

III. Discussion

1. La fongitoxicité in vitro des huiles essentielles

i. L'importance du dosage de l'huile essentielle

Le premier paramètre à maîtriser dans la mise en évidence de l'activité toxique d'un produit est le choix du produit en question. Nos recherches sont parties d'une large gamme de dix produits dont la mise en évidence du plus antifongique in vitro nécessite le criblage du dosage adéquat. L'HE de ravensare de type MC ayant déjà fait l'objet d'une recherche similaire vis-à-vis des plantes, fût le candidat idéal pour atteindre cet objectif.

Nos résultats rapportent une inhibition de la germination conidienne ainsi que de la croissance mycélienne de *C. gloeosporioides*. Ce qui confirme une activité antifongique de l'HE sur ce pathogène à l'origine de l'antracnose des mangues à l'île de la Réunion. L'augmentation de cette inhibition avec le volume d'HE utilisé signifie une dose-dépendance de l'activité antifongique ou effet-dose. Kocic-Tanackov et al. (2011) ont rapporté une activité similaire contre la croissance mycélienne de plusieurs espèces de *Fusarium*, à la fois vis-à-vis de l'inhibition et vis-à-vis de la dose-dépendance et nombreux sont les reviews traitant de l'activité antifongique des HE sur les pathogènes post-récolte des fruits (Sivakumar and Bautista-banos, 2014).

Certains travaux attribuent les activités antifongiques des HE ainsi que leur dose-dépendance à une dépolarisation membranaire des cellules, menant à une désorganisation métabolique, puis à la mort de ces dernières (Pinto et al., 2009; Xing et al., 2010). Toutefois, d'autres études remettent en question cette théorie au profit, d'action supplémentaire plus ciblée au niveau du métabolisme cellulaire, comme certains enzymes, protéines et voies métaboliques (Carrillo-Muñoz et al., 2006; Shao et al., 2013). Plus probablement, la dose-dépendance de l'activité des HE proviendrait de l'existence d'un seuil de tolérance spécifique à l'espèce ainsi que de la quantité de molécules toxiques nécessaires pour endommager irrémédiablement un nombre déterminé de cellules.

Nos expérimentations rapportent aussi augmentation de l'inhibition en fonction du volume d'HE utilisé, plus importante et plus rapide sur la germination conidienne que sur la croissance mycélienne. En effet, l'inhibition de la germination conidienne avoisine déjà les 60% avec 100µL d'HE tandis que l'inhibition de la croissance mycélienne est encore entre 0 et 40%. Cela est contradictoire aux dispositions constitutionnelles des deux organes. En effet, les conidies sont protégées par une enveloppe résistante, conçue pour résister aux aléas

hostiles du milieu extérieur tandis que le mycélium est tout juste entouré d'une fine membrane, pratiquement hyalin (Money, 1997). Ou alors, cette différence serait expliquée par le fait que la germination (et par récurrence le tube germinatif) a une croissance plus lente et plus sensible que le mycélium, si bien que si le seuil de toxicité du produit est élevé, le mycélium aurait une vitesse de croissance plus rapide que le temps nécessaire au produit de causer des dommages irréparables.

On constate que la variation de la phytotoxicité des HE de ravensare en fonction de la composition majeure de cette dernière (Andrianjafinandrasana et al., 2013) est aussi observée avec ses propriétés antifongiques. Dans la mesure où la composition majeure et la proportion de chaque composant majeur d'une HE sont dépendantes des facteurs environnementaux (Hussain et al., 2010; Van Vuuren et al., 2007; Verma et al., 2010), l'exploitation de cette espèce dans la production d'un traitement post-récolte sera par conséquent limitée par un effet terroir. Les mêmes observations ont été faites sur *Cinnamomum osmophloeum*, dont l'analyse de la composition chimique d'HE de feuilles en fonction de leur provenance a révélé le regroupement de ces HE en six chemotypes différents et dont les activités inhibitrices de la croissance mycélienne (par diffusion sur PDA, 100 µgml⁻¹ dissolu dans de l'éthanol) diffèrent. Les activités antifongiques vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* n'excèdent pas 18% quel que soit le chemotype, contrairement à *Fusarium solani* qui est sensible au type cinnamaldehyde, au type cinnamaldehyde—cinnamyl acetate (85.7 et 67.1%). Contre les pathogènes racinaires, *Ganoderma australe* et *Fusarium solani*, les types cinnamaldehyde et cinnamaldehyde—cinnamyl acetate sont toujours plus antifongiques (100 et 72% pour *G. australe*, 100% pour *F. solani*). Contre les pathogènes foliaires, les six chemotypes ont une activité antifongique maximale de 20% vis-à-vis de *Pestalotiopsis funerea*, 85 et 100% vis-à-vis de *Collectotrichum gloeosporioides* (type C et type CCA, respectivement) (H. C. Lee et al., 2005).

ii. L'importance du choix de l'huile essentielle

D'après les résultats, toutes les HE inhibent la germination conidienne, la germination appressoriale et la croissance mycélienne de *C. gloeosporioides*. Ainsi les dix HE choisies au départ des investigations ont toute une activité antifongique vis-à-vis de l'agent de l'antracnose de la mangue. Ce qui concorde avec les travaux de la littérature qui rapportent les propriétés antifongiques de ces 5 espèces :

- le girofle étant inhibiteur de plusieurs champignons pathogènes de l'homme et des fruits comme *Fusarium oxysporum* (Gupta et al., 2011) et *Candida albicans* (Chaieb et al., 2007).

- le géranium étant inhibiteur d'*Alternaria alternata*, du genre *Aspergillus* (Džamić et al., 2014) et *Botrytis cinerea* (Wilson et al., 2015).

- la menthe ainsi que le thym étant inhibiteurs de *C. gloeosporioides* (Sellamuthu et al., 2013)

- le ravensare étant inhibiteur de *C. gloeosporioides* (Estournet, 2012).

Il semble que les HE de ravensare engendreraient des inhibitions plus faibles par rapport aux autres HE. En concordance avec les travaux de (Juliani et al., 2004), la toxicité des HE de cette espèce serait par conséquent moins compétitive que celles des autres HE. Cela peut provenir de la très grande volatilité de ces HE (Andrianoelisoa, 2008), ou de leurs compositions, ce qui sera discuté ultérieurement (Partie III) .

Les inhibitions obtenues avec l'HE de menthe industrielle, girofle malgache, girofle industrielle et avec le mélange d'HE de menthe et de girofle industrielle sont statistiquement similaires pour la germination conidienne et la croissance mycélienne. La théorie d'une additivité ou d'un antagonisme de l'activité antifongique des HE lors d'une combinaison de deux ou plusieurs HE (Fu et al., 2007), par conséquent, n'a pas été vérifiée par nos résultats dans le cadre in vitro. Cela s'expliquerait par un antagonisme entre certains composants des deux HE et un synergisme entre d'autres. En effet, un antagonisme annulerait les effets positifs d'un synergisme, et les deux sont possibles en fonction de la composition du mélange (Bassolé and Giuliani, 2012).

Les inhibitions observées avec l'HE de girofle sont similaires, indépendamment de la constitution de cette dernière soit, entre la version artisanale extraite à partir de feuilles de girofle malgache ou les formulations industrielles disponibles dans le commerce. Dans la mesure où l'huile industrielle est constituée à partir des composants majeurs connues de l'HE de girofle, cela suggère une importance mineure de cette dernière dans ses activités antifongiques et par conséquence, témoigne d'une toxicité induite par un principe actif à l'image de nombreuses publications à ce sujet (Bakkali et al., 2008a; Pinto et al., 2009) mais cela sera discuté plus profondément dans une autre partie du présent manuscrit (Partie III).

Chaque stade du développement de *C. gloeosporioides* est sensible à la toxicité des HE testées. Toutefois, le degré et l'ordre de sensibilité à chaque HE varient d'un stade à l'autre. Par ailleurs, la sensibilité à chaque HE peut être indépendante du volume d'HE utilisé ou pas, en fonction du stade de développement du pathogène. Par conséquent, d'un stade à un autre, la sensibilité du pathogène à chaque HE n'est pas systématiquement la résultante de l'interaction de l'HE avec le volume d'HE appliqué mais dépend uniquement du choix de

l'HE. Par ailleurs, la germination conidienne et la croissance mycélienne sont sensibles à 100% aux HE non extraites de ravensare tandis que la germination appressoriale n'est sensible à 100% qu'à deux huiles essentielles industrielles, à savoir l'HE de menthe et le mélange d'HE de menthe et de girofle.

Ainsi, les appressoria réagissent différemment des conidies et du mycélium à la toxicité des dix HE, que ce soit par le degré de sensibilité à la toxicité des HE mais aussi au regard de la théorie de l'antagonisme ou synergisme de plusieurs HE lorsqu'elles sont combinées dans un traitement (cité plus haut) (Fu et *al.*, 2007). Il semblerait que vis-à-vis des appressoria, l'HE de menthe ait une portée plus élevée (environ 20% d'inhibition supplémentaire). Ce qui est compréhensible étant donnée la volatilité nettement plus élevée de cette HE (El Fadl and Chtaina, 2010). Toutefois, si l'HE de menthe est tout aussi volatile que les HE de ravensare, pourquoi la première est parmi les plus toxiques et la dernière les moins toxiques ? Cela suggère qu'un tout autre paramètre soit plus déterminant dans la toxicité des HE que sa volatilité mais cette hypothèse sera discutée dans la prochaine partie, celle sur le mécanisme d'action des HE (partie III).

La différence quant au degré de sensibilité à la toxicité des HE proviendrait probablement de la différence anatomique entre l'appressorium et les deux autres stades de développement de *C. gloeosporioides*. Il est à rappeler que l'appressorium est une hyperstructure conçue pour résister à toute forme d'attaque provenant de l'extérieur, notamment la défense de l'organisme hôte (Emmett and Parbery, 1975; Munaut et *al.*, 1994). Ainsi, il est normal qu'il soit plus résistant à la toxicité des HE que les conidies et l'hyphe mycélien.

iii. Les modalités d'un traitement in vitro

L'amélioration du dispositif a permis un meilleur criblage des HE, de travailler sur une gamme de concentration plus fine et par conséquent de permettre une optimisation de la qualité du traitement par la minimisation du volume d'HE requise. Ainsi, le mode d'application de l'HE est aussi un facteur stratégique dans l'efficacité d'un traitement. Les deux dispositifs permettent une action de l'HE sans contact de direct avec l'organisme cible (pathogène ou fruit), le premier (dans le screening préliminaire) étant un dépôt concentrée de l'HE au milieu du boîte de Pétri, le second (amélioration du dispositif) étant une imbibition d'HE du couvercle de la boîte de Pétri dans sa totalité. Dans ce cas-ci, c'est la densité de l'HE qui a été un facteur limitant, le dispositif a été amélioré de façon à dépasser cet obstacle, par l'augmentation de la répartition de l'HE.

Une inhibition totale et irréversible de la germination conidienne et de la croissance mycélienne des pathogènes semble n'être possible qu'avec 20µL d'HE de girofles malgaches pour les *Fusarium spp.* extraits de bananes et de papayes malgaches. Les souches isolées à partir de mangues, par contre, sont sensibles aussi à l'HE de menthe industrielle, que les mangues soient d'origine malgache ou étrangère. Ainsi ces HE ont des propriétés fongicides vis-à-vis de *Fusarium globosum*, *Fusarium verticillioides*, *S16* et *C. asianum*. Pareils résultats confirment les récits de la littérature sur les activités inhibitrices de l'HE de girofle et de l'HE de menthe vis-à-vis de la croissance mycélienne de nombreux pathogènes post-récoltes dont le genre *Fusarium*, *Aspergillus*, *Botrytis* et *Colletotrichum* (Cruz et al., 2013; Daferera et al., 2003; Gupta et al., 2011; La Torre et al., 2014; Perumal et al., 2016a).

Quel que soit le chemotype utilisé, 20µL d'HE de ravensare induisent une inhibition faible (ou inexistante) et réversible de la germination conidienne et de la croissance mycélienne. Cette réversibilité suggère que sa toxicité est de nature fongistatique et non fongicide. Les HE de cette espèce demandent certainement des modalités d'application plus perfectionnées et plus adaptées à des HE d'une volatilité élevée. Il est clair qu'une dose très élevée est nécessaire. Il faudra probablement augmenter la dose d'HE utilisée, sachant que lors du screening préliminaire, 500µL ne suffisaient pas entraîner une inhibition totale (100%) de la germination conidienne, appressoriale ainsi que de la croissance mycélienne de *C. gloeosporioides*. Ses propriétés totalement inhibitrices de la germination de graines de cressons, d'ambériques et de riz (Andrianjafinandrasana et al., 2013) suggèrent qu'une atmosphère confinée donnerait de bons résultats in vitro, mais il sera nécessaire de moduler le flux gazeux (O₂/CO₂), la température et l'humidité dans la mesure où la gestion de ces paramètres peut dégrader rapidement et donc compromettre la conservation des fruits et leur innocuité ou au contraire aide à maintenir la qualité post-récolte de ces derniers (Irtwange, 2006).

Comme pour *C. gloeosporioides*, le volume de l'HE utilisée peut ne pas avoir de pertinence en fonction de l'HE utilisée. Toutefois, cette hypothèse est valable dans le cadre des gammes évaluées dans ce dispositif, soit 0, 10 et 20µL. Il est probable, qu'au delà de cet intervalle, le volume de l'HE devienne un facteur déterminant pour la fongitoxicité de l'HE. Ainsi d'autres expériences sont nécessaires pour se prononcer sur ce sujet.

Dans toutes les combinaisons HE-pathogène que nous avons évaluées dans ce dispositif, l'interaction entre l'HE utilisée et son volume est un facteur déterminant pour la toxicité induite sur la germination conidienne et la croissance mycélienne. Cela viendrait

probablement du fait que chaque HE soit régie par sa propre dose-dépendance et sa propre spécificité (Amini et *al.*, 2012) et que la même gamme a été testée pour toutes les HE et sur toutes les espèces. Ainsi, il est possible, que l'utilisation d'une dose plus éloignée de cette gamme ait une répercussion déterminante sur l'intensité de l'inhibition observée et par conséquent transfère la fongitoxicité de l'HE dans une catégorie comparable, sinon meilleure que d'autre. Toutefois, comme l'applicabilité et l'efficacité à une dose minimale est un critère décisif pour un bon traitement alternatif post-récolte, l'HE de girofle demeure le candidat le plus prometteur et ce dispositif a permis de réduire la quantité d'HE nécessaire.

2. La fongitoxicité in vivo

Le dispositif pour évaluer l'efficacité des HE dans la protection des fruits contre les maladies post-récoltes a été mis au point à partir des résultats in vitro. Les modalités efficaces dans ce contexte ont été appliquées dans un contexte de conservation des fruits, à savoir, plusieurs fruits mis ensemble, dans un volume 100 fois plus grand, une température plus basse et une hygrométrie plus élevée, étant donnée la température de la salle et le volume de fruit respirant constamment. Ainsi les évaluations ont démarré dans des contextes différents et sur la base de critères différents, dues à des différences aux niveaux des infrastructures :

- pour les essais à l'Île de La Réunion, l'expérience a été dans un dispositif où les paramètres environnementaux sont totalement contrôlés (chambre froide, 20°C). Pour les essais sur les fruits malgaches, les essais ont été certes menés en hiver et à température ambiante donc en saison froide mais la température de la salle oscillait entre 8 et 21°C.

- les essais sur les mangues réunionnaises ont été effectués sur une variété de fruits collectés une heure avant les essais, au stade précoce (point jaune) et la maladie a été induite par inoculation d'une souche de référence, déjà bien connue et bien étudiée de l'Université de Louvain et dont le comportement est plus facilement modelable. Les essais sur les fruits malgaches ont été effectués sur des fruits cueillis trois jours plutôt (un jour pour le voyage et la cueillette, un jour pour le transport et un jour pour démarrer la manipulation) sur une variété différente (pour les mangues) et dont la contamination est naturelle (n'a pas été induite dans la mesure où nous n'avons pas réussi à mettre au point un protocole d'inoculation adapté aux souches évaluées in vitro).

- Ainsi, les critères d'évaluation de l'efficacité des HE pour la protection des fruits contre les maladies post-récoltes ne sont pas les mêmes entre les deux dispositifs. Dans le dispositif réunionnais, chaque traitement a été évalué par rapport à sa capacité à inhiber le développement de l'antracnose induite sur les mangues Cogshall (sévérité de la maladie) et

dans le dispositif malgache, chaque traitement a été évalué par rapport à leur capacité à inhiber l'apparition de maladies post-récoltes sur les fruits (incidence de maladies post-récoltes).

Dans ce cadre, les résultats obtenus avec les traitements ne peuvent être discutés à titre comparatif entre les deux dispositifs. Toutefois, ils peuvent être interprétés en relation avec la pertinence de chaque HE en traitement alternatif post-récolte contre les maladies des fruits tropicaux. Les deux dispositifs ont donné des résultats totalement différents :

- dans le dispositif sur les fruits malgaches, l'incidence de maladies post-récoltes varie largement d'un individu à l'autre pour les fruits non traités avec les HE., ce qui a mené à une valeur très élevée d'écart-type entre les moyennes de chaque traitement (HE de girofles malgaches et témoins non traités). Les fruits semblaient pourtant homogènes au départ de l'expérience. Ce qui conduit à penser qu'il y a un paramètre mal connu, autre que la maturité du fruit, qui joue un rôle déterminant dans la contamination des fruits par les pathogènes. Bien que les fruits aient été soumis aux conditions du milieu (température et hygrométrie naturelle), les conditions ont été les mêmes pour tous les traitements. L'hypothèse la plus probable serait que le taux de contamination naturelle du fruit par les spores du pathogène étaient très variables d'un fruit à l'autre. Plusieurs répétitions de l'expérience ont mené à la conclusion que l'augmentation de la taille de la population testée ne suffit pas à compenser cet obstacle.

- dans le dispositif sur les mangues réunionnaises, la sévérité de l'antracnose post-récolte (estimée à partir de la surface moyenne des lésions) diminue significativement entre le traitement avec 500µL d'HE de girofle malgache et les témoins non traités et cette différence se maintient tout en augmentant avec le temps. Ainsi l'HE de girofle malgache peut freiner le développement de l'antracnose sur les fruits. Ce qui est en concordance avec les résultats obtenus par d'autres chercheurs sur d'autres mangues, d'autres maladies de la mangue comme la pourriture due à *Botrytis cinerea* (Perumal et al., 2016b) ou à *Fusarium verticillioides* (Roselló et al., 2015) . Toutefois, la comparaison de ces résultats avec ceux obtenus avec les fongicides déjà disponibles sur le marché donnerait plus de poids à cette découverte (Kuo et al., 2014). Ainsi, l'HE de girofle inhibe de façon significative le mildiou sur les raisins mais moins efficacement que les produits de référence chimique d'usage sur le marché (La Torre et al., 2014) et l'HE de thym inhibe de façon plus efficace l'antracnose sur les avocats (Bill et al., 2014)

- quel que soit le dispositif, il y a une diminution nette de l'efficacité des HE. En gros, la toxicité des HE est plus efficace dans un contexte *in vitro* que dans le contexte *in vivo*. Cela pourrait s'expliquer par la nature lipophile des HE. Elles se retrouveraient alors piégées dans la membrane cellulaire en réagissant avec les lipides membranaires ; ou bloquées par le complexe formé par les protéines membranaires et les composés phénoliques de l'HE ou entravés par la concentration cellulaire en eau plus élevée des fruits (Omidbeygi *et al.*, 2007). L'HE resterait alors en surface, ce qui permettrait aux pathogènes de croître par voie intercellulaire sous la peau des fruits.

Le manque de temps nous a empêché de travailler sur la pertinence d'une dose plus élevée mais étant donné la dose-dépendance de la fongitoxicité de l'HE de girofle (Pilar Santamarina *et al.*, 2016), augmenter le volume d'HE utilisé devrait permettre d'obtenir une inhibition plus importante, voire meilleure que celle obtenue avec les fongicides commerciaux (Sitara *et al.*, 2008; Soković *et al.*, 2009). Par ailleurs, les lipides contenus dans les membranes cellulaires du fruit pourraient réagir avec les molécules fongitoxiques contenues dans les HE et ainsi réduire leur efficacité (Omidbeygi *et al.*, 2007).

Il est aussi possible que les effets inhibiteurs des HE ne se maintiennent pas longtemps dans la mesure où celle-ci est appliquée avant le développement de la maladie pour être ensuite retirée du système. L'HE perturberait alors temporairement le développement du pathogène qui retrouverait son équilibre quelque temps après que l'HE soit retirée du système. Dans le traitement des insectes nuisibles, ce cas est appelé « effet knock-down » (Adorjan and Buchbauer, 2010). Ainsi un bon traitement devrait être appliqué après que la maladie ait commencé à se développer et devrait être maintenu plusieurs jours afin de causer des dommages irréversibles sur le pathogène. Toutefois, des expériences ont révélé qu'au delà de 500ppm pour les concentrés de tomate (Omidbeygi *et al.*, 2007), 2200ppm pour les graines de coton (Frag et *al.*, 1989) , le girofle change de façon significative les traits organoleptiques des fruits traités avec elle. En effet, en plus de la quantité qui serait absorbé par le fruit, une quantité résiduelle d'Eugénol peut rester sur le fruit après traitement. Une possibilité de contourner ce problème serait le recours à la ventilation des produits traités avec l'HE dans la mesure où ce traitement a donné des résultats prometteurs sur des graines stockées (Angioni *et al.*, 2016).

L'utilisation d'un mélange d'HE devrait aussi donner de meilleurs résultats contre le développement de maladies post-récoltes sur les fruits, la toxicité de certaines HE augmente quand elle est utilisée en combinaison avec une autre. Le manque de temps et de moyen nous a empêchés de réaliser cette expérience sur la conservation des fruits. Le choix des HE doit

être prudent dans ce cas de figure, dans la mesure où la combinaison avec une HE peut réduire voire inhiber la fongitoxicité d'une autre. A titre d'exemple, les activités des HE d'*Ocimum vulgare* et de *Thymus vulgaris* s'additionnent, celles des HE de *Lippia multiflora* et de *Mentha piperita* sont synergiques, et celles des HE de *Cinnamomum zeylanicum* et d'*Eugenia caryophyllata* sont antagonistes (Bassolé and Juliani, 2012; Fu et al., 2007).

Le recours à un coating devrait aussi améliorer grandement les performances des HE. En effet, en plus de contribuer à un meilleur échange gazeux entre le fruit et l'atmosphère, les coatings homogénéisent la distribution des gouttelettes d'HE sur le fruit, ils piègent les HE à proximité du fruit tout en s'interposant à un contact direct, qui pourrait être néfaste, entre celui-ci et l'HE. Il est important de noter que les coatings partent aux lavages, nettoyant ainsi le fruit de toute trace d'HE qui pourrait s'avérer toxique pour la consommation (Dhall, 2016). Ainsi, de plus grandes inhibitions de la sévérité de certaines maladies post-récoltes ont été obtenues en incorporant des HE dans des coatings. Telles sont les cas de :

- les extraits aqueux de feuilles de cœur de bœuf (*Annona reticulata*) ainsi que de feuilles et graines de papayes contre l'antracnose de la papaye, *C. gloeosporioides* (Bautista-Banos et al., 2003),
- l'HE de girofle contre la pourriture verte du citron causée par *Penicillium digitatum* (Shao et al., 2015),
- l'HE de menthe contre la pourriture des tomates cerises causée par *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* et *Rhizopus stolonifer* (Guerra et al., 2015).

L'application de ces traitements avant et après la récolte améliorerait encore plus la performance des HE dans la protection des fruits contre les maladies post-récolte. En effet, l'application de ces traitements au stade pré-récolte réduirait considérablement le taux de pathogène qui reste sur le fruit et qui pourrait mener à des maladies post-récolte (Ippolito and Nigro, 2000). Dans l'ensemble, les résultats obtenus lors de cette étude soulignent l'importance capitale de la formulation dans la mise au point d'un traitement alternatif post-récolte. Une perspective de recherche future serait l'investigation d'autre mode d'application ou même d'autres formes de produits étant donnée l'impact de ce choix sur l'intensité de l'effet fongicide recherchée et la fréquence d'application que cela demande (Backman, 1978).

IV. Conclusions

Cette partie de l'étude a montré que les HE malgaches ont des propriétés antifongiques contre les pathogènes post-récoltes des bananes, papayes et mangues, qui varient en fonction de l'HE utilisée et du volume de celle-ci. Pour les HE de ravensare, ces propriétés relèvent de la fongistaticité, soit la capacité à inhiber la croissance des champignons sans les tuer. Cette fongistaticité de l'HE de ravensare varie en fonction du type chimique de l'HE, donc en fonction du composant majeur de l'HE testée. Le type chimique de l'HE est donc un facteur limitant pour une exploitation de la toxicité des HE de ravensare dans la protection post-récolte des fruits tropicaux. Pour les HE de girofles malgaches, de girofles industrielles, de menthe industrielle, de géranium industriel, de thym industriel et un mélange industriel d'HE de girofles et d'HE de menthes, l'activité observée est de nature fongicide, c'est-à-dire, une aptitude à induire la mort du champignon phytopathogène.

Contre *Colletotrichum gloeosporioides*, un champignon phytopathogène post-récolte isolé à partir des mangues réunionnaises, ces propriétés antifongiques ont été observées in vitro contre la germination conidienne, la croissance mycélienne et la germination appressoriale et elles sont dépendantes de l'HE utilisée et de son volume. Elles se manifestent d'une concentration allant de 112.5 à 11125 μ L/L (10 à 1000 μ L) avec une inhibition allant de 20 à 100%. La plus grande inhibition a été obtenue avec les HE industrielles, ainsi que l'HE de girofles malgaches.

Contre *Colletotrichum asianum*, un champignon phytopathogène post-récolte isolé à partir des mangues de l'Université de Louvain, ainsi que contre trois souches de *Fusarium* isolées à partir des bananes, papayes et mangues malgaches (Planche 7), ces propriétés antifongiques ont été caractérisées in vitro, sur des milieux PDA contre la germination conidienne (Planche 8) et la croissance mycélienne (Planche 9). L'étude a montré que les HE de girofles malgaches et l'HE de menthe industrielle sont fongicides à une dose allant de 112.5 à 225 μ L/L (10 à 20 μ L), avec une inhibition allant de 60-100% et que les HE de ravensare sont soit inefficaces soit fongistatiques avec une dose allant de 112.5 à 225 μ L/L, avec une inhibition de 10-40%.

Appliquées sur les bananes, papayes et mangues malgaches en conservation (t° entre 8-21 $^\circ$ C), ces HE ne sont pas capables d'inhiber l'apparition de maladies post-récoltes (Planche 11). Par contre, appliquées sur des mangues réunionnaises en conservation à 20 $^\circ$ C,

l'HE de girofles malgaches diminue significativement la sévérité de l'antracnose (Planche 10).

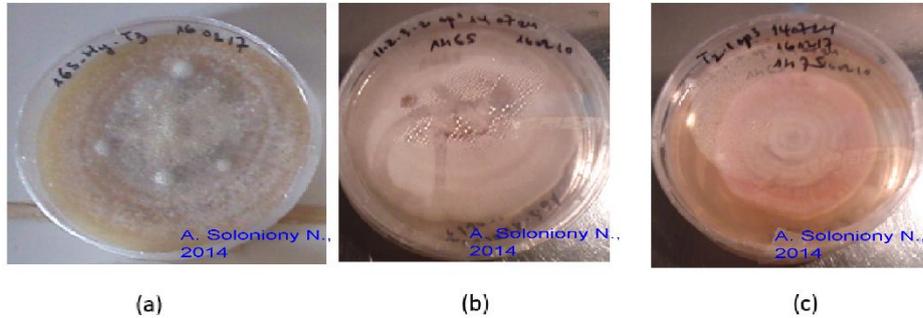


Planche 7: Photos des souches malgaches traitées avec les huiles essentielles, cultivées sur un milieu potato dextrose agar sans huiles essentielles (a): *Fusarium spp.* isolée sur les mangues ; (b) *Fusarium spp.* isolée sur les bananes; (c) *Fusarium spp.* isolée sur les papayes.

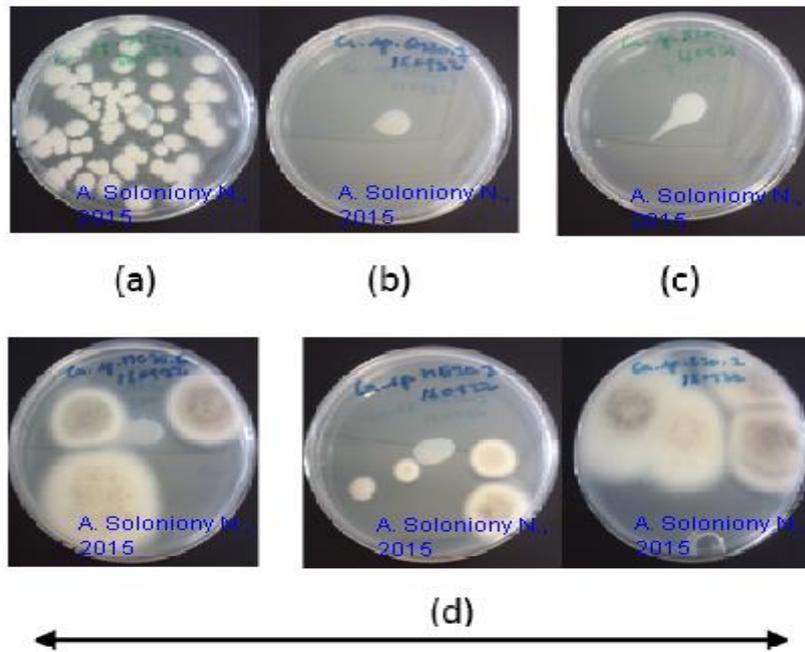


Planche 8: Photos de la germination conidienne de *Colletotrichum asianum* (a): sans huile essentielle; (b) avec l'huile essentielle de girofle ; (c) avec l'huile essentielle de menthe industrielle, (d) avec les huiles essentielles de ravensare.

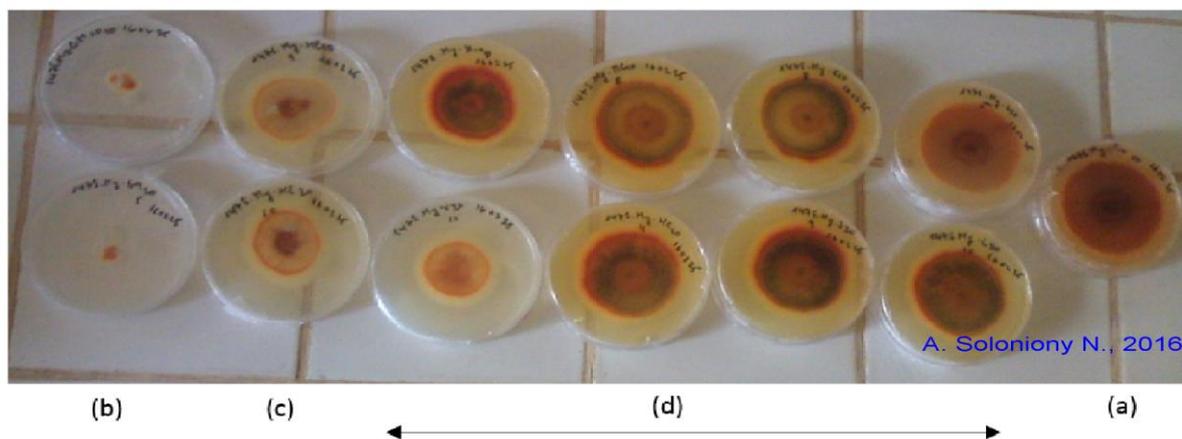


Planche 9: Photos de la croissance mycélienne de *Fusarium spp.* isolée sur les papayes (a): sans huile essentielle; (b) avec l'huile essentielle de girofles ; (c) avec l'huile essentielle de menthe industrielle, (d) avec les huiles essentielles de ravensare.

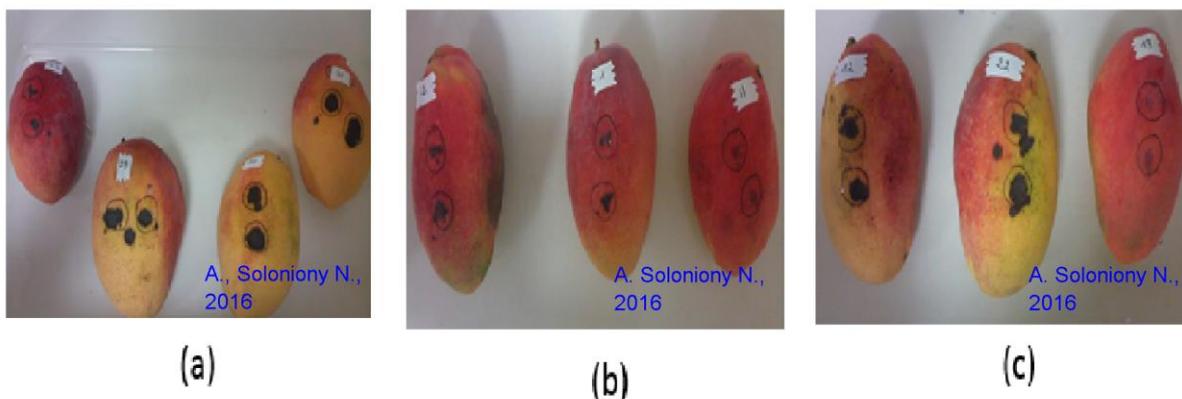


Planche 10: Sévérité de l'antracnose induite par *Colletotrichum asianum* sur des mangues : (a) non traitées à l'huile essentielle ; (b) traitées avec l'huile essentielle de girofles malgaches ; (c) traitées avec l'eugénol.

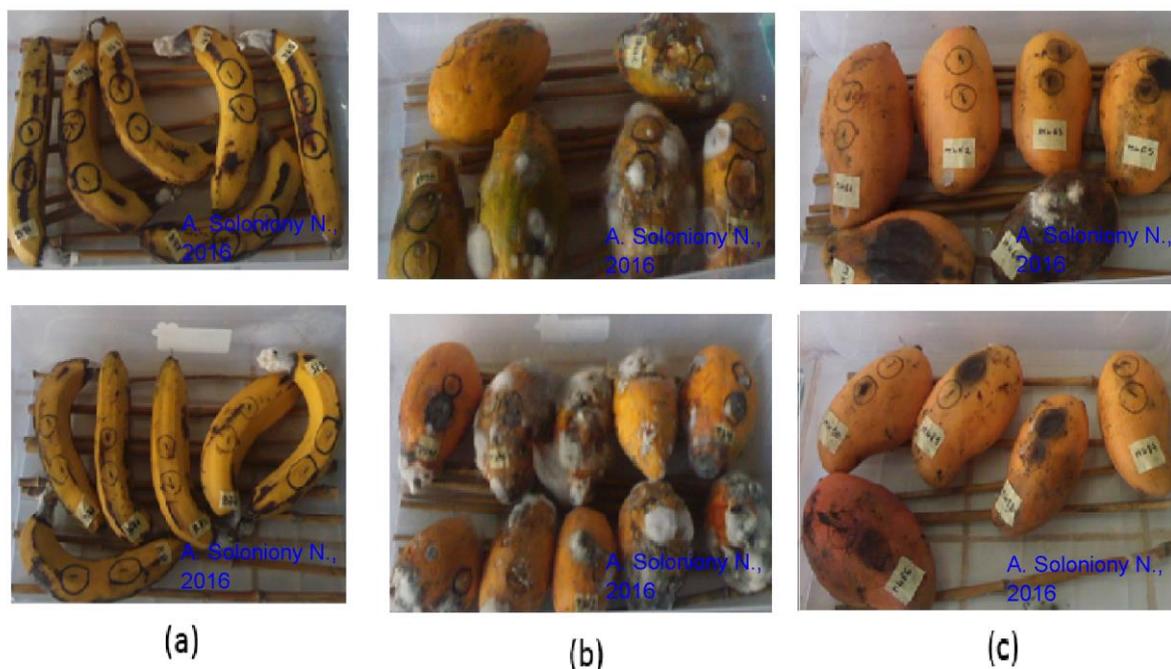


Planche 11: Incidence de maladies post-récoltes sur : (a) des bananes ; (b) des papayes ; (c) des mangues malgaches traitées à l'huile essentielle (en haut) et non traitées à l'huile essentielle (en bas).

Cette capacité des huiles essentielles à bloquer le développement des pathogènes post-récoltes des fruits tant in vitro que sur les mangues réunionnaises soulève la question de savoir quelles répercussion ces traitements pourraient avoir sur les fruits mais aussi, si ces effets se limitent exclusivement aux huiles essentielles choisies ? La troisième partie de cette étude déterminera premièrement les effets de ces traitements sur le fruit pour ensuite, défragmenter l'huile essentielle la plus pertinente et identifier la part de cette toxicité qui revient à son composant majeur, pour évaluer si d'autre huile essentielle ayant une composition analogue pourrait avoir les mêmes voies d'application.