabolites from *Salvia fruticosa* as antifungal agents in soilborne pathogens. J. Agric. Food Chem. **51(11)**: 3294-3301.

Puri H.S. (1999). Neem, The divine tree, *Azadirachta indica*. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles. **Volume 5**. Harwood Academic Publishers, 183 pages.

Qasem J.R. & Hassan A.A. (2003). Herbicidal properties of some medicinal plants against *Malva sylvestris* and *Portulaca oleracea*. Dirasat, Agric. Sci. **30(1)**: 84-99.

Raja M. & William J. (2008). Impact of volatile oils of plants against the cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). IJIB **2(1)**: 62-64.

Rajendran S. & Sriranjini V. (2007). Plant products as fumigants for stored-products insect control. J. Stored Prod. Res. **44**: 126-135.

Regnault-Roger C., Hamraoui A., Holeman M., Theron E. & Pinel R. (1993). Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Chem. Ecol. **19(6)**: 1233-1244.

Regnault-Roger C. (2008). Recherche de nouveaux biopesticides d'origine végétale à caractère insecticide : démarche méthodologique et application aux plantes aromatiques méditerranéennes. In : Regnault-Roger C., Philogène B.J.R. & Vincent C. coord. Biopesticides d'origine végétale. Deuxième édition. Editions Tec & Doc, Paris, 19-39.

Regnault-Roger C., Philogène B.J.R. & Vincent C. coord. (2008). Biopesticides d'origine végétale. Deuxième édition. Editions Tec & Doc, Paris, 546 pages.

Rice E.L. (1984). Allelopathy. Academic Press, Orlando, 422 pages.

Rodilla J.M., Tinoco M.T., Morais J.C., Gimenez C., Cabrera R., Martín-Benito D., Castillo L. & González-Coloma A. (2008). Laurus novocanariensis essential oil: seasonal variation and valorization. Biochem. Syst. Ecol. **36**: 167-176.

Romagni J.G., Allen S.N. & Dayan F.E. (2000). Allelopathic effects of volatile cineoles on two weedy plant species. J. Chem. Ecol. **26(1)**: 303-313.

Rozman V., Kalinovic I., Liska A., Korunic Z., Balicevic R. (2007). Toxicity of naturally occurring compounds of Dalmatian (Croatia) Lamiaceae and Lauraceae to maize weevil (*Sitophilus zeamais motsch*). Cereal Res. Commun. **35(2)**: 1005-1008.

Salamone A., Zizzo G.V. & Scarito G. (2006). The antimicrobial activity of water extracts from *Labiatae*. Proc. Ist IC on Labiatae Acta Hort. **723**: 465-469.

Sathyaseelan V., Baskaran V. & Mohan S. (2008). Efficacy of some indigenous pesticidal plants against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (L.) on green gram. J. Entomol. **5(2)**: 128-132.

Saxena R. & Sharma R. (2004). Effect of aqueous extracts of leaves and roots of some edible plants on J2 mortality of *Meloidogyne incognita*. Current Nematol. **15(1,2)**: 91-96.

Sekine T., Sugano M., Majid A. & Fujii Y. (2007). Antifungal effect of volatile compounds from black zira (*Bunium persicum*) and other spices and herbs. J. Chem. Ecol. **33**: 2123-2132.

Sevenet T. (2006). Toxines toxiques, toxines utiles chez les plantes. Biofutur **272**: 30-34.

Sharma R.K. & Bisht R.S. (2008). Antifeedant activity of indigenous plant extracts against *Spodoptera litura* fabricius. J. Insect Sci.* **21(1)**: 56-60 (*NDR : Journal Indien, ISSN : 0970-3837).

Shonouda M.L., Osman S., Salama O. & Ayoub A. (2008). Insecticidal effects of *Chrysanthemum coronarium* L. flowers on the pest *Spodoptera littoralis* Boisd and its parasitoid *Microplitis rufiventris* Kok. with identifying the chemical composition. J. Appl. Sci. **8(10)**: 1859-1866.

Singh K.M., Sureja A.K. & Sarma A.K. (2006). Bio-efficacy of some botanicals against *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae) on pea. Indian J. Entomol. **68(4)**: 404-411.

Srivastava D.K. & Yadal H.L. (2008). Antifungal activity of some medicinal plants against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Indian Phytopath. **61(1)**: 99-102.

Tripathi P., Dubey N.K. & Shukla A.K. (2008). Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinerea*. World J. Microbiol. Biotechnol. **24**: 39-16.

Trumble J.T. (2002). Caveat emptor : safety considerations for natural products used in arthropod control. Am. Entomol. **48(1)**: 7-13.

Tsolakis H. & Ragusa S. (2008). Effects of a mixture of vegetable and essential oils and fatty acid potassium salts on *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis*. Ecotox. Environ. Safe. **70**: 276-282.

Tworkoski T. (2002). Herbicide effects of essential oils. Weed Sci. **50**: 425-431.

Tylkowska K. & Dorna H. (2001). Effects of cinnamon, garlic, greater celandine, ginger and chosen fungicides on the growth of pathogenic fungi isolated from onion, cabbage and carrot seeds. Phytopathol. Pol. **21**: 25-34.

Vasilakoglou I., Dhima K., Wogiatzi E., Eleftherohorinos I. & Lithourgidis A. (2007). Herbicidal potential of essential oils of oregano or marjoram (*Origanum* spp.) and basil (*Ocimum basilicum*) on *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. and *Chenopodium album* L. weeds. Allelopathy J. **20(2)**: 297-306.

Vokou D., Vareltzidou S. & Katinakis P. (1993). Effects of aromatic plants on potato storage: sprout suppression and antimicrobial activity. Agr. Ecosyst. Environ. **47**: 223-235.

Wang W., Ben-Daniel B.H. & Cohen Y. (2004). Control of plant diseases by extracts of *Inula viscosa*. Phytopathology **94(10)**: 1042-1047.

Xuan T.D., Hong N.H., Khanh T.D., Eiji T., Tawata S; & Fukuta M. (2005). Utilization of plant allelopathy for biological control of weeds and plant pathogens in rice [en ligne]. In : Fourth World Congress on Allelopathy "Establishing the scientific base", Wagga Wagga 21 -26 août 2005. http://www.regional.org.au/au/allelopathy/2005/2/4/2612_xuantd.htm#TopOfPage

Yao Y., Cai W., Yang C., Xue D., Huang Y. (2008). Isolation and characterization of insecticidal activity of (Z)-asarone from *Acorus calamus* L. Insect Sci. **15**: 229-236.

Zamora-Natera F., García-López P., Ruiz- López M. & Salcedo-Pérez E. (2008). Composición de alcaloides en semillas de *Lupinus mexicanus* (Fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. Agrociencia **42**: 185-192 (texte en espagnol et en anglais).

Zardi-Bergaoui A., Ben Jannet H., Harzallah-Skhiri F., Chaeb I., Hammami S. & Mighri Z. (2008). Chemical composition, toxicity and antifeedant activities of the tunisian *Echiochilon fruticosum* Desf. aerial part volatile fractions against *Tribolium confusum* du val. JEOBP **11(1)**: 112-119.

Zhang Z.Y., Dai G.H., Zhuge Y.Y. & Li Y.B. (2008). Protective effect of Robinia pseudoacacia Linn1 extracts against cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. Crop prot. **27(6)**: 920-925.

Zhang Z.K., Ouyang M.A., Wu Z.J., Lin Q.Y. & Xie L. (2007). Structure-activity relationship of triterpenes and triterpenoid glycosides against tobacco mosaic virus. Planta Med. **73**: 1457-1463.

Zhou X., Zhou B.L., Li Z.W. & Dong C.F. (2007). Inhibitory and preventive effects of plants extracts against *Verticillium dahliae*. Allelopathy J. **20(1)**: 145-156.



iteipmai



Terres d'Innovation • 44, rue d'Alésia 75682 Paris cedex 14 • <http://www.terres-innovation.fr>