



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET ECOLOGIE VEGETALES



Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en BIOLOGIE et ECOLOGIE
VEGETALES



Option : **PHYSIOLOGIE VEGETALE**



EVALUATION DES PROPRIETES ALLELOPATHIQUES DE
Ravensara aromatica Sonnerat OU *Cryptocarya* sp. SCHATZ
(LAURACEAE)

Présenté par :

ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra

Maîtres ès Sciences

Soutenu publiquement le : 18 Décembre 2008

Devant la commission d'examen composée de :

Président : Pr RAMAVOVOLOLONA

Rapporteurs : Dr RATSIMIALA RAMONTA Isabelle

Dr DANTHU Pascal

Examineur : Dr RAMAROSANDRATANA Ndriana Aro Vonjy

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET ECOLOGIE VEGETALES

Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en BIOLOGIE et ECOLOGIE VEGETALES
Option : PHYSIOLOGIE VEGETALE

EVALUATION DES PROPRIETES ALLELOPATHIQUES DE *Ravensara
aromatica* Sonnerat OU *Cryptocarya* sp. SCHATZ (LAURACEAE)

Présenté par :

ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra

Maitres ès Sciences

Promotion : KOLO-ALA

Soutenu publiquement le : 18 Décembre 2008

Devant la commission d'examen composée de :

Président : Pr RAMAVOVOLOLONA

Rapporteur : Dr RATSIMIALA RAMONTA Isabelle

Dr DANTHU Pascal

Examineur : Dr RAMAROSANDRATANA Ndriana Aro Vonjy

REMERCIEMENTS

Nous exprimons ici notre reconnaissance et nos sincères remerciements au Seigneur tout puissant, qui par son aide incomparable et sa haute bienveillance, nous a accordée la possibilité d'accomplir ce travail et d'arriver à terme.

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont apporté leur contribution à la réalisation de ce mémoire, qu'ils trouvent ici notre profonde gratitude, toute notre reconnaissance et nos sincères remerciements, ainsi que l'assurance de notre très haute considération, en particulier à :

∞ Madame RAMAVOVOLOLONA, Professeur titulaire, responsable du 3^{ème} cycle en Physiologie Végétale et responsable de la formation doctorale du département de Biologie et Ecologie Végétale de l'Université d'Antananarivo, qui dans sa bonté a accepté d'être président à notre soutenance et a corrigé rapidement mais consciencieusement ce mémoire ;

∞ Madame RATSIMIALA RAMONTA Isabelle, Maître de conférence et chercheur au laboratoire de Physiologie Végétale à l'Université d'Antananarivo, qui bien au-delà de son statut d'encadreur, nous a guidé tout au long de notre travail en nous prodiguant d'incalculables conseils et en nous accordant de son temps précieux ;

∞ Monsieur DANTHU Pascal, Docteur en Physiologie Végétale et coordinateur de l'unité de recherche en partenariat « Forêt et Biodiversité » de Madagascar, qui en plus de nous avoir proposé un sujet de recherche, a été un encadreur méticuleux et dévoué dont les directives et conseils ont été avisés et pertinents ;

∞ Monsieur RAMAROSANDRATANA Ndriana Aro Vonjy, Maître de conférence et chercheur au laboratoire de Physiologie Végétale de l'Université d'Antananarivo, qui a eu la gentillesse d'être notre examinateur ; et qui, intègre et sérieux, a effectué une correction hautement rigoureuse en un temps admirablement court;

∞ Madame ANDRIANOELISOA S. Hanitriniaina N., chercheur au sein de l'unité de recherche en partenariat « Forêt et Biodiversité » de Madagascar, ainsi que son assistant TSIRAHONANA Rafetrarivo et RAMIANDRISOA Diamondra F.T., stagiaire, pour leur incalculable concours dans la préparation des huiles essentielles et divers conseils ;

œ Madame **RALAMBOMANANA O. Mariette**, chercheur au sein de l'unité de recherche en partenariat « Forêt et Biodiversité » de Madagascar, qui nous a accueillie chaleureusement dans son laboratoire ;

œ Monsieur **MAÏER Ian**, un étudiant franco-allemand qui a travaillé avec nous, dans une partie des essais avec l'huile à méthyl chavicol,

œ Tous le personnel de l'unité de recherche en partenariat « forêt et biodiversité » de Madagascar, en particulier **RAHAJANIRINA Voninavoko Voahirana**, **LEONG POCK TSY Jean Michel** et toute l'équipe de Biologie moléculaire du CIRAD Ambatobe pour leur coopération ;

œ Tout le personnel de la faculté de Sciences d'Antananarivo, en particulier le personnel enseignant, et surtout celui du Département de Biologie et Ecologie Végétale, pour la formation et l'appui technique dont nous avons bénéficié ;

œ Tous nos amis étudiants de la promotion **KOLO-ALA**, surtout **RASENDRAMIADANA Faramalala** pour les conseils et aides qu'elle nous a apportée ;

œ Toute la famille sans exception, surtout :

- nos parents pour leur présence, protection et soutiens moraux et financiers, sans oublier les conseils et corrections qu'ils nous ont donnée tout au long de notre parcours ;
- **nos sœurs**, qui ont été aux petits soins pour nous pendant la préparation de ce mémoire, et qui nous ont déchargée de bon nombre de nos responsabilités en plus des conseils et encouragements qu'elles nous ont apportée.
- **Notre frère**, qui nous a été d'un grand aide avec les statistiques et dans l'établissement des graphes en plus de ses encouragements perpétuels ;
- **Nos cousins**, qui de jour comme de nuit, nous ont assisté pour les départs et retours de missions et pour tout ce qui est souci informatique.

Puisse Dieu vous le rendre d'innombrable fois !

TABLE DES MATIERES

Page de titre	ii
Remerciements	iii
Table des matières	v
Liste des annexes	viii
Liste des tableaux	ix
Liste des figures	x
Liste des cartes	xii
Liste des photos	xiii
Liste des abréviations	xiv
Glossaire	xiv
Introduction	1
Généralités	4
I- Rappels sur le développement des plantules	4
I.1. La germination	4
I.2. L'organogenèse et la croissance	4
II- L'allélopathie	5
II.1. Les composés allélochimiques	6
II.1.1. Nature chimique des composés allélochimiques.....	7
II.1.2. Synthèse et libération des composés allélochimiques.....	7
II.1.3. Toxicité des composés allélochimiques.....	8
II.2. Mécanismes d'action.....	9
II.3. Intérêts pratiques	11
II.4. Bilan	11
III- Les huiles essentielles	12
III.1. Définitions.....	12
III.2. Obtention.....	12
III.3. Identification.....	13
III.4. Utilisations modernes	13

IV-	Présentation de <i>Ravensara aromatica</i>.....	14
	IV.1. Position systématique	14
	IV.2. Description biologique et écologique.....	15
	IV.2.1. Morphologie	15
	IV.2.2. Reproduction	16
	IV.2.3. Biogéographie	17
	IV.3. L'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i>	17
	IV.3.1. Propriétés physiques et organoleptiques.....	17
	IV.3.2. Composition chimique	18
	IV.3.3. Vertus thérapeutiques	18
	 Matériel et Méthodes.....	 19
I-	Matériel végétal	19
	I.1. La récolte de <i>Ravensara aromatica</i>	19
	I.1.1. Site de récolte	19
	I.1.2. Méthodes de récolte.....	20
	I.2. Les espèces modèles.....	22
II-	Protocole expérimental	23
	II.1. Extraction et analyse des huiles essentielles.....	23
	II.2. Evaluation des propriétés allélopathiques des huiles essentielles.....	24
	II.2.1. Détermination de l'impact de l'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur la germination (Dispositif 1).....	25
	II.2.2. Détermination de l'impact de l'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur l'émergence des plantules (Dispositif 2)....	26
	II.2.3. Détermination de l'impact de l'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur des plantules saines (Dispositif 3)	27
	II.3. Traitement et analyse des données..	28
	 Résultats et Interprétation	 29
I-	Impact de l'huile sur la germination.....	29
	I.1. Cas du riz	30
	I.1.1. Application en aérosol.....	30
	I.1.2. Application directe en solution.....	31

I.2. Cas du cresson	32
I.2. 1. Application en aérosol	32
I.2. 2. Application directe en solution	33
I.3. Cas de l'ambérique	34
I.3.1. Application en aérosol.....	34
I.3.2. Application directe en solution.	35
I.4. Conclusions.....	36
II- Effet de l'huile sur l'émergence des plantules	37
II.1. Cas du riz	38
II.1.1. Application en aérosol.....	38
II.1.2. Application directe en solution	39
II.2. Cas du cresson	40
II.2. 1. Application en aérosol	40
II.2. 2. Application directe en solution	41
II.3. Cas de l'ambérique	42
II.3.1. Application en aérosol	42
II.3.2. Application directe en solution	43
II.4. Conclusions.....	44
III- Effet de l'huile sur des plantules développées.....	46
III.1. Cas du riz	47
III.1.1. Application en aérosol.....	47
III.1.2. Application directe en solution	48
III.2. Cas du cresson	49
III.2. 1. Application en aérosol	49
III.2. 2. Application directe en solution	50
III.3. Cas de l'ambérique	51
III.3.1. Application en aérosol	51
III.3.2. Application directe en solution	52
III.4. Conclusions.....	53
Discussion	55
1. Les effets allélopathiques attribués à l'espèce.....	55
2. La variation de l'effet allélopathique en fonction de la concentration de l'huile.....	58

3. La variation de l'effet allélopathique en fonction du mode d'application de l'huile	59
4. La variation de l'effet allélopathique en fonction du chémotype de l'huile.....	60
5. La variation de l'effet allélopathique en fonction de l'espèce modèle.....	61
6. L'interaction des paramètres étudiés dans les résultats obtenus.....	63
Conclusions générales et Perspectives	64
Références bibliographiques	66
Annexes	I
Summary.....	IX
Résumé	X

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Moyennes des températures et des précipitations mensuelles selon la station météorologique d'Ampandrianomby.....	I
Annexe 2 : Composition chimique des huiles essentielles de <i>Ravensara aromatica</i> Utilisée.....	II
Annexe 3 : Données relatives aux moyennes des GR et DG 50 ayant servies à l'établissement des graphes pour l'impact de l'huile sur la germination.....	III
Annexe 4 : Données relatives aux moyennes des taux de plantules cotylédonaires ayant servies à l'établissement des graphes pour l'effet de l'huile sur l'émergence des plantules.....	V
Annexe 5 : Données relatives aux moyennes des taux de plantules saines, endommagées et mortes ayant servies à l'établissement des graphes pour l'effet de l'huile sur des plantules développées.....	VII

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Concentrations de l'huile essentielle utilisées pour chaque traitement	28
Tableau 2: Analyse type III Somme des carrées (Sum of Squares) du Variable « Germination Relative » et « Délai de Germination 50 (j) ».....	29
Tableau 3: Impacts des chémotypes de l'huile essentielle de <i>R. aromatica</i> sur la germination des graines de chaque espèce testées.....	36
Tableau 4: Analyse type III Somme des carrées (Sum of Squares) de la Variable "Plantules au stade cotylédonaire".....	37
Tableau 5: Impacts des chémotypes de l'huile essentielle de <i>R. aromatica</i> sur la L'émergence des plantules de chaque espèce testées.....	45
Tableau 6: Analyses Type III Somme des carrées (Sum of Squares) de la Variable "Plantules intactes", "Plantules endommagées" et "Plantules mortes".....	46
Tableau 7: Impacts des types chimiques de l'huile essentielle de <i>R. aromatica</i> sur des plantules de sept jours de chaque espèce testées.....	54

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Structure schématique d'une graine d'Angiosperme.	5
Figure 2 : Diagramme ombrothermique de GAUSSEN de la région de Didy.....	20
Figure 3 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur la germination des semences de riz mesuré par la germination relative et le délai de germination 50	30
Figure 4 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur la germination des semences de riz mesuré par la germination relative et le délai de germination 50	31
Figure 5 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur la germination des semences de cresson mesuré par la germination relative et le délai de germination 50.....	32
Figure 6 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur la germination des semences de cresson mesuré par la germination relative et le délai de germination 50.....	33
Figure 7 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur la germination des semences d'ambérique mesuré par la germination relative et le délai de germination 50.....	34
Figure 8 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur la germination des semences d'ambérique mesuré par la germination relative et le délai de germination 50.....	35

Figure 9 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur l'émergence des plantules de riz au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques.....	38
Figure 10 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur l'émergence des plantules de riz au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques.....	39
Figure 11: Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur l'émergence des plantules de cresson au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques.....	40
Figure 12 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur l'émergence des plantules de cresson au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques	41
Figure 13: Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur l'émergence des plantules d'ambérique au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques.....	42
Figure 14 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur l'émergence des plantules d'ambérique au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques.....	43
Figure 15: Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur des plantules de riz au bout de deux jours d'incubation suivis de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes.....	47

Figure 16 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur des plantules de riz au bout de deux jours d'incubation suivis de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes.....	48
Figure 17 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur des plantules de cresson au bout de deux jours d'incubation suivis de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes.....	49
Figure 18 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur des plantules de cresson au bout de deux jours d'incubation suivis de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes.....	50
Figure 19 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur des plantules d'ambérique au bout de deux jours d'incubation suivis de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes.....	51
Figure 20 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de <i>Ravensara aromatica</i> sur des plantules d'ambérique au bout de deux jours d'incubation suivis de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes.....	52

LISTES DES CARTES

Carte 1 : localisation du site de collecte (en bleu) dans la région d'Alaotra-Mangoro.	21
--	----

LISTES DES PHOTOS

Photo 1: Pied adulte de <i>Ravensara aromatica</i> Sonnerat	16
Photo 2: Un alambic artisanal du FOFIFA qui a servi à l'extraction d'huile essentielle de <i>R. aromatica</i>	23
Photo 3: Dispositif n°1 évaluant l'impact de l'huile essentielle de <i>R. aromatica</i> appliquée en aérosol sur la germination du riz.....	25
Photo 4 : Dispositif n°2 évaluant l'impact de l'huile essentielle de <i>R. aromatica</i> appliquée en solution aqueuse sur l'émergence des plantules d'ambériques.....	26
Photo 5 : Dispositif n°3 évaluant l'impact de l'huile essentielle de <i>R. aromatica</i> appliquée en aérosol sur des plantules d'ambériques.....	27
Photo 6 : Etats de croissance des semences d'ambérique au bout de 4 jours d'incubation avec l'huile à méthyl- chavicol de <i>Ravensara aromatica</i>	44
Photo 7 : des tiges désintégrées d'ambérique sur les quelles se sont formées des racines adventives (en bleue et en rose sur les photos).....	53
Photo 8 : Etats des plantules d'ambérique au bout de 2 jours d'incubation avec l'huile à méthyl chavicol de <i>Ravensara aromatica</i> appliquée en aérosol.....	53

LISTES DES ABRÉVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

ATP : Adénosine Triphosphate

ANOVA : Analysis of variance

DG 50 : Délai de germination 50

FOFIFA : Foibem-pirenena ho an'ny Fikarohana momba ny Fampanandrosoana ny Ambanivohitra

GR : Germination Relative

OCDE : Organisation pour la Coopération économique et le Développement

NIRS : Near Infra -Red Spectroscopy

GLOSSAIRE

Chémotype : c'est le type chimique d'une plante. Il est déterminé à partir de l'analyse chimique de ses métabolites secondaires, soit de l'identité chimique du composant ayant la plus grande proportion ou composant majeur.

Corrosive : se dit d'une substance qui attaque les matériaux avec lesquels elle est en contact direct, fait souvent référence à la propriété d'une substance d'attaquer la peau humaine.

Hermétique : privé de toute échange avec le milieu extérieur, que ce soit des gaz, des substances de toute sorte ou des nutriments. Il s'agit d'un système fermé à tout contact avec un ou plusieurs facteurs du milieu extérieur. On parle souvent d'herméticité à quelque chose.

Photoréactive : qui réagit à la lumière, qui change au contact de la lumière.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La préservation de la biodiversité ainsi que des écosystèmes qui les abritent constitue un défi qui tient à cœur l'homme du 20^{ème} siècle. Or, cette préservation ne peut se faire que par le biais de la valorisation des espèces ou autres structures y afférents, en d'autre terme par l'existence d'intérêts financiers, en plus de ceux écologiques ou environnementaux associés à ces écosystèmes (RAKOTO, 2007). Nombreuses sont les investigations scientifiques qui ont pour but de montrer la valeur commerciale des espèces forestières sur le marché international. C'est ainsi que l'exploitation des plantes à huiles essentielles dont *Ravensara aromatica* qui fait l'objet de la présente recherche, a connu un essor particulièrement important ces dernières années (RASOANAIVO 1997, ANDRIANARISON et al, 2001). Cependant, l'exploitation rapide et incontrôlée de ces ressources forestières menace la survie de certaines espèces dans leur habitat naturel (ANDRIANARISON et al, 2001). Aussi, des investigations multidisciplinaires ont été menées pour connaître au mieux le fonctionnement de ces espèces au niveau autoécologique, synécologique et physiologique, contribuant de cette manière à améliorer leur exploitation, et assurer leur survie ainsi que leur disponibilité pour les générations futures.

C'est dans ce cadre que *Ravensara aromatica*, une espèce endémique de la forêt tropicale humide du Centre - Est de Madagascar, appartenant à la famille des Lauraceae, produisant une huile essentielle appréciée pour ses vertus thérapeutiques, fait l'objet de recherches. Sa composition chimique varie selon des types chimiques ou chémotypes dont la répartition n'a pu être reliée à la diversité génétique (ANDRIANOELISOA et al, 2006 et RAKOTO, 2007). Cette espèce se régénère plutôt mal et tarde à atteindre le stade adulte, ce qui incite les paysans récolteurs d'écorces et de feuilles à exploiter les jeunes individus (RANDRIAMPARANY, 2005 et RAZAFITSIAROVANA, 2007). De plus, elle cohabite difficilement avec *Uapaca densifolia* : les essences de l'une ne peuvent se développer là où l'autre est présent en nombre (RANDRIAMPARANY, 2005). Ces observations suggèrent l'existence d'un phénomène allélopathique entre ces deux espèces.

L'allélopathie est l'exclusion d'une espèce par une autre par libération de substances chimiques dans le milieu (RICE, 1984). Elle se manifeste souvent par la dominance d'une espèce sur d'autres ou par l'exclusion d'une espèce par une autre

(LAWRENCE et al, 1991 ; CALAWAY et al, 2000 ; RIDENOUR, 2001 ; HIERRO et al, 2003 ; JEFFERSON et al, 2003 ; PENG et al, 2004 et BOUSQUET-MELOU et al, 2005).

Le présent travail vise à tester et à évaluer les éventuelles activités allélopathiques de *Ravensara aromatica* et par la même occasion compléter au mieux les informations scientifiques la concernant. L'allélopathie pourrait avoir un impact sur la dynamique de cette espèce et celle de la forêt qui l'abrite (REINHARDT et al, 1999 ; CHOU, 1999 et CABOUN, 2006). Les résultats de cette recherche pourraient aider à comprendre et à résoudre en partie les problèmes de régénération de cette espèce et ceux des écosystèmes dont elle fait partie (PENG et al, 2004 et CABOUN, 2006). Par ailleurs, les composés allélopathiques sont connus pour avoir des propriétés inhibitrices de la germination et de la croissance des espèces sur lesquelles ils agissent (SOAREZ. 2000, MORADSHASHI et al. 2003), ces propriétés pourraient conduire à la découverte de nouveaux bioherbicides (DUDAL et al, 1999).

C'est dans ce sens que la présente recherche trouve son intérêt, elle a pour objectif de déterminer :

- ☞ les propriétés allélopathiques de l'espèce *Ravensara aromatica* via son huile essentielle ;
- ☞ la sensibilité des espèces testées à son huile essentielle, à différents stades de développement
- ☞ l'influence de divers chémotypes de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur cette propriété allélopathique.

Des études antérieures ont montré que les composés solubles possèdent souvent des propriétés allélopathiques (VYVYAN, 2002). Suite à cette constatation, trois espèces ont été choisies pour tester l'effet de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica*, qui dans ce cas est vue comme un mélange de molécules. L'effet allélopathique est évalué sur trois stades de développement d'une plante sur laquelle *Ravensara aromatica* pourrait agir via son huile essentielle : la germination, l'émergence des plantules et des plantules saines. Il est à noter cependant que notre étude se limite à des jeunes plantules de 0 à 7 jours.

L'effet de trois chémotypes d'huile est étudié sur quatre gammes de sept concentrations d'huile essentielle appliquées en aérosol et par imbibition dans le support de culture. Leur impact :

- sur la germination est mesuré par la germination relative et le délai de germination 50 ;
- sur l'émergence des plantules est mesuré par la proportion de graines converties en plantules conformes ;
- sur des plantules développées est mesuré par la proportion de plantules intactes, endommagées et mortes en fin d'expérience.

Bien au-delà de tout intérêt purement physiologique, la portée de cette étude concerne à la fois :

- l'écologie : avec des propriétés allélopathiques, *Ravensara aromatica* pourrait jouer un rôle important dans la dynamique forestière ;
- l'horticulture : avec des propriétés allélopathiques, *Ravensara aromatica* pourrait être utilisée pour contrôler le développement des espèces horticoles et ainsi obtenir un paysage bien déterminé ;
- l'environnement et l'agriculture : avec des propriétés allélopathiques, *Ravensara aromatica* pourrait être utilisée comme bioherbicide et limiter ainsi l'utilisation des produits chimiques.

GENERALITES

GENERALITES

I. Rappels sur le développement des plantules

I.1- La germination

Dans le cadre de cette étude, la germination désigne la percée d'une partie de l'embryon à travers le tégument, qu'il s'agisse de la radicule ou d'autres parties de l'embryon si tant est que cette partie soit la première sortie. C'est un concept qui fait référence au passage de la vie latente à la vie végétative (MAYER et al, 1963). Pour la graine d'orge, le processus se déroule en plusieurs étapes:

☞ La semence s'imbibe d'eau et les cellules de l'albumen sont remplies d'amidon.

☞ Cette rentrée d'eau induit la synthèse d'une petite quantité de gibbérellines au niveau de l'embryon, celles-ci se diffusent à travers l'albumen et atteint la couche d'aleurones.

☞ La gibbérelline induit la synthèse d'enzymes au niveau de la couche d'aleurones, dont des hydrolases et des amylases, qui désintègrent et liquéfient l'albumen.

☞ Durant ce procédé, sont formées des cytokinines et des auxines qui induisent la croissance de l'embryon en permettant la division cellulaire et l'accroissement de la taille des cellules.

☞ L'auxine s'accumule dans la partie basse du coléoptile induisant la courbure responsable du géotropisme négatif de la croissance de la radicule.

I.2- La croissance végétative

La germination passant par des phases de divisions et d'élongations cellulaires, est liée à la croissance.

Une chose est certaine : l'embryon entier est déjà formé dans la graine avant sa séparation de la plante mère (figure 1). Le(s) cotylédon(s) ou première(s) feuille(s), le coléoptile à l'origine de la tige et la radicule constituent l'embryon proprement dit.

Après la sortie de la radicule, souvent indicateur de la germination, les organes de l'embryon croissent par mères (division cellulaire) et par auxèse (élongation cellulaire). Lorsque l'embryon émerge du sol, la photosynthèse s'établit et l'apex synthétise les régulateurs de la croissance : auxine et gibbérelline (MAYER et al. 1963).

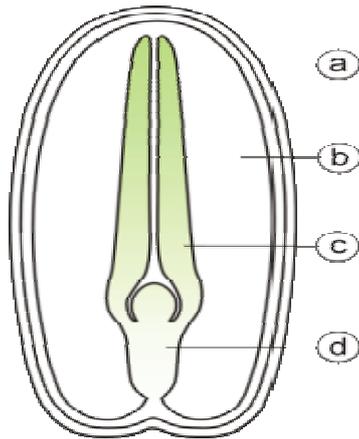


Figure 1 : Structure schématique d'une graine d'Angiosperme Dicotylédone (WIKIPEDIA).

a : tégument ; b : albumen ; c : cotylédon ; d : embryon

II. L'allélopathie

Le mot allélopathie dérive de mots latins : « allélon » qui veut dire « entre deux individus » et « pathos » qui signifie « souffrance ou dommages ou affection ». Il se réfère à l'inhibition chimique d'une espèce par une autre.

Le terme a été utilisé pour la première fois par MOLISH (1937) pour désigner tout effet direct ou indirect d'un composé chimique transféré d'une plante à une autre.

Plus tard, l'allélopathie est définie comme étant la capacité d'une plante à inhiber ou à stimuler la croissance et le développement des plantes avoisinantes par sécrétion de substances chimiques dans le milieu (RICE, 1984).

A partir de 1987, le terme fut utilisé pour des interactions entre des organismes différents des plantes (EINHELLIG, 1995)

De nos jours, c'est un terme communément utilisé pour décrire l'interaction chimique entre deux plantes (WEIR et al, 2004), mais beaucoup d'auteurs reconnaissent seulement les effets négatifs comme étant de l'allélopathie. Elle est vue comme une science multidisciplinaire, qui concerne à la fois les écologistes, les physiologistes, les généticiens et les chimistes (CHOU, 1999).

Pour parler d'allélopathie, trois critères doivent être remplis :

- ☞ l'agresseur (ou ses débris) doit produire ou contenir et relâcher des substances chimiques capables d'inhiber ou de stimuler la croissance ou les fonctions d'autres plantes une fois relâchées dans le milieu environnant ;
- ☞ ces substances doivent être distribuées et accumulées en concentration suffisante ;
- ☞ l'effet observé n'est pas explicable par d'autres facteurs (INDERJIT et al, 2003).

II.1- Les composés allélochimiques

Les composés allélochimiques sont des composés chimiques non nutritionnels produits par un organisme et qui affectent la croissance, la santé et le comportement ou la biologie d'autres organismes (REESE, 1979). Cette définition fait référence au rôle que tient un composé et non son identité chimique.

C'est un terme communément utilisé en allélopathie, probablement parce que de nombreux composés allélopathiques sont des allélochimiques. Il est utilisé pour désigner les médiateurs chimiques utilisés par une plante pour gêner d'autres plantes (GNIADOWSKA et al, 2005), qu'elles soient de son espèce ou non. Ainsi ces composés peuvent être autotoxiques ou seulement toxiques ou les deux à la fois (DUDAL et al, 1999).

II.1.1- Nature chimique des composés allélochimiques

Les composés allélochimiques peuvent être classés en plusieurs groupes :

- ☞ gaz toxiques : cyanides tels amygdaline ou linamarine, ammoniac, les huiles de la moutarde (allyl isothiocyanate), les monoterpènes volatiles tels la cinéole ou le camphre ;
- ☞ acides organiques et aldéhydes : tous des maillons du cycle de KREBS tels les acides aliphatique, malique, citrique, tricarboxylique, acétique et l'acétaldéhyde ;
- ☞ acides aromatiques : les dérivées de l'acide benzoïque tels l'acide vanillique et hydroxybenzoïque, les dérivés de l'acide cinnamique tels les acides coumarique, ferrulique, caféique et les aldéhydes aromatiques tel le benzaldehyde ;
- ☞ Lactones insaturés simples tels l'acide parascorbique et la patuline ;
- ☞ Coumarine ;
- ☞ Quinone : seulement la juglone ;
- ☞ Flavonoïdes : très peu tels la phlorizine et la diosmétine trioside ;
- ☞ Tanins : hydrolysables ou non tels les acides galliques, élagiques ;
- ☞ Alcaloïdes : caféine, cocaïne, quinine ;
- ☞ Terpénoïdes et stéroïdes : les monoterpénoïdes qui constituent les composants des huiles essentielles et aussi le groupe majeur des inhibiteurs comme la camphène et la pinène (PUTNAM, 1978 ; CHOU, 1999 et EINHELLIG, 1995).

II.1.2- Synthèse et libération des composés allélochimiques

Les composés allélopathiques sont synthétisés en cas de stress, pour lutter contre d'éventuels agresseurs biotiques tels les parasites (INDERJIT et al , 2003) ou abiotiques tels les stress hydriques ou salins (CHOU, 1999 et INDERJIT et al, 2003), ou en cas de compétition, en limitant les adversaires qu'ils soient de la même espèce ou non (RIDENOUR et al, 2001 et JEFFERSON et al, 2003) et en limitant ses propres dépenses énergétiques (CHOU, 1999).

Il est possible aussi que l'espèce les synthétise pour contrôler sa propre dynamique et aussi adopter un mode de distribution et de configuration spécifique (PUTNAM, 1978).

La synthèse des composés allélochimiques est régulée par les facteurs environnementaux tels la luminosité, la température, les micro-organismes et la teneur en éléments nutritifs comme le phosphore et l'azote du sol (INDERJIT et al, 2003).

Ces composés sont ensuite libérés au niveau de l'atmosphère par :

- volatilisation pour les composés terpénoïdes,
- exsudation racinaire pour les acides benzoïque, cinnamique et phénolique,
- lessivage pour les acides organiques, alcaloïdes et composés phénoliques,
- décomposition des résidus la plupart du temps par les micro-organismes du sol (PUTNAM, 1978).

II.1.3- Toxicité des composés allélochimiques:

L'acquisition du pouvoir toxique et la perte de celle-ci varient d'un composé à l'autre.

• Pour certains, le pouvoir toxique est acquis au moment de la synthèse (EINHELLIG, 1999) et pour d'autres, au moment du transfert vers la plante ou la zone cible. La transformation se fait alors par les facteurs du milieu : abiotiques tels la pluie et la température, ou biotiques tels les microorganismes du sol, les mycorhizes (INDERJIT et al, 2005).

• D'autres composés ne deviennent toxiques qu'une fois en contact avec la plante ou zone cible. En effet, ils ne sont pas vraiment toxiques en soi mais induisent plutôt des réponses toxiques à la plante. Ils simulent un état de stress au sein de la plante conduisant celle-ci à réagir en conséquence (WEIR et al, 2004).

La détoxification peut avoir lieu :

- au sein de la plante cible, on parle de résistance ou tolérance aux composés allélopathiques (INDERJIT et al, 2003 et WEIR et al, 2004) ;
- au niveau du sol par divers microorganismes et par les éléments du sol tels l'eau, les éléments minéraux (CHOU, 1999 ; WEIR et al, 2004 et INDERJIT et al, 2005).

Aussi, la nature allélopathique d'un composé dépend de la façon dont il est relâché dans l'environnement, de son action phytotoxique, de sa concentration bioactive, de sa persistance et de son destin dans l'environnement (INDERJIT et al, 2003 et JEFFERSON et al, 2003).

II.2- Mécanismes d'action

L'action allélopathique d'un composé n'est souvent pas le résultat d'un mécanisme spécifique mais plutôt la résultante de perturbations au niveau de plusieurs sites, et même certaines perturbations ne sont en fait que les conséquences de perturbations antérieures en d'autres zones (BURT, 2004).

La différence entre les effets de ces composés vient du choix des sites attaqués par chacun d'eux, perturbant ainsi des processus courants de la croissance et du développement d'une plante.

- La division, l'élongation et l'ultrastructure cellulaire (cas des alcaloïdes): ils interrompent l'anaphase, accumulent la métaphase, diminuent le taux d'élongation et favorisent l'expansion radiale tout en perturbant tous les membranes en les dépolarisant. Ils peuvent aussi agir en endommageant l'ADN et en perturbant leurs synthèses et celles des protéines, lipides et autres molécules.

- Les hormones (cas de la scopoletine, des isomères des acides chlorogéniques, des phénoliques): ils antagonisent l'activité des auxines et des acides gibbérélliques, oxydent et inactivent l'acide indole acétique qui a une action directe sur l'activité et la synthèse des autres hormones. Ils peuvent inhiber le transport des auxines.

- L'absorption des minéraux (cas des composés phénoliques): ils entraînent une baisse de l'absorption et de l'accumulation des minéraux, surtout le phosphore.

- La photosynthèse (cas des quinones): Ils inhibent la biosynthèse des chlorophylles a et b, diminuent le taux de photosynthèse en interagissant avec les composants du photosystème II, il s'agit donc d'une inhibition compétitive.

- La respiration (cas des flavonoïdes et de la coumarine): Ils inhibent l'absorption d'oxygène, l'activité des ATPases mitochondriales.

- Le métabolisme en général (cas des acides cinnamiques et féruliques): Ils inhibent le métabolisme des protéines, lipides et acides organiques ; de même que l'activité des enzymes spécifiques.

- Le statut hydrique (cas des saponines et des dérivés de l'acide benzoïques): Ils altèrent la fermeture des stomates, la solidité et la perméabilité des membranes par dépolarisation et diminuent le potentiel hydrique perturbant ainsi l'entrée et la sortie d'eau dans la cellule.

- Leur action est parfois indirecte. C'est le cas de :

- ☞ certains composés agissant en aidant d'autres, tels le glucose et le phénylalanine qui réduisent la détoxification de l'acide coumarique par les microorganismes et particules du sol.

- ☞ d'autres composés agissant en inhibant des organismes dont une plante a besoin tels les microorganismes assurant la décomposition des débris et donc de la fourniture en éléments nutritifs et minéraux. C'est le cas de certaines bactéries nitrifiantes et des champignons simples ou mycorhiziens (EINHELLIG, 1995 ; CHOU, 1999 ; PUTNAM, 1978 ; PADHY et al, 2000 ; MORADSHASHI et al, 2003 et WEIR et al, 2004).

II.3- Intérêts pratiques

L'étude des propriétés allélopathiques de nombreux végétaux ont donné naissance à plusieurs utilisations pratiques dont:

- ☞ le cadrage d'un modèle de distribution et de configuration spécifique aux espèces environnantes pour l'horticulture ;
- ☞ le contrôle du développement d'espèces envahissantes, des mauvaises herbes. De nombreux herbicides sont issus de la mise en valeur de la propriété allélopathique d'une espèce ;
- ☞ la prévention du pourrissement et de la germination des semences que l'on souhaite conserver ainsi que leurs désinfections ;
- ☞ la résolution de nombreux problèmes de régénération que ce soit en agriculture ou en forêt (PUTNAM, 1978 et NGUEFACK et al, 2005 et BELZ, 2007).

II.4- Bilan

Au début, l'allélopathie couvrait seulement les interactions plante-plante par des médiateurs chimiques, qu'elles soient positives ou non. Ensuite, seuls les effets négatifs d'une plante sur une autre furent admis dans le concept. Plus tard, toutes interactions chimiques entre individus, que ce soit de nature positive ou négative, que ce soit entre deux plantes ou entre des groupes différents soient inclus. Néanmoins, actuellement, la majorité des publications en allélopathie concerne des inhibitions plante-plante.

En ce qui concerne les applications technologiques :

- ☞ les plantes allélopathiques étaient utilisées auparavant comme plante accompagnatrice, ensuite comme compost, à la suite desquels, ses extraits furent utilisés comme herbicides.
- ☞ Puis les recherches furent axées sur le transfert intraspécifique de caractères allélopathiques. Enfin, les travaux ont porté sur le déterminisme chimique et génétique de l'allélopathie.

Les propriétés allélopathiques des végétaux ne sont pas encore suffisamment reconnues, au sein de la communauté scientifique moderne. En effet, de nombreux scientifiques se demandent si les composés allélochimiques sont suffisamment concentrés dans la nature pour induire un effet discernable des autres interactions négatives et il est possible aussi que des mécanismes de résistance ont co-évolué dans les deux plantes (WEIR et al, 2004).

III. Les huiles essentielles

III.1- Définition

Le terme dérive probablement du nom « essence », inventé au 16^{ème} siècle par un médecin suisse Paracelsus Von Honenheim pour désigner les composants d'une drogue issue de *Quinta essentia*. Appelé aussi huile volatile, le terme regroupe les liquides aromatiques huileux obtenus à partir d'une plante, et sont par conséquent volatiles (BURT, 2004).

III.2- Obtention

Les huiles essentielles sont obtenues par divers procédés dont : l'expression, la fermentation et l'enfleurage ou l'extraction.

Mais le procédé le plus courant est la distillation à la vapeur ou hydrodistillation pour extraire les huiles commerciales, bien que l'extraction par le dioxyde de carbone liquide à basse température et à pression élevée est favorable pour un meilleur profil organoleptique (BURT, 2004).

Les huiles essentielles doivent être conservées dans un récipient hermétique à l'ombre et à faible température pour prévenir le changement de la composition chimique (RAMIANDRISOA, 2008).

III.3- Identification

Une huile peut avoir plus de 60 composants appartenant à diverses classes chimiques. Les constituants ayant les plus grandes proportions, pouvant aller jusqu'à 85%, sont appelés « composants majeurs ». Le reste est présent à l'état de trace et est appelé « composant mineur ». Cependant, tous les constituants contribuent aux propriétés de l'huile et ce probablement d'une manière synergique (BURT, 2004 ; ANDRIANOELISOA, 2006 ; RAKOTO, 2007 et RAMIANDRISOA, 2008).

L'identification des composants se fait par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). C'est le composant majeur qui détermine le type chimique ou le chémotype de l'huile essentielle (MACIAS et al, 2001 ; OLESZECK et al, 2002 ; XUAN et al, 2005).

Toutefois, la composition peut être déterminée sous lumière infrarouge par la méthode NIRS (Near Infra-Red Spectroscopy) en cas d'insuffisance d'huile. La composition chimique de l'huile d'une espèce peut varier d'une saison à l'autre, d'une région à l'autre et ce, probablement du fait de leur formation à partir de précurseurs. Ainsi, plusieurs facteurs déterminent la qualité d'une huile essentielle : la variété botanique, l'origine de la plante, le matériel végétal, les conditions de la collecte et le processus de distillation. L'huile essentielle provenant d'une localité précise ne peut être attribuée d'un chémotype lorsque le composant majeur ne varie pas d'une génération à l'autre : à savoir la régénération, le repage et le bouturage (BURT, 2004 ; ANDRIANOELISOA, 2006 ; RAKOTO, 2007 et RAMIANDRISOA, 2008).

III.4- Utilisations modernes

Le marché actuel attache une très grande importance à la qualité de l'huile essentielle utilisée, qui doit être pure à 100%. L'identification complète doit comporter le nom courant, la partie utilisée, la variété botanique (en latin), la région et le pays d'origine de la plante, ainsi que la mention "Huile Essentielle 100% pure et naturelle".

Trois mille huiles essentielles sont connues à ce jour, et seulement 300 sont commercialement importantes. Elles servent dans :

- ☞ l'alimentation (arômes et conservateurs) ;
- ☞ la parfumerie (fragrances et après-rasage) ;
- ☞ la pharmacie pour ses propriétés fonctionnelles comme Antibactérien (en stomatologie), antiparasitaires, antiseptiques, antifongiques, antivirales,
- ☞ l'aromathérapie (environ 2% du marché) ;
- ☞ les suppléments nutritionnels ;
- ☞ la conservation post-récolte des pommes de terre commerciales (limitant les repousses) ou comme bioherbicides (BISHOP, 1995 ; OKA et al, 2000 ; PESSOA et al, 2002 ; BURT, 2004 ; KHANDRASEKHAR et al, 2004 ; WANG et al, 2004 ; CHENG et al, 2005 ; ASLAN et al, 2005 ; RAKOTO, 2007 ; RAMIANDRISOA, 2008 et ANDRIANOELISOA, Comm. Pers).

IV. Présentation de *Ravensara aromatica*

IV.1- Position systématique

Règne	: Végétale
Sous-règne	: Métaphytes
Embranchement	: Spermaphytes
Sous-embranchement	: Angiospermes
Division	: Magnoliophyta
Classe	: Magnoliopsida
Sous-classe	: Magnoliidae
Ordre	: Laurales
Famille	: Lauraceae
Genre	: <i>Ravensara</i>
Espèce	: <i>aromatica</i>

Noms vernaculaires : Avozo (Bezanozano, Betsimisaraka), Havozo (Sihanaka, Bezanozano, Tanala), Hazomangidy (Bezanozano, Betsimisaraka), Hazomanitra (Bezanozano), Hazomanga (Betsimisaraka, Bezanozano, Tanala, Taimoro), Laposinty ou Ilaposity (Merina, Bazanozano), Ravintsara (Betsimisaraka, Tsimihety, Taisaka), Tavolomanitra (Tanala), Voaravintsara (Betsimisaraka).

Synonymes de *Ravensara aromatica*

- ☞ *Agathophyllum aromaticum* Willd,
- ☞ *Agathophyllum ravensara* Mirbel,
- ☞ *Evodia aromatica* Poiret,
- ☞ *Evodia ravensara* Gaetner,
- ☞ *Laurus aromatica* Baillon,
- ☞ *Ravensara anisata* Danguy.

Le genre *Ravensara* fut inclus dans le genre *Cryptocaria*, vu la trop grande similitude entre les deux genres (SCHATZ, 2001).

IV.2- Description biologique et écologique

IV.2.1. Morphologie

Cinnamomum camphora (Ravintsara) et *Ravensara aromatica* (Avozo) appartiennent à deux genres très différents, même si elles appartiennent à la même famille et font l'objet de confusion depuis longtemps.

Ravensara aromatica est un arbre dont l'écorce, les feuilles et les fruits sont très odorants. C'est un arbre de 18 à 20 m de haut. Son tronc est muni de contrefort à l'âge adulte. Ses rameaux sont glabres, cylindriques et possèdent des bourgeons pubescents. Son écorce épaisse est parsemée de lenticelles rougeâtres. Elle est très aromatique, à goût amer et brûlant. Son bois est de couleur blanc jaunâtre. Les feuilles sont simples, alternes, elliptiques, coriaces et persistantes. Elles ont une face supérieure verte, lisse, et brillante, et une face inférieure terne. Le pétiole est épais, lisse et sans stipule.

L'inflorescence est une panicule axillaire, groupée au sommet des ramilles. Les fleurs sont petites, vertes, et garnies de poils dressés en insertion elliptique.

Les fruits sont drupacés, globuleux, atteignant un diamètre de 2,5cm ou plus, avec 6 côtes obscures contenant chacune une semence, apiculés, à base un peu aplatie. L'enveloppe aromatique du fruit est mince, charnue, lisse, avec un calice persistant. L'odeur est caractéristique, son goût est amer et très brûlant, dû à la présence d'eugénol (HUMBERT, 1950).



Photo 1: Pied adulte de *Ravensara aromatica* Sonnerat (RAMIANDRISOA, 2008)

IV.2.2. Reproduction

Dans la nature, la plante se reproduit uniquement par voie sexuée, mais son bouturage peut être facilement effectué. La floraison se situe entre le mois de décembre et janvier, la fructification se situe entre mai et juillet.

L'espèce est rencontrée sur les pentes moyennes ou abruptes et ses fruits, sont à graines barochores, c'est-à-dire, dispersées sous l'action de la pesanteur. Par conséquent, les plantules issues de la germination se rencontrent autour d'un rayon de 3 m jusqu'à 8 m des pieds-mères (RAKOTOMARO et al, 2000 dans RAMIANDRISOA, 2008).

La régénération de l'espèce est faible et elle est encore plus faible dans les lieux riches en cette espèce (RANDRIAMPARANY, 2005).

IV.2.3. Biogéographie

R. aromatica est localisée dans les forêts denses humides sempervirentes de basse et de moyenne altitude peu dégradées, où habitent les forêts d'Ampasina, Betanimainty, Morarano, Anosibe an'ala, Raboana et de Didy.

Son mode de distribution est variable selon les sites : il est de type agrégé et flagrante pour Raboana, mais reste un peu diffuse pour Anosibe an'ala et Didy .

Le mode de distribution de ces types chimiques dans chaque site se fait de façon aléatoire à l'image des individus sur le terrain. Cette distribution n'est pas non plus corrélée avec le type génétique. Tous les chémotypes ne sont pas présents dans tous les sites, à l'exception de Didy (JEANSON, 2006 ; RAKOTO, 2007 ; RAMIANDRISOA, 2008).

L'espèce présente une affinité pour les écosystèmes ayant les caractéristiques suivantes :

- ☞ Pluviométrie moyenne annuelle : 1600 mm,
- ☞ Température moyenne annuelle : 18 – 24°C,
- ☞ Texture et structure du sol: argileux et latéritique des plateaux, hydro morphes (bas-fonds forestiers), argilo sableux plus près de la côte, à moindre altitude, perméabilité moyenne ;
- ☞ Drainage : moyen à bon ;
- ☞ Forêt dense humide de moyenne altitude (1000 à 1400m) ;
- ☞ C'est une espèce qui pousse bien sur le versant jusqu'au sommet quelle que soit l'orientation (RAMIANDRISOA, 2008).

IV.3- L'huile essentielle de *Ravensara aromatica*

IV.3.1. Propriétés physiques et organoleptiques

L'huile essentielle de *Ravensara aromatica* est fortement corrosive, photoréactive, ses propriétés organoleptiques sont:

- ☞ Aspect : liquide mobile limpide.
- ☞ Couleur : transparent à jaune très pâle.

☞ Odeur : terpinolée, légèrement épicée et anisée (RAMIANDRISOA, 2008).

IV.3.2. Composition chimique

L'huile essentielle de *Ravensara aromatica* possède 56 composants chimiques en tout. Cinq chémotypes dont celui à méthyl-chavicol, celui à limonène, celui à méthyle eugenol, celui à sabinène et celui à terpinène sont connus à ce jour.

Ces cinq chémotypes sont répartis variablement à travers les sites. Ainsi, un chémotype peut être absent ou présent d'un site à l'autre et chaque site ne renferme pas les mêmes chémotypes (ANDRIANOELISOA, 2006).

IV.3.3. Vertus thérapeutiques

Ravensara aromatica n'est pas exploitée en tant que bois d'œuvre, mais pour son huile essentielle à laquelle des vertus thérapeutiques sont attribuées. L'huile essentielle de *Ravensara aromatica* est efficace contre les douleurs articulaires, les rhumatismes musculaires, le stress, l'insomnie, les maladies virales, les maladies infectieuses et les maladies bactériennes. Elle possède également des propriétés immunostimulantes, un fort pouvoir expectorant, elle est active contre les problèmes de peau tels que l'herpès (labial ou génital) et surtout le zona. Des vertus stimulantes et tonifiantes (physique et mentale) lui sont également attribuées (KALYX, 2004 et NATURESGIFT, 2004 in RAKOTO, 2007).

MATERIEL
et
METHODES

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel végétal

I. 1. La récolte de *Ravensara aromatica*

I.1.1. Site de récolte

Le site de récolte choisi est la forêt de Didy et ce choix repose sur la possibilité d'y rencontrer les chémotypes identifiés à ce jour. Tous les *R. aromatica* de cette forêt sont déjà répertoriées et leurs huiles essentielles déjà chémotypées. Nous avons jugé préférable de travailler sur un seul site pour limiter l'effet terroir, dans la mesure où l'espèce est connue pour avoir une variabilité chémotypique en fonction de l'espace. Ainsi, certains chémotypes peuvent être absents dans une forêt et présents dans une autre. Même dans une partie de la forêt où un chémotype est présent, la teneur en composants majeurs peut varier considérablement.

La forêt de Didy, appelée forêt d'Ambohilero, couvre une superficie de 113000 ha et est située à 53km d'Ambatondrazaka entre les longitudes 48°33' et 48°48' Est et les latitudes 17°55' et 18°27 Sud (carte 1) (RAMIANDRISOA, 2008). La forêt est rattachée au Fivondronana d'Ambatondrazaka, dans la région d'Alaotra- Mangoro et fait partie de la sous région nord du corridor forestier Zahamena- Ankeniheny (SAVAIVO, 1999).

La forêt de Didy est exposée aux alizés humides de l'Océan Indien, et est caractérisée par un climat chaud et humide de l'Est de Madagascar. Le temps est souvent brumeux pendant toute l'année, avec un ciel couvert et un hiver accompagné de pluies fines et fréquentes. Cette forêt est donc affectée par une pluviométrie annuelle supérieure à 1500mm (RAKOTO, 2006 et RAMIANDRISOA, 2008).

Les données climatiques de la commune rurale de Didy étaient obtenues auprès de la station météorologique d'Ampamdrianomby (annexe 1) à travers le diagramme ombrothermique de la région (figure 2).

La région présente trois saisons distinctes :

- ☞ La saison perhumide de trois mois qui s'étend entre janvier, février, mars.
- ☞ La saison humide de juillet à août.
- ☞ La saison sèche marquée du mois de septembre à celle de novembre et du mois d'avril à juin.

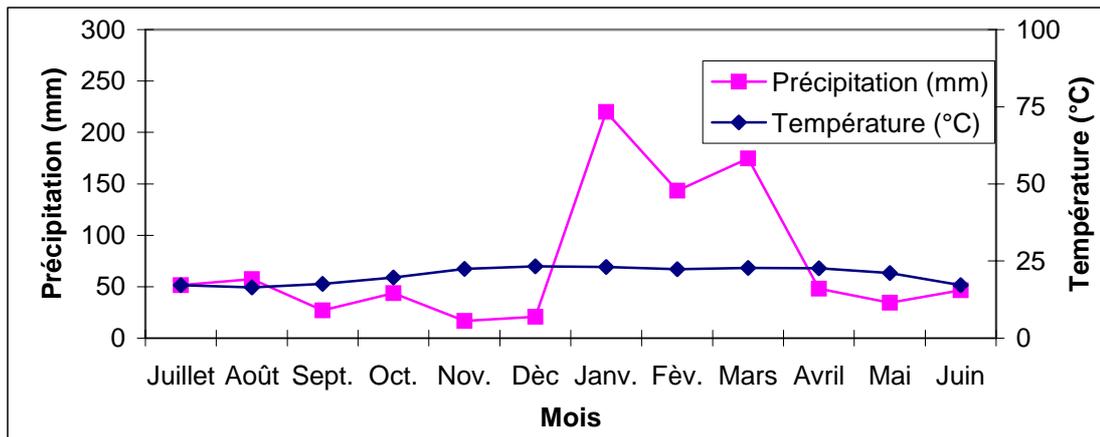
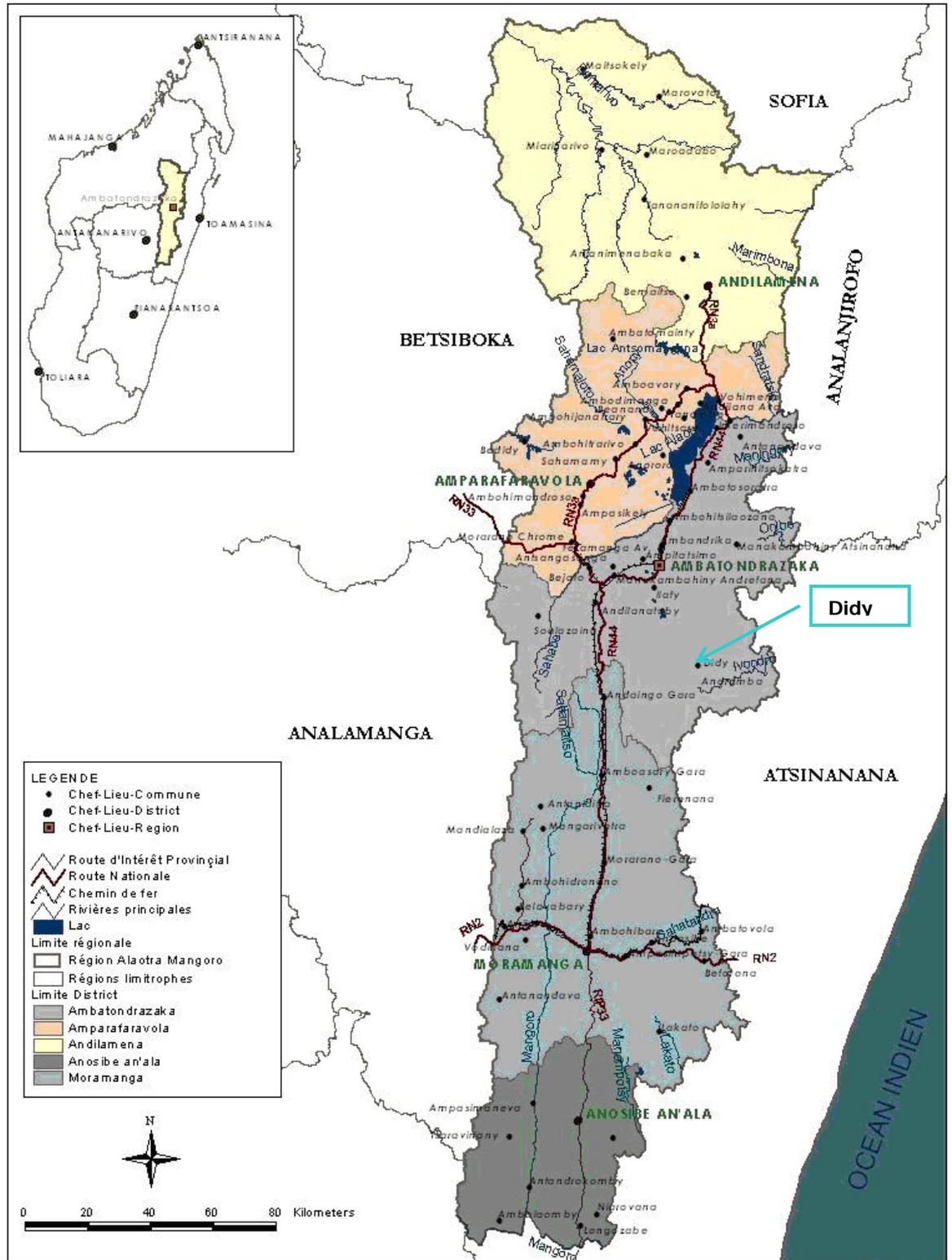


Figure n° 2 : Diagramme ombrothermique de GAUSSEN de la région de Didy de 1951 à 1980 (source : annexe 1)

I.1.2. Méthodes de récolte

Les feuilles fraîches issues d'individus matures de *Ravensara aromatica* (ans) ont été récoltées de février à mars 2008, à raison d'environ 3-12 kg par arbre. Cette quantité est le maximum qu'il est possible de prélever sans perturber le bon développement de la plante.

Ensuite, les feuilles sont mises dans des sacs à oignons avec de très grandes mailles favorisant l'aération pendant le transport. Elles sont directement soumises à l'extraction de l'huile essentielle dès l'arrivée à Antananarivo.



Carte 1 : Localisation de la forêt de Didy (en bleu) dans la région d'Alaotra-Mangoro

Source : FTM, Région Alaotra - Mangoro

II.2. Les espèces modèles

Les tests ont été réalisés sur trois espèces choisies parmi la liste de l'Organisation pour la Coopération Economique et le Développement (OCDE, 2006), qui exige que les espèces tests appartiennent à des groupes végétaux différents :

☞ *Oryza sativa*, un riz pluvial FOFIFA variété 161, est une monocotylédone appartenant à la famille des POACEAE. Cette variété est plus adaptée au contexte de l'étude que le riz irrigué.

☞ Connue sous le nom *Vigna vexillata* L. (aussi *Phaseolus vexillatus* L.), appartenant au groupe des Dicotylédones, à la famille des FABACEAE, l'ambérique est choisie pour sa bonne capacité germinative. C'est une légumineuse très appréciée dans la cuisine malgache connue sous le nom de « voan-tsiroko » (DU PUY et al, 2002).

☞ La dernière espèce est *Lepidium sativum* ou cresson alénois commun, appartenant au groupe des Dicotylédones, à la famille des BRASSICACEAE. Elle n'est pas mentionnée dans la liste de l'OCDE, mais est très couramment utilisée dans les tests de toxicité pour sa très grande sensibilité aux agents toxiques (EPPARD et al, 2005).

Les semences de riz proviennent du FOFIFA, celles de cresson étaient apportées de France.

Elles ont ensuite été conservées dans des sacs bien aérés et dans des endroits secs.

II. Protocole expérimental

II.1. Extraction et analyse des huiles essentielles

L'huile essentielle extraite de chaque individu était obtenue par hydrodistillation. La quantité de feuilles minimale étant de trois kilos, cette extraction était réalisée avec un alambic du FOFIFA (photo 2) dont la capacité maximale est de 12kg de feuilles fraîches toutes les quatre heures.

L'huile essentielle obtenue est séparée de l'eau florale par décantation et est déshydratée avec du sulfate de sodium anhydre. Le volume final est ensuite mesuré pour évaluer le rendement.

Après cela, l'huile est conservée dans des flacons de verre, ambrés et hermétiquement fermés. Ces flacons sont rangés dans une pièce fraîche, pour éviter toute réaction entre les composants chimiques de l'huile essentielle et la lumière, l'air et l'eau (Andrianoelisoa et al. 2006).

Les composants de chaque huile, ainsi que leurs teneurs relatives étaient déterminés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à un spectromètre de masse (SM) (Andrianoelisoa et al. 2006).

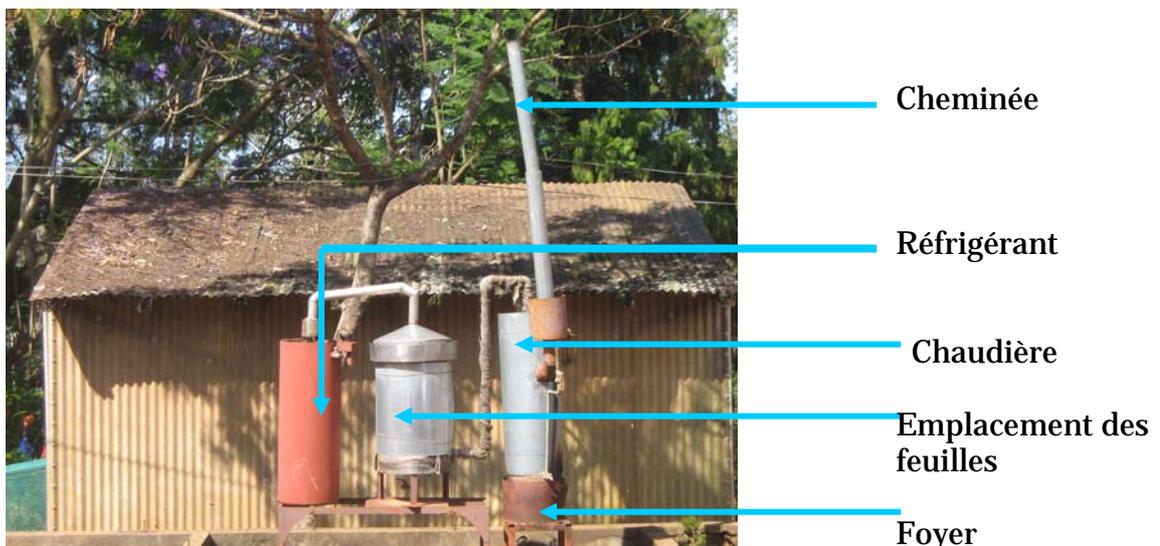


Photo 2: un alambic artisanal du FOFIFA qui a servi à l'extraction d'huile essentielle de *R. aromatica*

II.2. Evaluation des propriétés allélopathiques des huiles essentielles

Un travail préliminaire mis au point d'après la littérature (MOLINA et al, 1991 ; BONG-SEOP, 1992 ; MORADSHASHI et al, 2003 ; JEANSON, 2006), a permis d'orienter les tests sur la quantité d'huile essentielle à tester, qui apparaît comme le facteur le plus déterminant (tableau 1) et de déterminer les conditions optimales de germination et de développement. Ainsi sept volumes d'huile essentielle ont été choisis : 0 , 1.5, 3, 15, 30, 150 et 300 μL .

Trois chémotypes ont pu être extraits en quantité suffisante, à savoir le méthyl-chavicol, la limonène et la sabinène. L'effet allélopathique de chaque chémotype est évalué sur trois stades de développement des trois espèces testées :

- ☞ la germination de la graine, indiquée par la percée de la radicule à travers le tégument de la graine, quelque soit sa longueur ;

- ☞ l'émergence des plantules, jugée normale si ces dernières sont pourvues de radicules développées, de cotylédons photosynthétiques, de tigelles relativement grandes (environ 8 cm) et solides.

Deux modes d'application de l'huile sont testées :

- ☞ une application en aérosol : effectuée en imbibant l'huile sur un ruban de papier whattman n°1 enroulé autour d'un fil métallique empêchant ainsi tout contact direct entre l'huile et le matériel végétal testé, il évalue l'influence d'une diffusion atmosphérique de l'huile. Dans ce cas –ci, les concentrations correspondant aux volumes d'huile essentielle de *R. aromatica* choisies sont alors : 0, 5, 10, 50, 100, 500 et 1000 $\mu\text{L/L}$ d'air.

- ☞ une application en solution aqueuse : Ce test évalue l'influence d'un contact direct entre l'huile et les organes de la plante et est réalisé en utilisant directement une solution diluée d'huile essentielle de *R. aromatica* pour imbiber le support de germination ou comme solution de premier arrosage dans les tests sur des plantules développées. Les supports de culture et les eaux d'arrosage occupant des volumes différents, les concentrations utilisées sont différentes d'un stade testé à l'autre même si le volume d'huile essentielle de *R. aromatica* utilisé est le même (voir tableau 1).

Les expériences ont été réalisées en lumière naturelle et à température ambiante, en utilisant quatre répétitions par traitement.

II.2.1. Détermination de l'impact des huiles essentielles de *R. aromatica* sur la germination (Dispositif 1)

Trente graines de chaque espèce testée sont mises à germer sur trois épaisseurs de papiers whattman n°1 imbibés de 3ml d'eau distillée, avec les sept doses d'huile essentielle (0, 1.5, 3, 15, 30, 150 et 300 µL) appliquées selon les deux modes cités plus haut, dans des bocaux de 32.4 cl (photo 4).

Pendant le temps d'incubation, le résultat a été évalué quotidiennement et cela, en retirant et en dénombrant les semences germées, et le tampon d'huile essentielle est renouvelé à chaque fois pour les applications en aérosol.

En fin d'expérience, deux variables sont notées. La première est la germination relative soit la proportion de semences qui ont germées dans un traitement par rapport à la proportion de semences qui ont germées dans le témoin sans huile. Cette variable représente en fait la capacité de chaque huile à inhiber ou à stimuler la germination. La deuxième est le délai de germination 50, soit le temps que mettent 50% des semences à germer. C'est la variable qui représente la capacité de chaque huile à retarder ou accélérer la germination des graines.

En fin d'expérience, l'état physiologique de chaque graine non germée était vérifié pour savoir si l'huile a inhibé ou a causé la mort des graines.

Place de l'huile
essentielle



Photo 3 : Dispositif n°1 évaluant l'effet des huiles essentielles de *R. aromatica* sur la germination des graines de riz dans le cas d'une application en aérosol

II.2.2. Détermination de l'impact des huiles essentielles de *R. aromatica* sur l'émergence des plantules (Dispositif 2)

Trente graines de chaque espèce testée sont mises à germer sur 60g de sable nature d'Ikopa imbibé de 20ml d'eau distillée, avec les sept doses d'huile essentielle (0, 1.5, 3, 15, 30, 150 et 300 μ L) appliquées selon les deux modes cités plus haut dans les mêmes bocaux de 32.4 cl (photo 4) .

Après un temps d'incubation de cinq jours pour le cresson et l'ambérique et sept jours pour le riz, le stade de développement atteint par les semences mises à germer est évalué en fin d'expérience. Ainsi, le nombre de semences converties en plantules au stade cotylédonaire, c'est-à-dire bien proportionnées et avec deux cotylédons photosynthétiques, est noté, ainsi que les stades de croissance auxquels sont arrêtées les autres semences.

Cette variable représente en fait la capacité de chaque huile à perturber le passage au stade plantule.

Place de l'huile
essentielle



Photo 4 : dispositif n°2 évaluant l'effet croissance des huiles pour l'ambérique dans le cas d'une application en solution aqueuse

II.2.3. Détermination de l'impact des huiles essentielles de *R. aromatica* sur des plantules développées (Dispositif 3)

Vingt semences de chaque espèce testée ont été mises en culture dans des pots en plastique contenant 200g de sable imbibé de 50ml d'eau distillée, pendant cinq jours pour l'Ambérique et le cresson , sept jours pour le riz.

Au bout de ce temps de croissance, les plantules les moins vigoureuses sont retirées de chaque pot jusqu'à obtention d'un lot homogène de 10 plantules de 8cm (mesure incluant uniquement la partie aérienne). Ensuite, les lots de plantules sont traités avec les sept doses d'huile essentielle (0 , 1.5, 3, 15, 30, 150 et 300 μ L) selon les deux modes cités plus haut. L'herméticité a été assurée en renversant les bocaux de verre transparent de 32.5cl sur chaque lot de plantules (photo 5).

Au bout de deux jours d'incubation, le couvercle et le tampon d'huile essentielle sont enlevés et un temps de rémission de cinq jours est laissé aux plantules, avant d'enregistrer le nombre de plantules saines, endommagées et mortes. Ces paramètres servent à évaluer l'état physiologique des plantules traitées avec chaque huile. Ces variables représentent la capacité de chaque huile à perturber l'équilibre biologique des plantules.



Photo 5 : dispositif n°3 évaluant l'effet herbicide des huiles pour l'ambérique dans le cas d'une application en aérosol

Le support de culture occupant un volume différent, la concentration finale de l'huile change d'un dispositif à l'autre. De plus, l'utilisation de deux modes d'application de l'huile, implique des concentrations différentes faisant référence à deux volumes différentes : d'eau et d'air. Ainsi, pour avoir une idée de la concentration réelle utilisée dans chaque cas, le tableau 1 a été dressé.

Tableau n°01: concentrations d'huile essentielle de *R. aromatica* utilisées pour chaque test

Dispositif (D)	Concentration finale de l'huile essentielle							
	Dose 1 (0 μ L)	Dose 2 (1.5 μ L)	Dose 3 (3 μ L)	Dose 4 (15 μ L)	Dose 5 (30 μ L)	Dose 6 (150 μ L)	Dose 7 (300 μ L)	
D n°1	A	0	5	10	50	100	500	1000
	S	0	500	1000	5000	10000	50000	100000
D n°2	A	0	5	10	50	100	500	1000
	S	0	70	140	700	1400	7000	140000
D n°3	A	0	5	10	50	100	500	1000
	S	0	30	60	300	600	3000	60000

A : application en aérosol (les concentrations sont en μ L/L d'air)

S : application en solution aqueuse (les concentrations sont en μ L/L d'eau)

II.3. Traitement et analyse des données

Des analyses de variance séparée et des analyses de variance avec interaction sont effectuées à l'aide d'XL-STAT, suivies du test de TUKEY pour la comparaison des moyennes. La significativité du test a été fixée à 95%.

Les valeurs considérées dans l'établissement des graphiques sont les moyennes des répétitions. Les différences statistiquement significatives des ANOVA séparées sont affichées sur les graphiques. Les moyennes munies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes et le positionnement de ces lettres est arrangé de manière à être lisible dans le sens des concentrations que dans celui des chémotypes.

RESULTATS
et
INTERPRETATIONS

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

I. Impact de l'huile sur la germination

Le résultat de l'analyse statistique représenté par le tableau 2 suivant, montre l'impact des quatre paramètres sur la germination. La lecture de ce tableau se fait par une comparaison de la probabilité Pr au risque 0,05 qui constitue le seuil de significativité en dessous duquel le paramètre étudié a un effet significatif.

Tableau 2 : Analyse Type III Somme des carrés (Sum of Squares) du Variable « Germination Relative » et « Délai de Germination 50 (j) »

Source	Germination Relative			Délai de Germination 50 (j)		
	Degré de liberté	F	Pr > F	Degré de liberté	F	Pr > F
ESP (espèce modèle)	2	10.349	< 0.0001	2	3815.711	< 0.0001
APPL (mode d'application)	1	0.035	0.851	1	30.979	< 0.0001
CHÉM (chénotype)	2	12.910	< 0.0001	2	144.758	< 0.0001
VOL (volume d'huile)	8	19.598	< 0.0001	8	61.729	< 0.0001
ESP*APPL	2	3.859	0.022	2	112.202	< 0.0001
ESP*CHÉM	4	6.160	< 0.0001	4	59.730	< 0.0001
ESP*VOL	13	3.756	< 0.0001	13	4.783	< 0.0001
APPL*CHÉM	2	3.418	0.034	2	8.109	0.000
APPL*VOL	6	4.488	0.000	6	31.035	< 0.0001
CHÉM*VOL	14	4.820	< 0.0001	14	27.481	< 0.0001
ESP*APPL*CHÉM	4	4.568	0.001	4	30.348	< 0.0001
ESP*APPL*VOL	11	3.163	0.000	11	11.017	< 0.0001
ESP*CHÉM*VOL	23	2.251	0.001	23	11.229	< 0.0001
APPL*CHÉM*VOL	12	2.308	0.008	12	31.243	< 0.0001
ESP*APPL*CHÉM*VOL	21	2.979	< 0.0001	21	12.720	< 0.0001

Tous les paramètres, sauf le chénotype, ont des effets significatifs (Pr inférieures à 0.0001) sur la germination mais les résultats obtenus reflètent de très fortes interactions entre ces paramètres.

I.1. Cas du riz

I.1.1. Application en aérosol

Dans le cas d'une application de l'huile en aérosol (fig. 3), il n'y a pas de changement significatif au niveau de la germination relative. Il en est de même pour le délai de germination 50 excepté dans les grandes concentrations (1000 $\mu\text{l/l}$ d'air) où l'on note un affaiblissement de la germination relative et une augmentation du délai de germination 50.

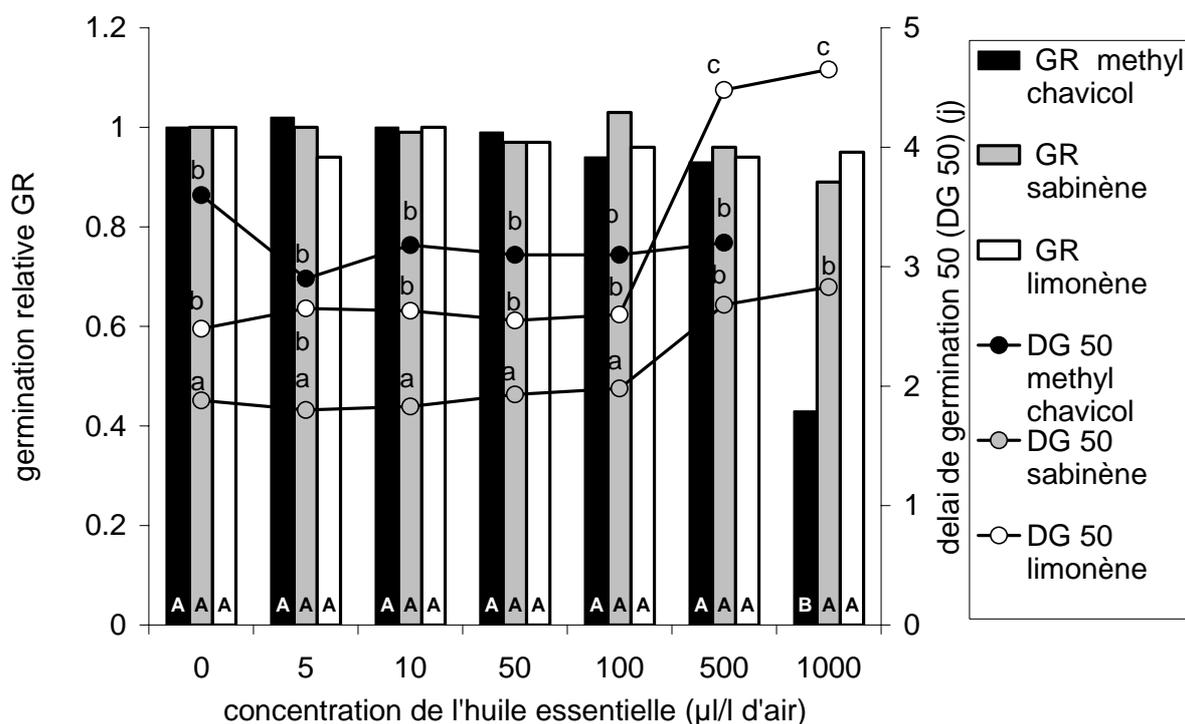


Figure 3 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur la germination des semences de riz mesuré par la germination relative et le délai de germination 50 (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

Les huiles agissent de manière légèrement différente. L'huile à sabinène et celle à limonène ont peu d'influence sur les variables mesurées : une augmentation significative du délai de germination 50 dans les grandes concentrations (500 et 1000 $\mu\text{l/l}$), à savoir 2,68 pour l'huile à sabinène et 4,48 pour l'huile à limonène.

Le chémotype à méthyl-chavicol montre une diminution très significative de la germination relative (0,43) avec absence de délai de germination 50 à la plus grande concentration soit 1000 µl/l.

I.1.2. Application directe en solution

Appliquée en solution aqueuse, l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* ne cause aucune variation significative de la germination relative et du délai de germination 50 sauf vers la plus forte concentration, soit 100000µl/l d'eau (fig. 4).

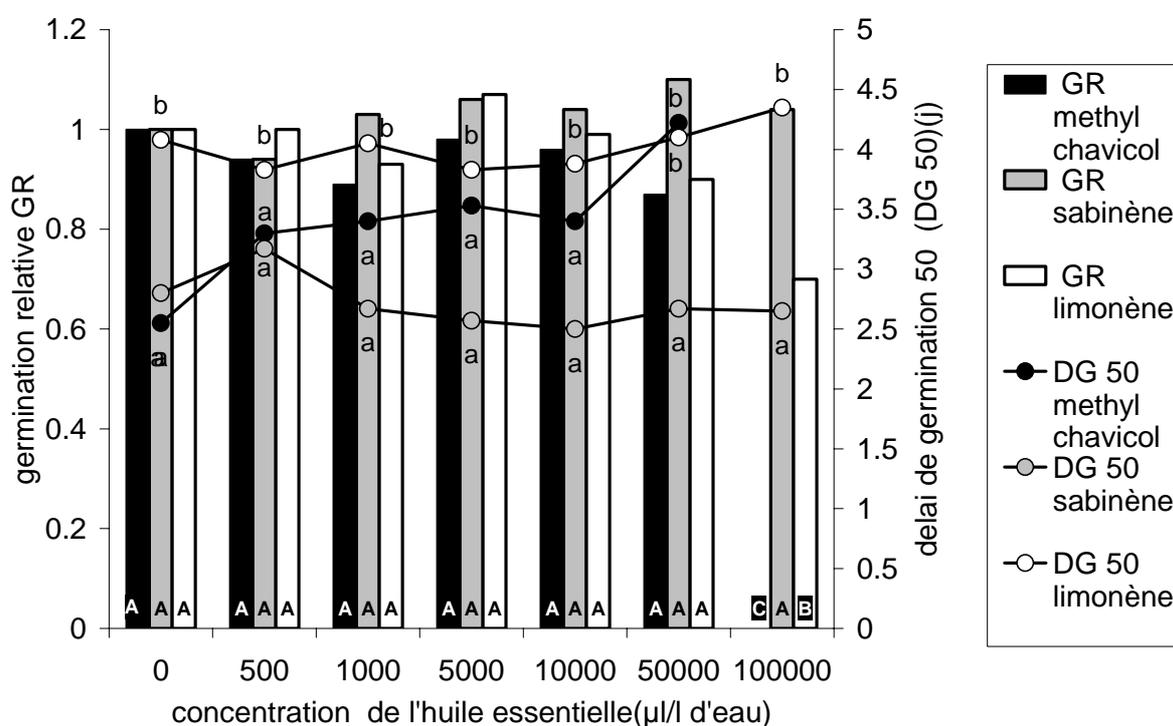


Figure 4 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur la germination des semences de riz mesuré par la germination relative et le délai de germination 50 (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

Aucune variation significative des deux variables prises en compte n'est observée pour l'huile à sabinène, tandis que pour celle à méthyl-chavicol, une inhibition totale de la germination relative accompagnée de l'absence du délai de germination 50 est remarquée au niveau de la plus grande concentration (1000µl/l). Pour l'huile à limonène, par contre, seule la germination relative baisse d'une manière significative, à savoir 0,7.

I.2. Cas du cresson

I.2.1. Application en aérosol

Dans le cas d'une application en aérosol, la germination relative des semences de cresson et leur délai de germination 50 n'accusent aucune différence significative en présence de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica*, excepté au niveau de la germination relative pour la plus grande concentration, soit 1000 μ l/l d'air (fig. 5).

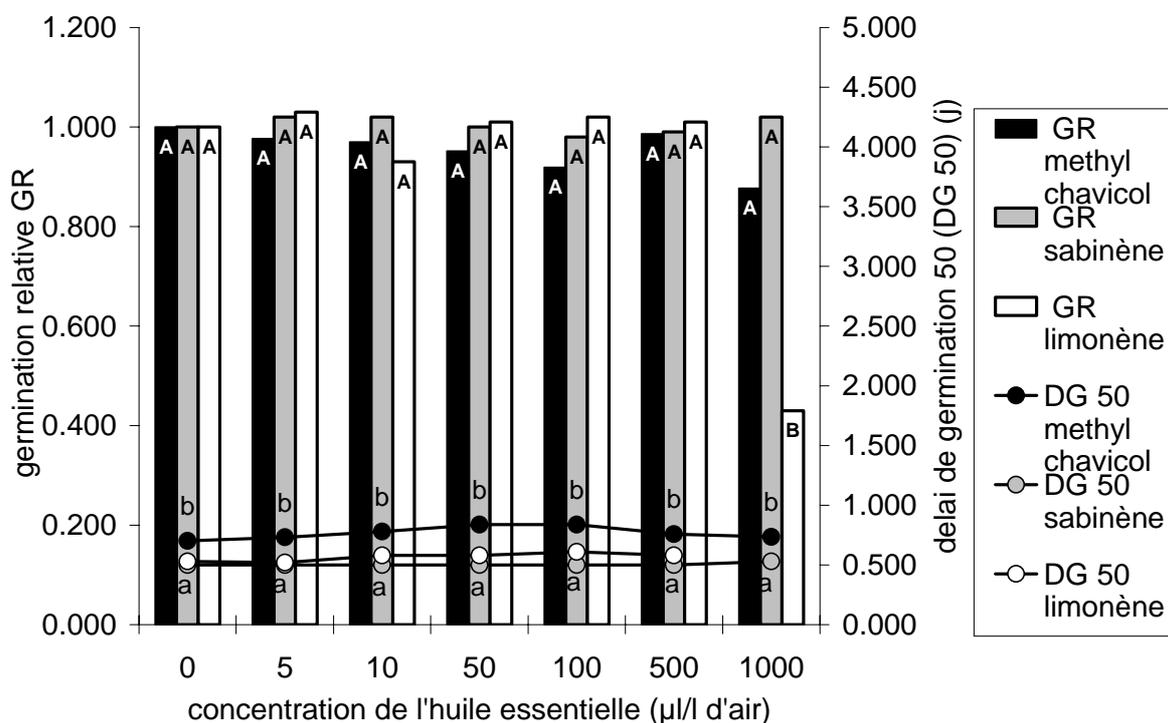


Figure 5 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur la germination des semences de cresson mesuré par la germination relative et le délai de germination 50 (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

Aucune variation de la germination relative et du délai de germination 50 des semences de cresson n'est observée tant pour l'huile à sabinène que pour celle à méthyl-chavicol.

Au niveau de la dernière concentration de l'huile essentielle, soit 1000 μ l/l d'air, l'huile à limonène exerce une diminution très significative (0,43) de la germination relative et le délai de germination 50 est absent.

I.2.2. Application directe en solution

Appliquée en solution, l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* affecte faiblement la germination relative et le délai de germination 50 des semences de cresson (fig. 6).

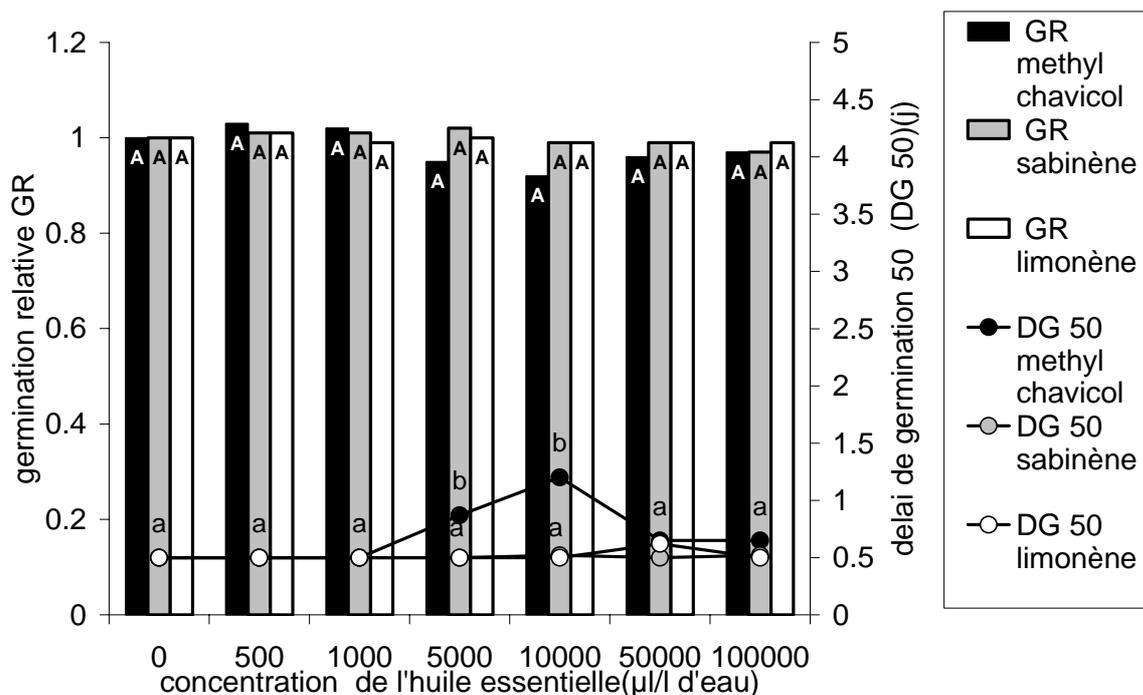


Figure 6 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur la germination des semences de cresson mesuré par la germination relative et le délai de germination 50 (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

La germination relative et le délai de germination 50 des semences de cresson ne présentent aucune différence significative quand l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* est appliquée en solution aqueuse, du moins pour le chémotype limonène et sabinène.

Une légère augmentation (1,01) du délai de germination 50 pour l'huile à méthyl-chavicol se démarque toutefois pour la concentration intermédiaire de 10000 µl/l.

I.3. Cas de l'ambérique

I.3.1. Application en aérosol

L'application de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* en aérosol sur les semences d'ambérique affecte de façon significative la germination relative et le délai de germination 50 de ces semences au niveau des fortes concentrations 1000 et 5000 $\mu\text{l/l}$ (fig. 7).

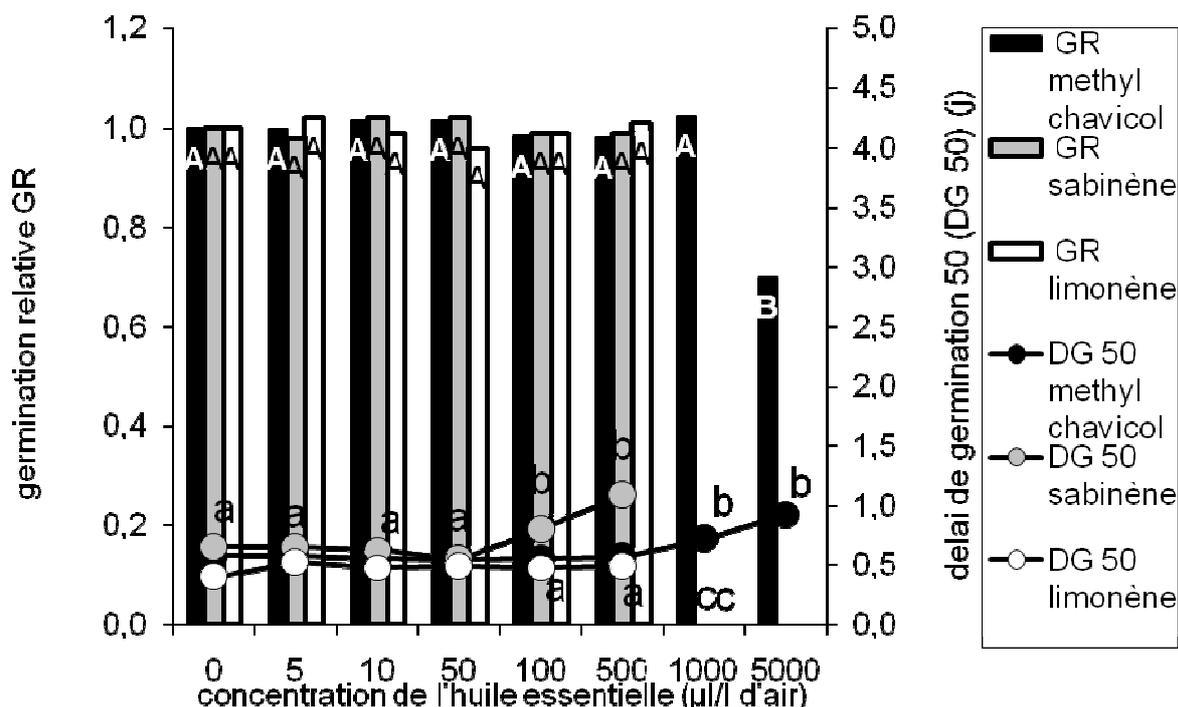


Figure 7 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur la germination des semences d'ambérique mesuré par la germination relative et le délai de germination 50 (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

A la concentration 1000 $\mu\text{l/l}$, la germination des graines d'ambérique est totalement inhibée et le délai de germination 50 est absent pour l'huile à sabinène et à limonène. Les deux chémotypes se distinguent par le fait que pour l'huile à sabinène, l'effet commence un peu plus tôt avec une augmentation significative (0,8) à 100 $\mu\text{l/l}$. Par contre à cette même concentration, l'huile à méthyl-chavicol n'a pas d'influence sur la germination des graines d'ambérique.

Aussi, des tests avec une dose plus élevée (5000 µl/l) d'huile à méthyl-chavicol sont réalisés et une diminution significative de la germination relative (0,7) associée à une augmentation du délai de germination 50 (0,93) est observée.

I.3.2. Application directe en solution

Incubées avec l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* appliquée en solution aqueuse, les semences d'ambérique montrent une germination relative et un délai de germination 50 statistiquement différents de celles des témoins (0µl/l d'eau) vers les grandes concentrations uniquement (50000 et 100000 µl/l) (fig. 8).

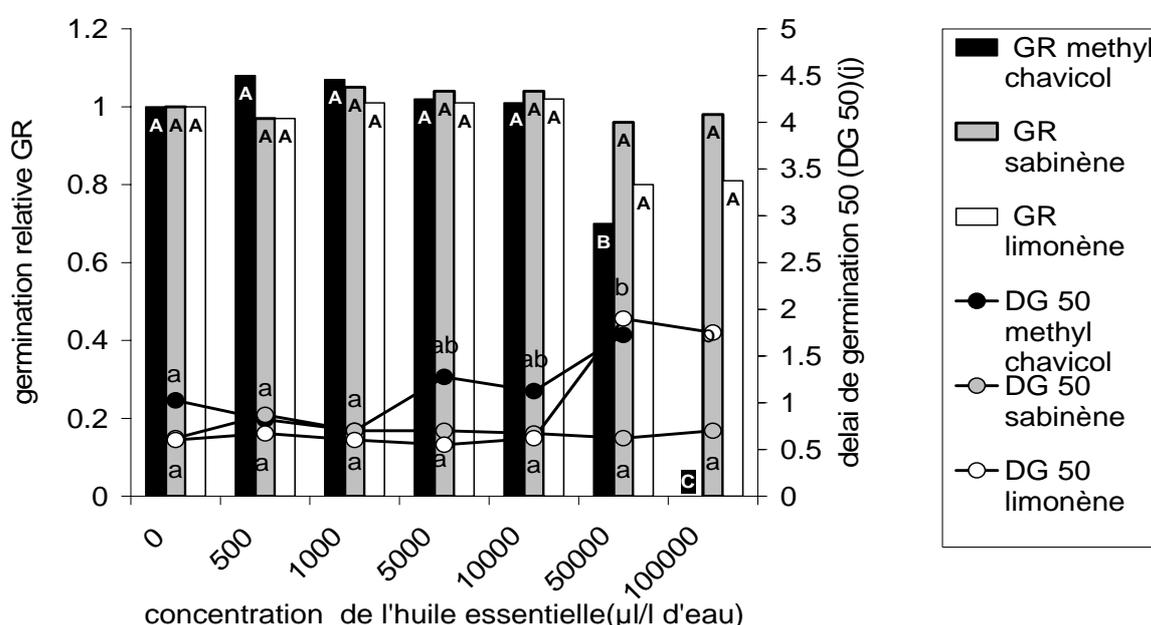


Figure 8: Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur la germination des semences d'ambérique mesuré par la germination relative et le délai de germination 50 (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

Aucun changement significatif des deux variables mesurées (GR et DG50) n'est observé avec l'huile à sabinène quel que soit sa concentration. L'huile à limonène agit sur le délai de germination 50 en l'augmentant (1,9 et 1,7) vers les deux plus grandes concentrations (50000 à 100000 µl/l). Avec l'huile à méthyl-chavicol, le DG 50 est absent et s'accompagne d'une grande baisse de la germination relative commençant dès la deuxième plus grande concentration (0,7 à 50000 µl/l) pour inhiber totalement cette dernière à la dernière concentration (50000 à 100000 µl/l).

I.4. Conclusions

- L'huile essentielle de *Ravensara aromatica* a la capacité de diminuer le taux de germination (la germination relative) et de ralentir celle-ci en augmentant le DG 50 des semences de chaque espèce (tableau 3) ;

Tableau 3 : Impacts des types chimiques de l'huile essentielle de *R. aromatica* sur la germination des graines de chaque espèce testées

Espèce test	Mode d'application	Dose minimum ayant un effet (µl)	Rang d'efficacité de chaque huile		
			Méthyl chavicol	Sabinène	Limonène
riz	aérosol	300	1	2	2
	Solution	300	1	2	3
cresson	aérosol	300	2	2	1
	Solution	300	0	0	0
ambérique	aérosol	150	1	2	2
	Solution	150	1	2	2

- Cette capacité est différente d'une espèce modèle à une autre, le cresson étant le moins affecté.

- Le mode d'application de l'huile essentielle affecte également cette capacité germinative, le mode d'application en aérosol étant, dans la plupart des cas, le plus inhibiteur.

- L'effet inhibiteur varie aussi en fonction du chémotype, cette variation est plus ou moins importante selon l'espèce, le mode d'application et la concentration de l'huile. Pour le riz et l'ambérique : c'est l'huile à méthyl- chavicol qui est la plus inhibitrice de la germination, ensuite vient celle à sabinène et celle à limonène ; tandis que pour le cresson c'est l'huile à limonène qui est la plus inhibitrice de la germination, celle à méthyl- chavicol et celle à sabinène ayant à peu près la même efficacité.

II. Effet de l'huile sur l'émergence des plantules

Le résultat de l'analyse statistique représenté par le tableau 4 suivant, montre l'impact des quatre paramètres sur la proportion de plantules au stade cotylédonnaire. La lecture de ce tableau se fait par une comparaison de la probabilité Pr au risque 0.05 qui constitue le seuil de significativité en dessous duquel le paramètre étudié a un effet significatif.

Tableau 4: Analyse Type III Somme des carrés (Sum of Squares) du Variable "Plantules au stade cotylédonnaire"					
Source	Degré De Liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
ESP (espèce modèle)	2	68.815	34.408	455.166	< 0.0001
APPL (mode d'application)	1	9.047	9.047	119.680	< 0.0001
CHÉM (chémo type)	2	28.894	14.447	191.115	< 0.0001
VOL (volume d'huile)	6	206.366	34.394	454.991	< 0.0001
ESP*APPL	2	6.894	3.447	45.597	< 0.0001
ESP*CHÉM	4	5.620	1.405	18.586	< 0.0001
ESP*VOL	12	31.159	2.597	34.349	< 0.0001
APPL*CHÉM	2	8.241	4.120	54.508	< 0.0001
APPL*VOL	6	5.851	0.975	12.900	< 0.0001
CHÉM*VOL	12	16.500	1.375	18.190	< 0.0001
ESP*APPL*CHÉM	4	7.153	1.788	23.657	< 0.0001
ESP*APPL*VOL	12	10.121	0.843	11.158	< 0.0001
ESP*CHÉM*VOL	24	27.326	1.139	15.062	< 0.0001
APPL*CHÉM*VOL	12	20.123	1.677	22.183	< 0.0001
ESP*APPL*CHÉM*VOL	24	25.881	1.078	14.265	< 0.0001

La probabilité Pr est nettement inférieure au seuil 0.05 pour les quatre, elle est toujours inférieure à 0.0001. La mesure de l'interaction entre ces quatre paramètres donne aussi une valeur de Pr inférieure à 0.0001, soit très inférieure à 0.05.

II.1. Cas du riz

II.1.1. Application en aérosol

L'effet de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur l'émergence des plantules de riz se manifeste par la réduction significative du taux de graines ayant donné des plantules cotylédonaire et intactes, qui ici dans le cas d'une application en aérosol se produit au niveau des concentrations supérieures ou égales à 100 $\mu\text{l/l}$ (figure 09).

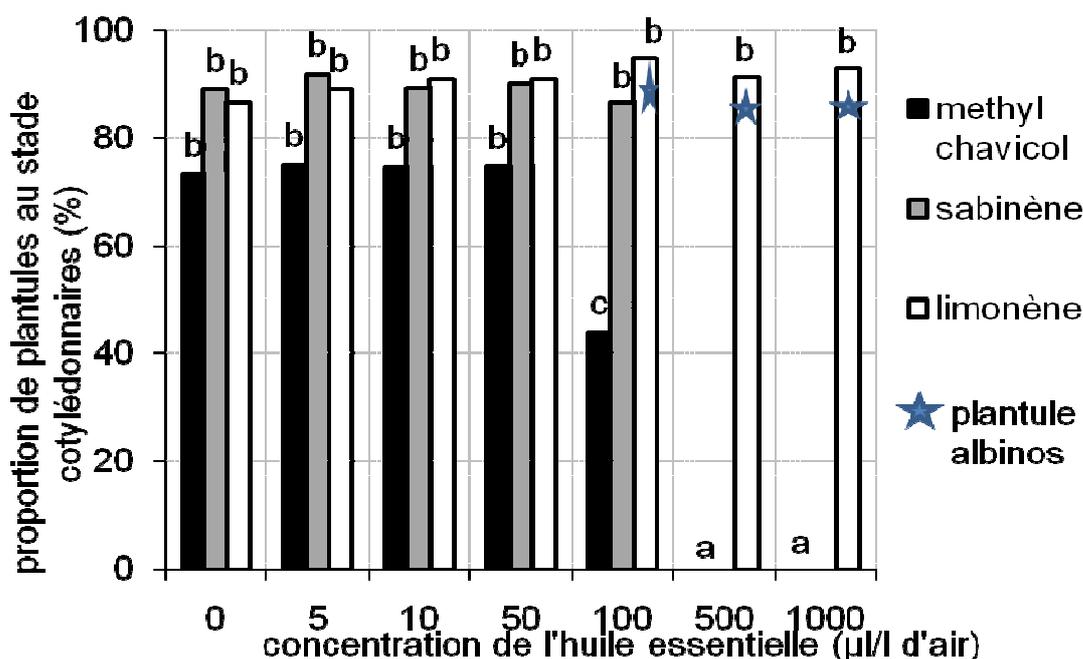


Figure 09 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur l'émergence des plantules de riz au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

En effet, incubées avec l'huile à limonène, toutes les semences de riz ont atteint le stade cotylédonaire. Cependant, à des concentrations dépassant les 100 $\mu\text{l/l}$, les plantules obtenues sont toutes albinos (par une étoile sur le graphe).

Par contre, mise en culture avec l'huile à sabinène et celle à méthyl-chavicol, la proportion de semences ayant donné des plantules cotylédonaire diminue énormément et finit par s'annuler.

La différence entre les impacts des deux huiles sur l'émergence des plantules de riz se situe au niveau de la concentration à laquelle ces deux huiles commencent à agir.

II.1.2. Application directe en solution

Dans l'application en solution aqueuse, la proportion de semences de riz ayant donné des plantules cotylédonaire s'affaiblit significativement au niveau de la dernière concentration, soit 14000 $\mu\text{l/l}$ d'eau (fig.10).

Avec l'huile à limonène et celle à méthyl-chavicol, la proportion de plantules ayant atteint le stade cotylédonaire est presque nulle, mais pour l'huile à méthyl-chavicol, cet effet est précédé d'albinisme à 7000 $\mu\text{l/l}$ d'eau.

Tandis qu'avec l'huile à sabinène, les semences de riz ont, non seulement, donné moins de plantules au stade cotylédonaire (37.5% et 18.5%), mais en plus, celles-ci sont atteintes d'albinisme (par une étoile sur le graphe).

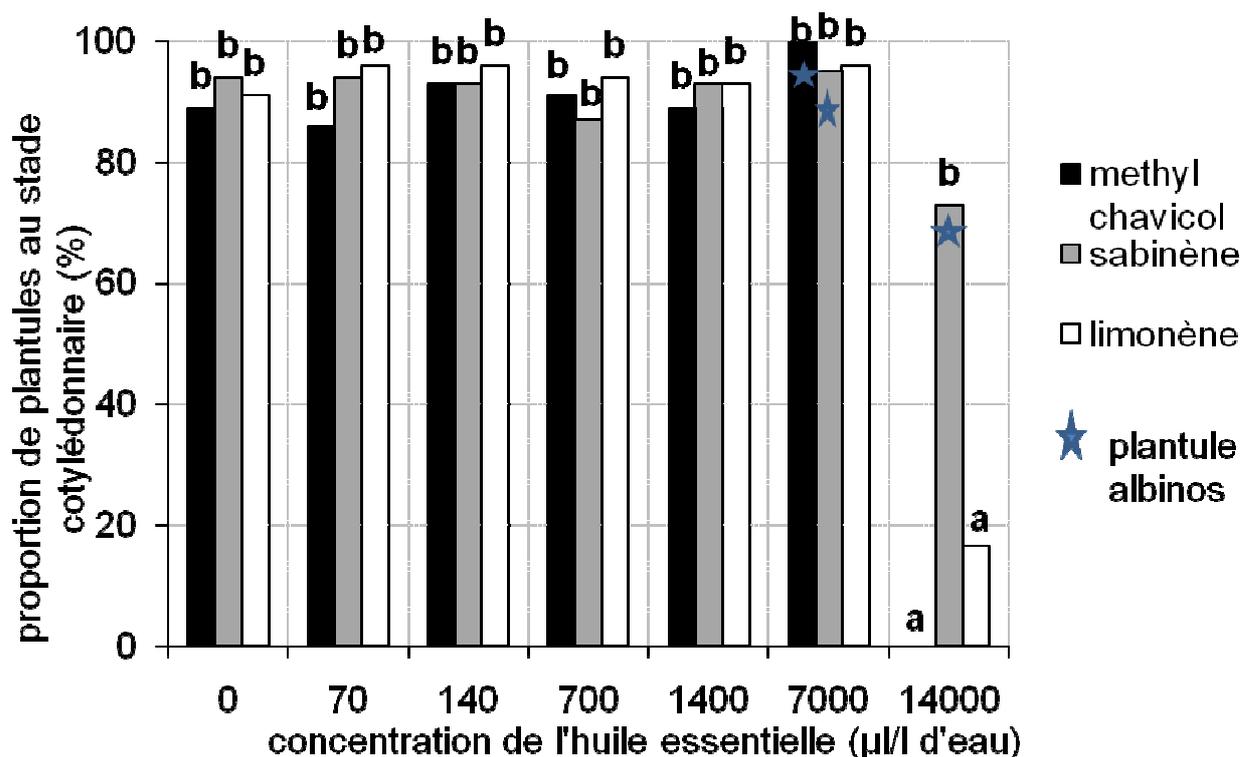


Figure 10 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur l'émergence des plantules de riz au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

II.2. Cas du cresson

II.2.1. Application en aérosol

En présence de vapeur d'huile essentielle de *Ravensara aromatica*, les semences de cresson donnent des plantules cotylédonaires dont la proportion est fortement réduite dans les concentrations dépassant les 100 $\mu\text{l/l}$ d'air (fig 11).

Pour l'huile à limonène, cette diminution se produit à 1000 $\mu\text{l/l}$. Tandis que pour celle à sabinène, elle est précédée d'albinisme à 100 $\mu\text{l/l}$ et se manifeste à 500 $\mu\text{l/l}$. Par contre avec l'huile méthyl-chavicol, cette diminution de la proportion de semences ayant donné des plantules aux stades cotylédonaires commence dès la concentration de 10 $\mu\text{l/l}$. Elle évolue d'une manière progressive, si bien qu'aux dernières concentrations (500 et 1000 $\mu\text{l/l}$ d'air), aucune semence n'a donné de plantule cotylédonaire mais juste des radicules de quelques millimètres.

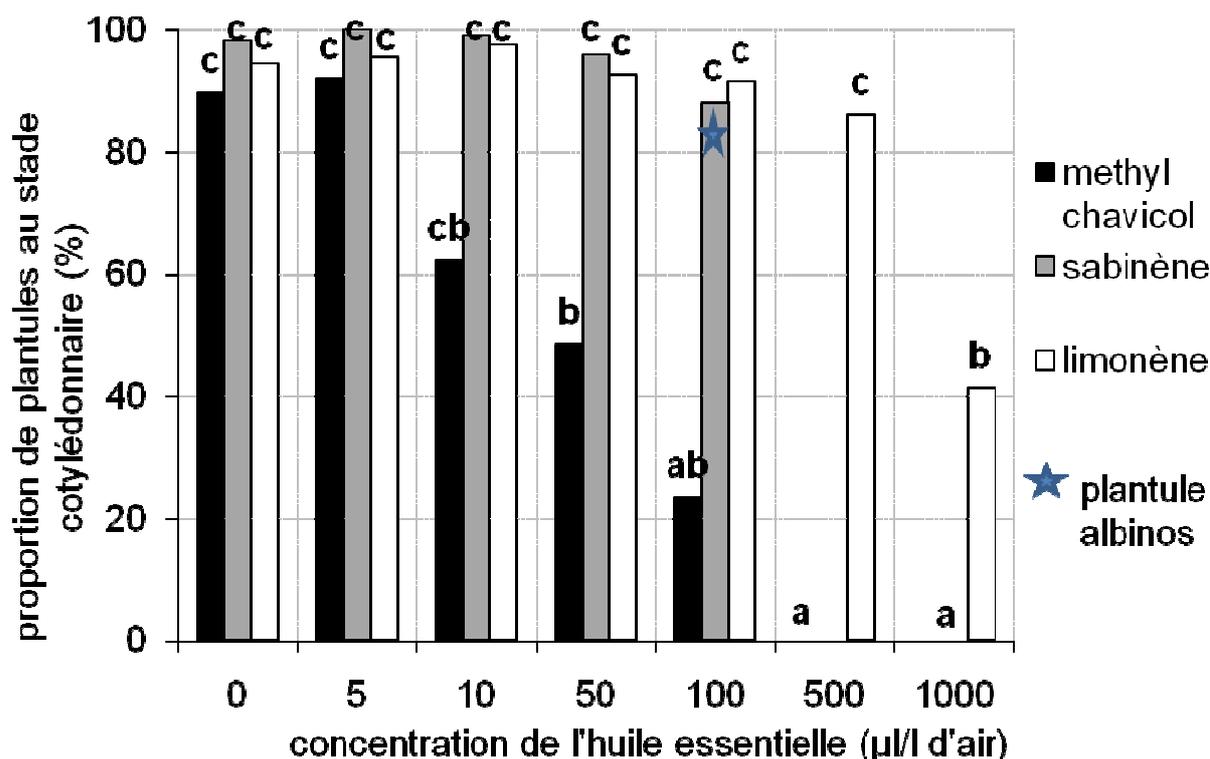


Figure 11 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur l'émergence des plantules de cresson au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

II.2.2. Application directe en solution

Ces semences de cresson, incubées avec l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* appliquée en solution aqueuse, donnent aussi des plantules aux stades cotylédonaire sauf pour les concentrations dépassant les 1400 μ l/l d'eau où (fig 12):

- ☞ Seule une faible proportion (37.5 puis 18%) de plantules au stade cotylédonaire s'est développée à partir des graines pour l'huile à sabinène.

- ☞ aucune plantule ne s'est développée à partir des graines pour l'huile à méthyl-chavicol mais seulement des racicules de quelques millimètres.

- ☞ L'huile à limonène semble ne pas influencer sur le devenir en plantules cotylédonaire des semences de cresson. En effet, la proportion des plantules au stade cotylédonaire s'étant développées à partir des graines y est statistiquement identique quelque soit la concentration de l'huile.

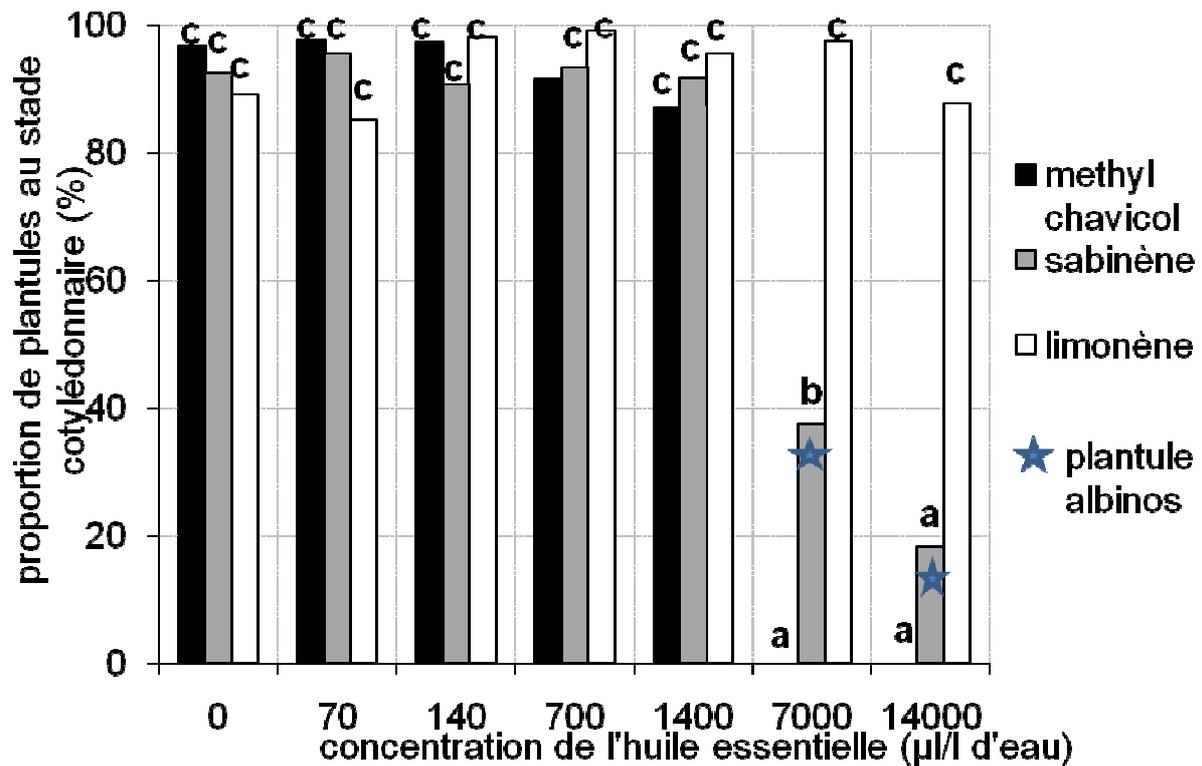


Figure 12 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur l'émergence des plantules de cresson au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

II.3. Cas de l'ambérique

II.3.1. Application en aérosol

En présence de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* appliquée en aérosol, les semences d'ambérique donnent surtout des plantules cotylédonaire dans les premières concentrations, soit 0,5 et 10 $\mu\text{l/l}$ d'huile (fig 13).

Ensuite, brusquement à la concentration suivante, ces semences ne donnent aucune plantule cotylédonaire, sans passer par une période de transition entre la prépondérance des plantules cotylédonaire et leur absence totale.

Cette absence totale de plantules cotylédonaire se manifeste dès les 50 $\mu\text{l/l}$ pour celle à méthyl-chavicol, elle est rencontrée à 100 $\mu\text{l/l}$ pour celle à sabinène et à 500 $\mu\text{l/l}$ pour celle à limonène.

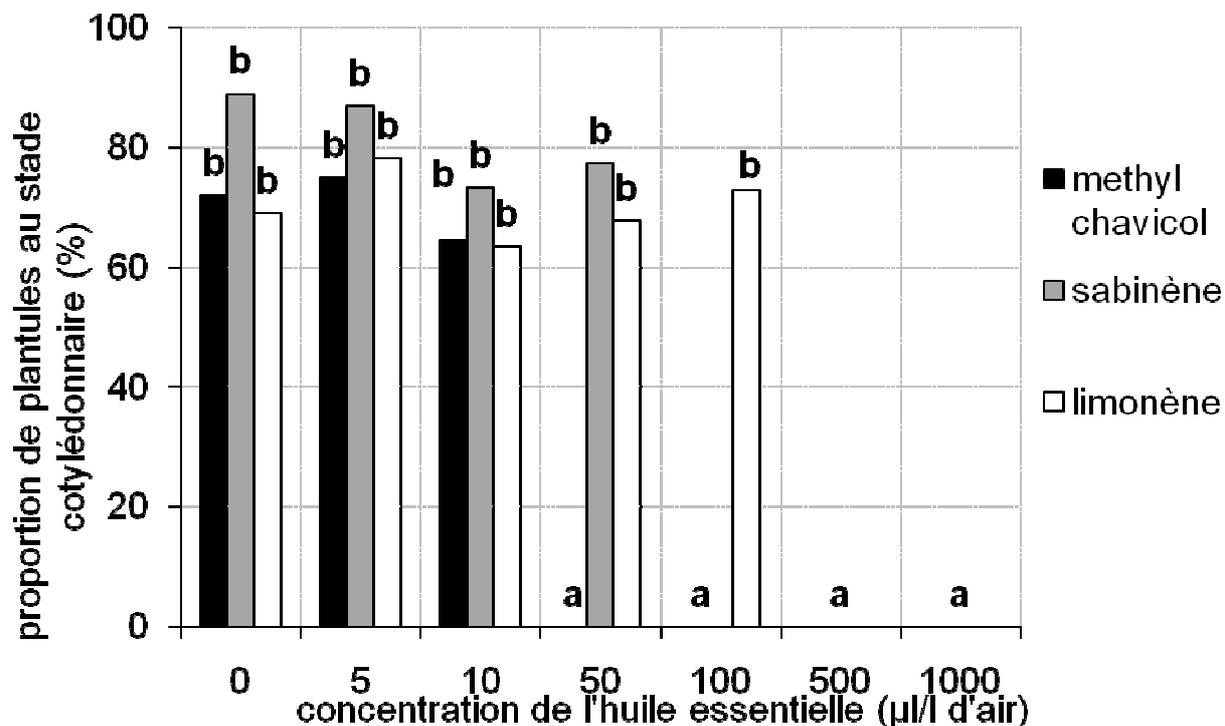


Figure 13 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur l'émergence des plantules d'ambérique au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

II.3.2. Application directe en solution

Dans le cas d'une application en solution aqueuse des huiles essentielles de *Ravensara aromatica* mises à incuber avec les semences d'ambérique, la diminution significative de la proportion de plantules cotylédonaire obtenues à partir des semences se manifeste dès les 4^{ème} et 5^{ème} concentration (fig 14), soit 700L/L pour le chémotype sabinène et méthyl-chavicol.

Cette diminution donne suite à une absence totale de plantule cotylédonaire à 1400 μ l/l pour celle à sabinène, tandis que, pour celle à méthyl-chavicol, ce stade n'est atteint qu'à 7000 μ l/l.

L'huile à limonène se comporte d'une manière différente, la diminution de la proportion de plantules cotylédonaire se manifeste à 1400 μ l/l et la proportion de plantules cotylédonaire y est de 0%.

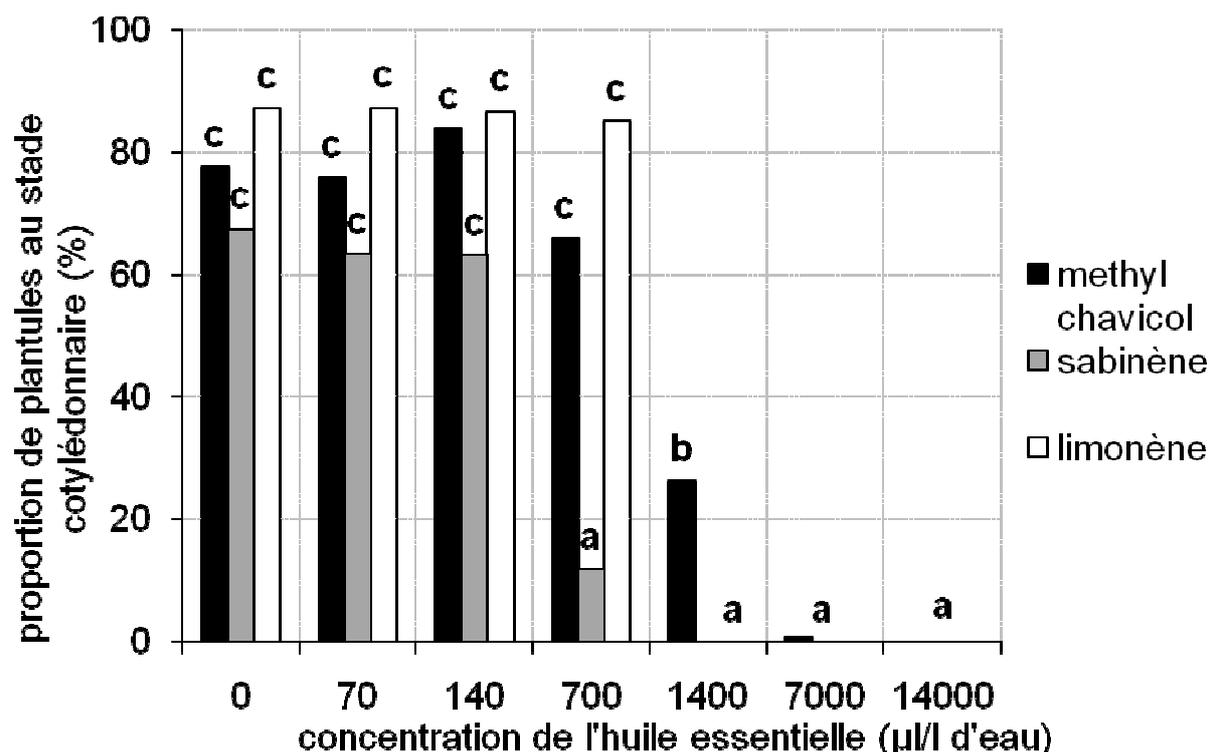


Figure 14: Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur l'émergence des plantules d'ambérique au bout de sept jours d'incubation mesuré par la proportion de plantules au stade cotylédonaire et photosynthétiques (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

II.4. Conclusions

☞ l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* diminue fortement le taux de semences ayant donné des plantules cotylédonaires, et dans certains cas, elle favorise l'obtention de plantules sans chlorophylle (photo 6).

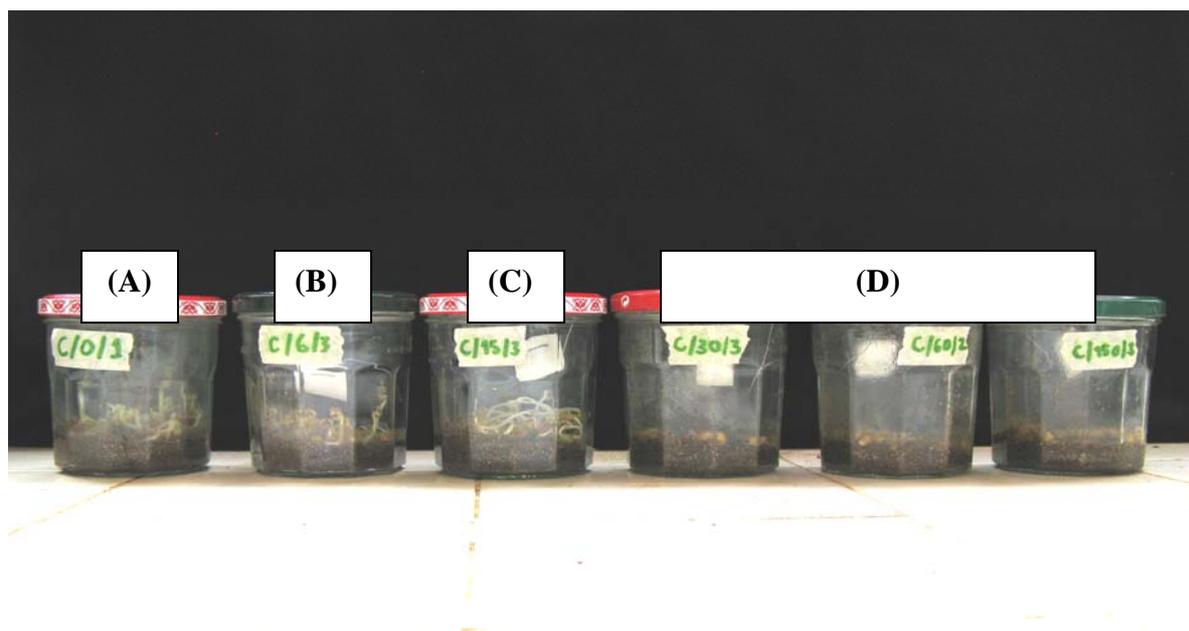


Photo 6 : Etats de croissance des semences d'ambérie au bout de 4 jours d'incubation avec l'huile à méthyl- chavicol de *Ravensara aromatica*

(A) : Plantules cotylédonaires et photosynthétiques (dose 1, 2)

(B) : Seuls les épicotyles se sont développés (dose 3)

(C) : Seules les radicules se sont développées (dose 4)

(D) : Des graines dont les développements sont arrêtés juste après la sortie de la radicule (dose 5 à 7)

☞ Cet effet varie selon le mode d'application de l'huile, l'application en aérosol ayant un effet plus fort que celle directe dans de nombreux cas, et l'inverse dans d'autres cas (tableau 5).

☞ Il varie aussi selon le chémotype de l'huile utilisée : l'huile à méthyl-chavicol est le plus perturbateur du passage au stade cotylédonaire, ensuite vient celle à sabinène et enfin celle à limonène. Toutefois, il règne un ordre différent pour le cas d'une application en solution sur des semences d'ambérique où c'est l'huile à sabinène la plus active vis-à-vis de l'émergence de plantule, vient ensuite celle à limonène et enfin celle à méthyl-chavicol.

☞ Les processus de croissance a une tolérance variable à chaque chémotype d'une espèce à l'autre : celle de l'ambérique étant la plus sensible.

Tableau 5 : Impacts des types chimiques de l'huile essentielle de *R. aromatica* sur l'émergence des plantules de chaque espèce testées

Espèce test	Mode d'application	Dose minimum ayant un effet (µl)	Rang d'efficacité de chaque huile		
			Méthyl chavicol	Sabinène	Limonène
riz	aérosol	30	1	2	3
	Solution	150	1	3	2
cresson	aérosol	15	1	2	3
	Solution	150	1	2	3
ambérique	aérosol	15	1	2	3
	Solution	15	3	1	2

III. Effet herbicide de l'huile

Le résultat de l'analyse statistique représenté par le tableau 6 suivant, montre l'impact des quatre paramètres sur des plantules développées. La lecture de ce tableau se fait par une comparaison de la probabilité Pr au risque 0.05 qui constitue le seuil de significativité en dessous duquel le paramètre étudié a un effet significatif.

Tableau 6 : Analyses Type III Somme des carrés (Sum of Squares) du Variable "Plantules intactes", "Plantules endommagées" et "Plantules mortes"

Source	Degré De Liberté	Plantules intactes		Plantules endommagées		Plantules mortes	
		F	Pr > F	F	Pr > F	F	Pr > F
ESP (espèce modèle)	2	8.333	0.000	42.091	< 0.0001	90.559	< 0.0001
APPL (mode d'application)	1	571.753	< 0.0001	10.230	0.002	590.520	< 0.0001
CHÉM (chémotype)	2	13.449	< 0.0001	1.830	0.163	20.924	< 0.0001
VOL (volume d'huile)	6	305.241	< 0.0001	46.400	< 0.0001	88.953	< 0.0001
ESP*APPL	2	7.274	0.001	36.712	< 0.0001	95.599	< 0.0001
ESP*CHÉM	4	1.221	0.302	8.644	< 0.0001	9.436	< 0.0001
ESP*VOL	12	3.040	0.001	6.881	< 0.0001	6.211	< 0.0001
APPL*CHÉM	2	3.113	0.046	17.675	< 0.0001	26.016	< 0.0001
APPL*VOL	6	74.854	< 0.0001	59.731	< 0.0001	60.922	< 0.0001
CHÉM*VOL	12	4.888	< 0.0001	4.855	< 0.0001	2.720	0.002
ESP*APPL*CHÉM	4	3.966	0.004	0.895	0.467	5.499	0.000
ESP*APPL*VOL	12	3.654	< 0.0001	6.076	< 0.0001	7.555	< 0.0001
ESP*CHÉM*VOL	24	1.602	0.041	4.909	< 0.0001	7.317	< 0.0001
APPL*CHÉM*VOL	12	5.544	< 0.0001	4.605	< 0.0001	2.773	0.001
ESP*APPL*CHÉM*VOL	24	1.512	0.064	3.849	< 0.0001	4.154	< 0.0001

Pr est toujours inférieure à 0.05, dans la plupart des cas, inférieure à 0.0001, que ce soit pour les quatre paramètres considérés isolément (sauf le chémotype pour les plantules endommagées) ou pour la mesure de leur interaction, bien qu'il s'agit d'un interaction niveau 3 pour les plantules intactes en fin d'expérience.

III.1. Cas du riz

III.1.1. Application en aérosol

Mises en contact avec l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* appliquée en aérosol, les plantules de riz de sept jours réagissent de façon significative à partir de 10µl/l d'air et présentent des dommages qui peuvent être réversibles ou entraîner leur mort (fig 15).

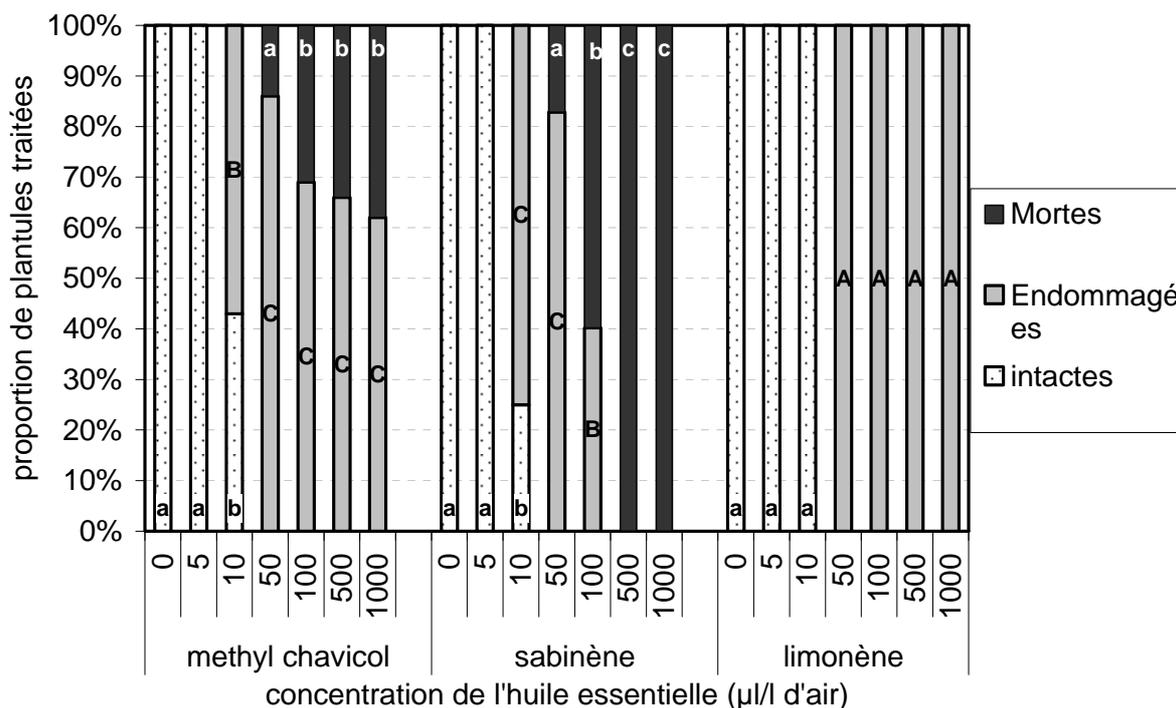


Figure 15 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur des plantules de riz au bout de deux jours d'incubation suivies de cinq jours de rémission, mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

L'huile à limonène endommage à 100% les plantules de riz et cela se produit dès la concentration 50µl/l, tandis que celle à méthyl-chavicol tue les plantules à 40% pour la même concentration. L'huile à sabinène par contre tue la totalité des plantules de riz à 500µl/l.

III.1.2. Application directe en solution

En contact avec l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* appliquée en solution aqueuse, les plantules de riz réagissent significativement surtout aux dernières concentrations (3000 et 6000 μ l/l d'eau) et montrent principalement des dommages locaux ou dans de rares cas des morts (fig 16).

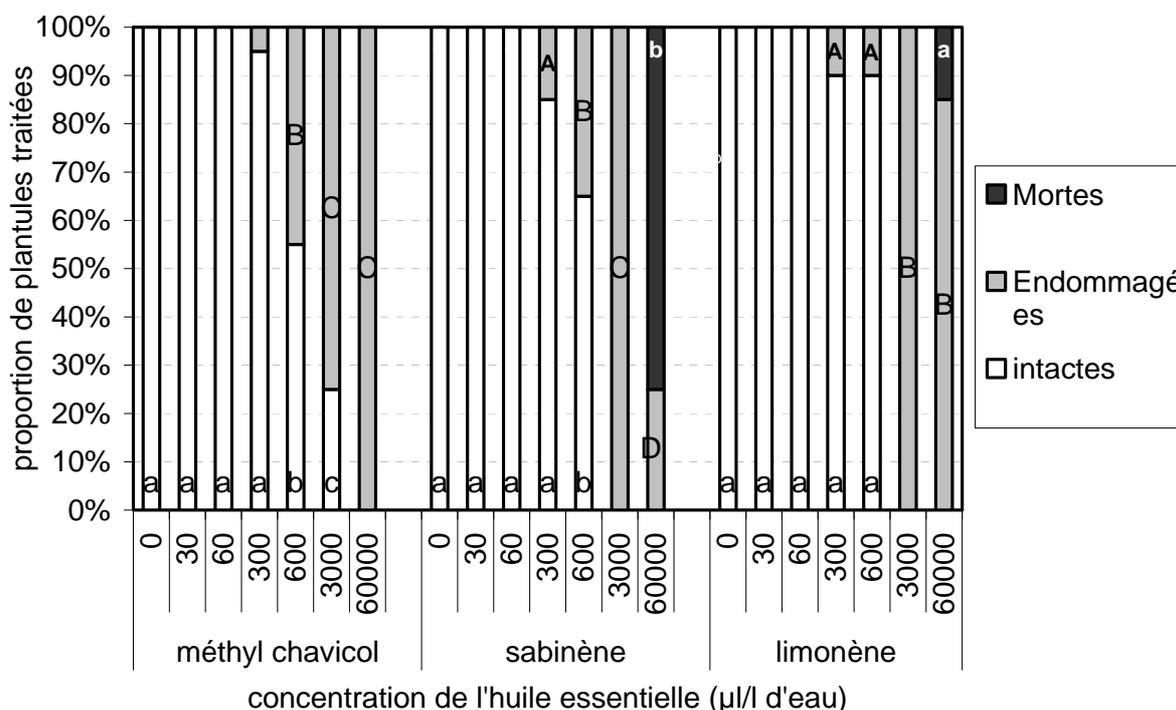


Figure 16 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur des plantules de riz au bout de deux jours d'incubation suivies de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

L'huile à méthyl-chavicol endommage les plantules de riz à 100% tandis que celle à limonène les tue à 15% à la plus grande concentration (6000 μ l/l) et enfin, celle à sabinène est la plus herbicide avec un effet mortel à 75% toujours à la plus grande concentration, soit 60000 μ l/l.

III.2. Cas du cresson

III.2.1. Application en aérosol

Dans le cas d'une application en aérosol, les plantules de cresson réagissent à la plus petite concentration d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* au bout de deux jours d'incubation, conduisant dans la majorité des cas à la mort des plantules et de faible proportion de dommages réversibles (fig 17).

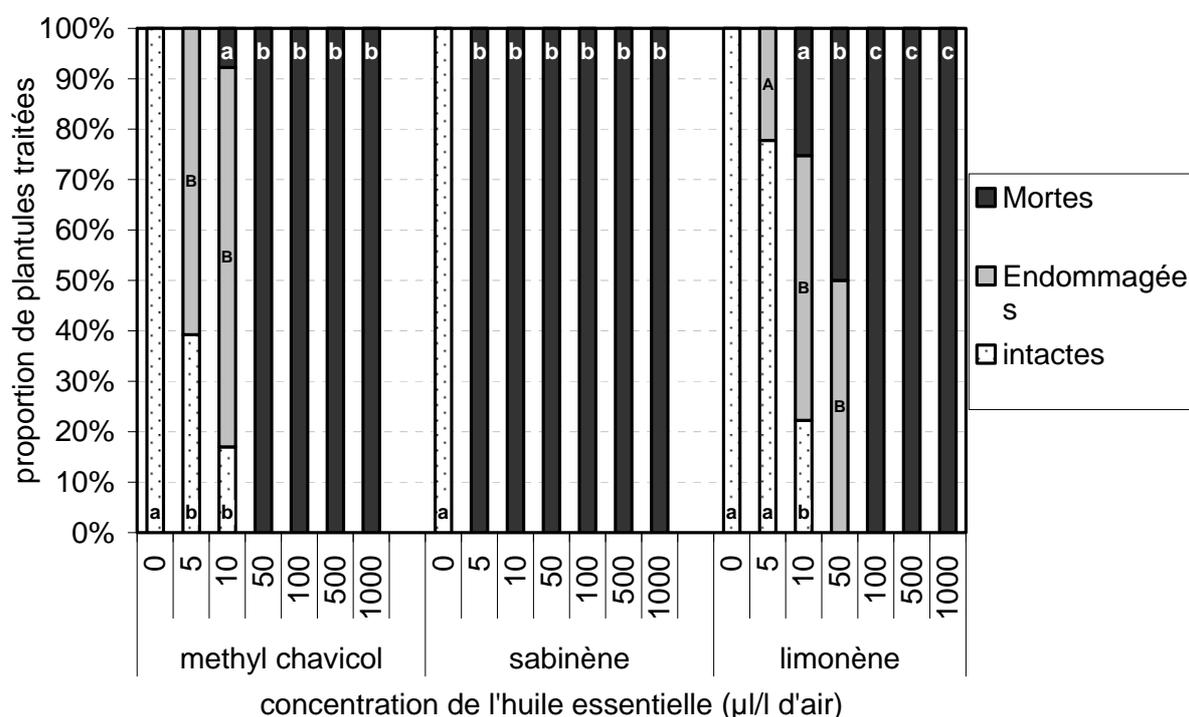


Figure 17 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur des plantules de cresson au bout de deux jours d'incubation suivies de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

Avec l'huile à méthyl-chavicol toutes les plantules sont mortes à 50µl/l.

Avec l'huile à sabinène, cette réaction se produit à 5µl/l et seuls les témoins qui ne contiennent aucune huile sont intacts en fin d'expérience.

La réaction des plantules à l'huile à limonène semble être la moins marquée avec mort de la totalité des plantules à 100µl/l.

III.2.2. Application directe en solution

La réaction des plantules de cresson à l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* appliquée en solution aqueuse se présente essentiellement sous formes de dommages auxquels les plantules peuvent survivre, et qui se manifeste d'une manière significative vers les grandes concentrations, soit 3000 et 6000 μ l/l d'air (fig 18).

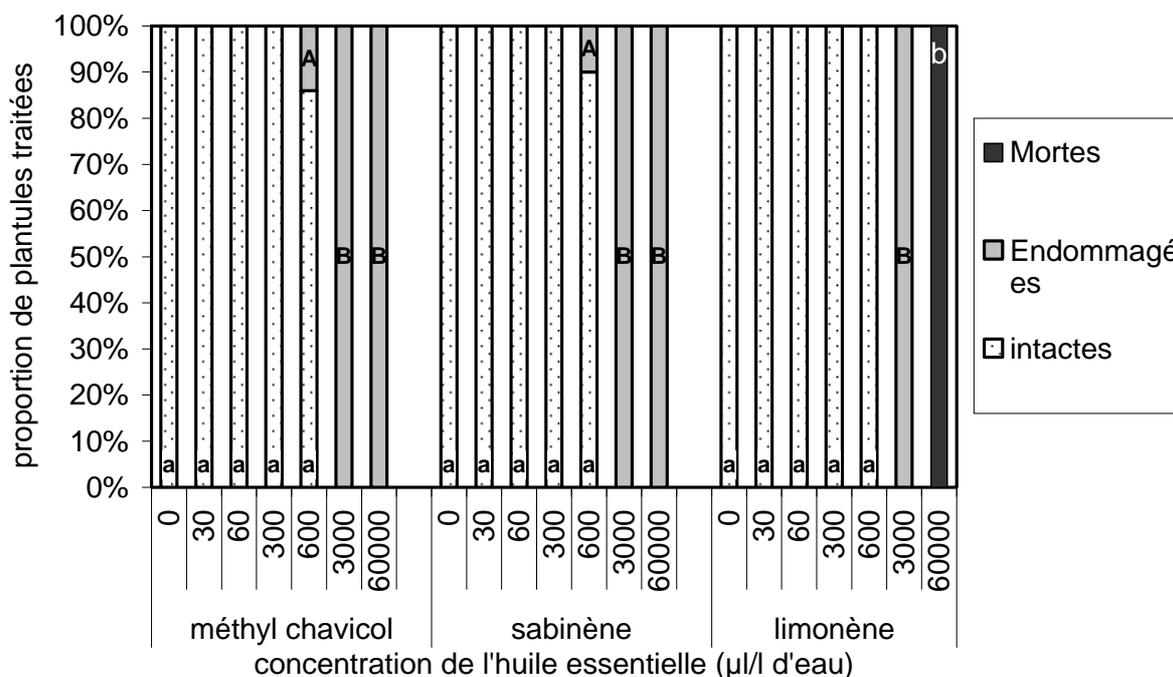


Figure 18 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur des plantules de cresson au bout de deux jours d'incubation suivies de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

La différence entre le comportement de chaque chémotype d'huile se situe au niveau du fait que l'huile à méthyl-chavicol et celle à sabinène ne font qu'endommager les plantules de cresson vers les grandes concentrations (3000 et 6000 μ l/l), tandis que l'huile à limonène les tue à 100% avec la plus grande concentration, soit 300 μ l/l d'huiles essentielles.

Il faut noter cependant que l'huile à méthyl-chavicol entraîne une complète désintégration des tiges des plantules de cresson à leur base, et des racines adventives sont apparues plus tard pour assurer la survie des plantules.

III.3. Cas de l'ambérique

III.3.1. Application en aérosol

Après deux jours d'incubation avec l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* appliquée en aérosol et cinq jours d'observation post-traitement, les plantules d'ambérique ne réagissent de façon significative qu'à partir de la 3^{ème} concentration (10µl/l d'air) et ce par des dommages non mortels et mortels (fig.19).

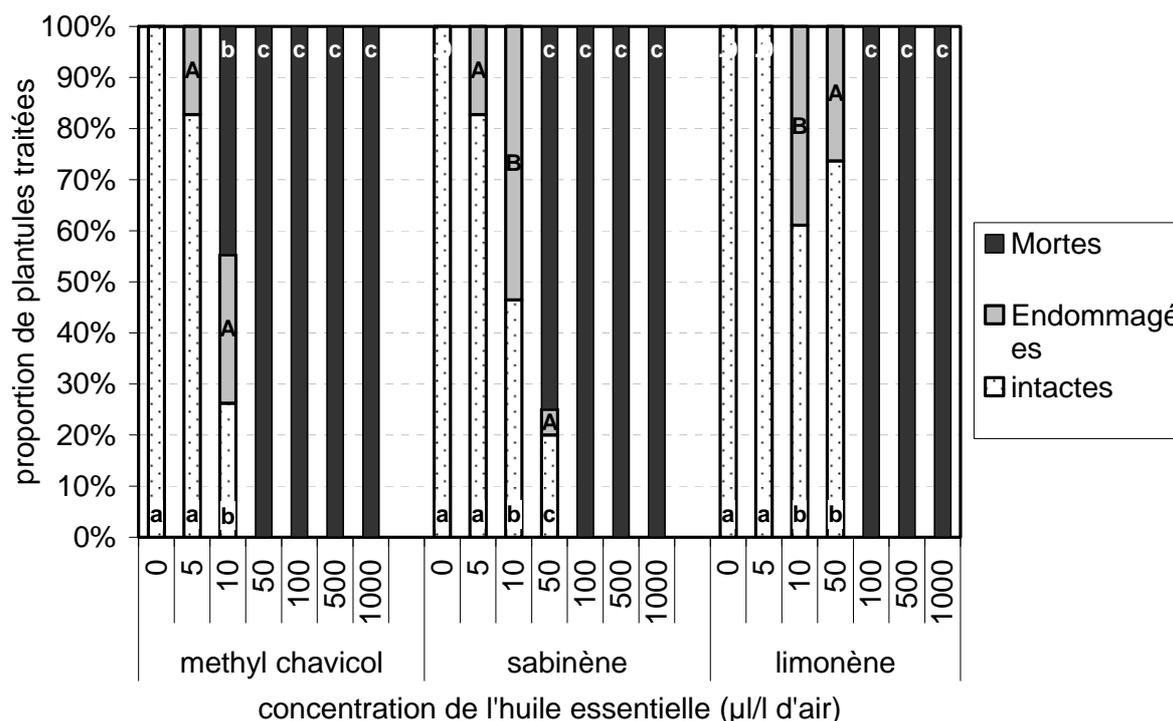


Figure 19 : Effet de l'application en aérosol de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur des plantules d'ambérique au bout de deux jours d'incubation suivies de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

Avec l'huile à méthyl-chavicol, une mort de la totalité des plantules est observée au bout de deux jours d'incubation avec 50µl/l d'huile essentielles.

Celles à sabinène et à limonène ont cet effet à 100µl/l d'huiles essentielles. Toutefois, à la concentration précédente, l'huile à sabinène induit la mort de 70% des plantules alors que celle à limonène n'arrive qu'à les endommager à 30%.

III.3.2. Application directe en solution

Appliquée en solution aqueuse sur des plantules d'ambérique, l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* ne cause que des dégâts non mortels, qui se produisent de façon statistiquement significative vers les grandes concentrations, soit 3000 et 6000 μ l/l d'eau (fig 20).

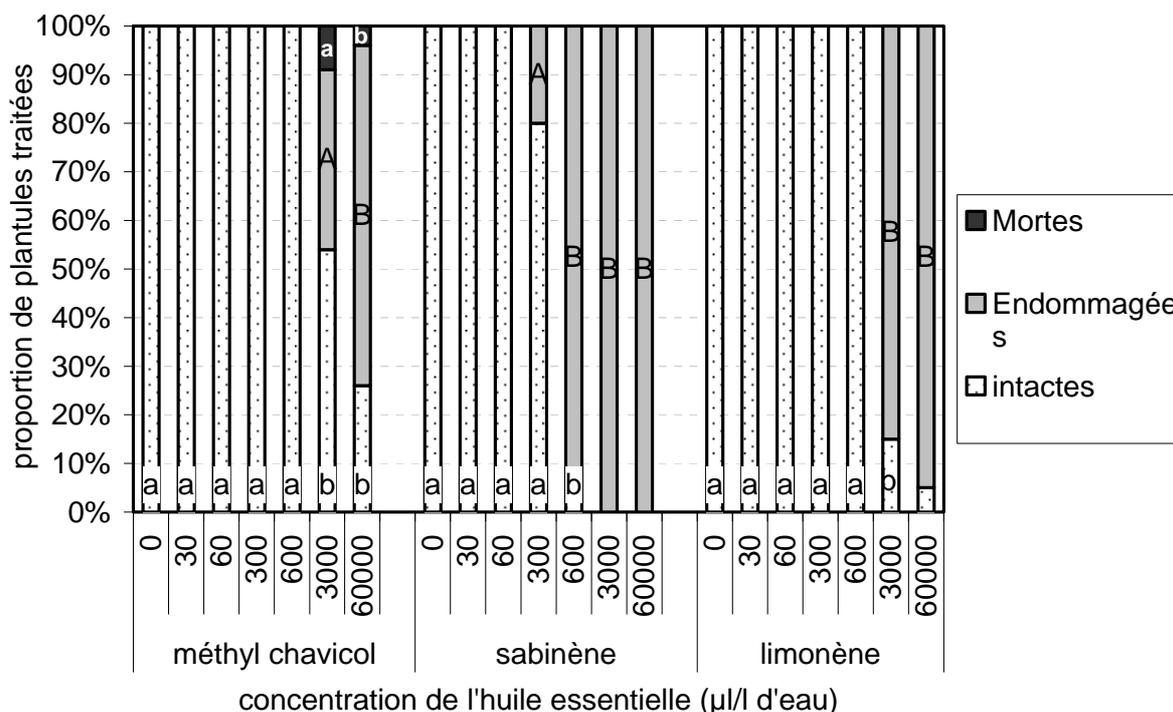


Figure 20 : Effet de l'application en solution aqueuse de différentes concentrations de trois chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* sur des plantules d'ambérique au bout de deux jours d'incubation suivies de cinq jours de rémission mesuré par le taux de plantules intactes, endommagées et mortes (les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différents et la lecture de ces lettres peut se faire dans le sens des concentrations que dans le sens des chémotypes)

L'effet de l'huile à méthyl-chavicol se manifeste à partir de 3000 μ l/l d'huiles essentielles appliquées en solution aqueuse, 50 à 70% des plantules y sont endommagées avec des tiges désintégrées à leurs bases, accompagnées de racines adventives nouvellement formées (Photo 7).

À cette concentration, l'action de celle à limonène se traduit par une proportion élevée de plantules endommagées (85%), effet obtenu avec l'huile à sabinène à 600 μ l/l d'huiles essentielles appliquées en solution aqueuse.

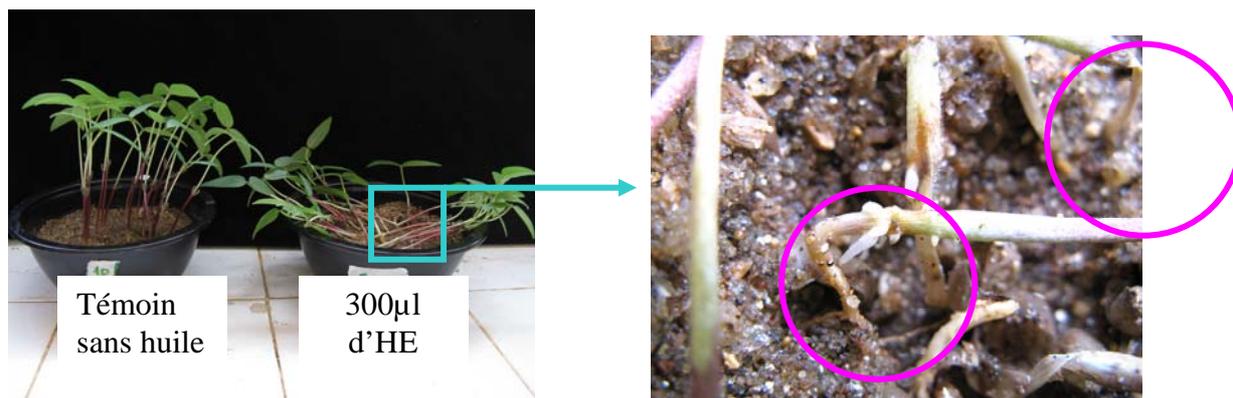


Photo 7 : des tiges désintégrées d'ambérie sur les quelles se sont formées des racines adventives (en bleue et en rouge sur les photos)

III.4. Conclusions

☞ l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* endommage ou tue les plantules des espèces testées au bout de sept jours d'incubation (photo 8).

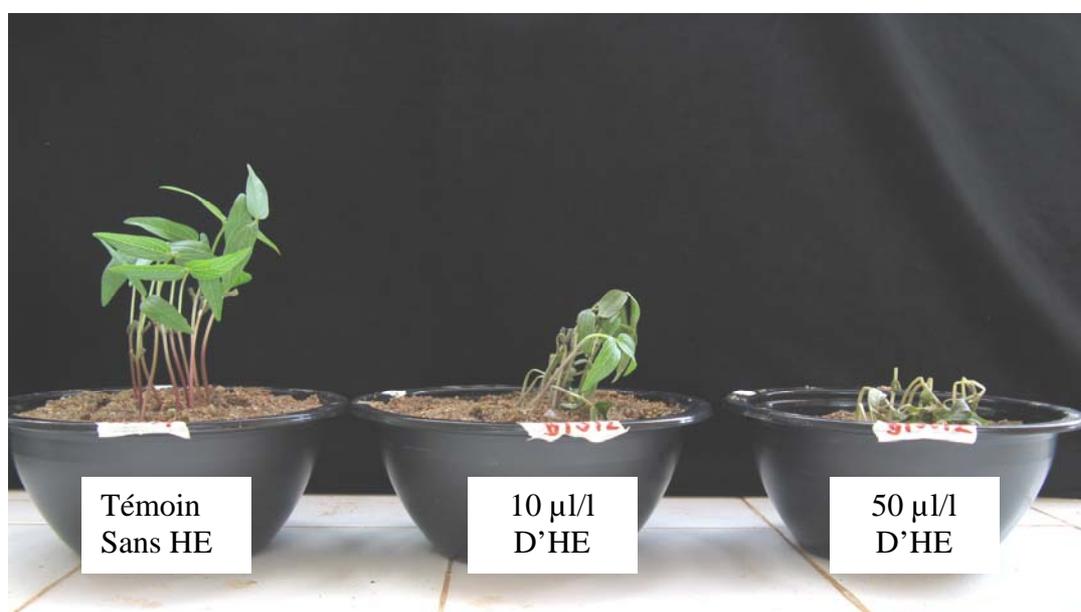


Photo 8 : Etats des plantules d'ambérie au bout de 2 jours d'incubation avec l'huile à méthyl chavicol de *Ravensara aromatica* appliquée en aérosol

☞ Cet impact change selon le mode d'application de l'huile, celui de l'application en solution étant moins prononcé que celui de l'application en aérosol (tableau 7).

☞ Il varie aussi selon le chémotype. L'huile à sabinène est, en général, la plus toxique pour les plantules de sept jours de chaque espèce testée, ensuite vient celle à méthyl-chavicol et enfin celle à limonène

☞ Le comportement de chaque espèce vis-à-vis de chaque huile paraît aussi différent : c'est le riz qui est la plus résistante et le cresson la plus sensible.

Tableau 7 : Impacts des types chimiques de l'huile essentielle de *R. aromatica* sur des plantules de sept jours de chaque espèce testées

Espèce test	Mode d'application	Dose minimum ayant un effet (µl)	Rang d'efficacité de chaque huile		
			Methyl chavicol	Sabinène	Limonène
riz	aérosol	3	2	1	3
	Solution	30	3	1	2
cresson	aérosol	1.5	2	1	3
	Solution	150	2	2	1
ambérique	aérosol	3	1	2	3
	Solution	30	3	1	2

DISCUSSION

DISCUSSION

Les résultats observés seront discutés d'après les points suivants :

- Les effets allélopathiques attribués à l'espèce.
- La variation de l'effet allélopathique en fonction de la concentration de l'huile.
- La variation de l'effet allélopathique en fonction du mode d'application de l'huile.
- La variation de l'effet allélopathique en fonction du chémotype de l'huile.
- La variation de l'effet allélopathique en fonction de l'espèce testée.
- L'interaction de ces quatre paramètres dans les résultats obtenus.

1. Les effets allélopathiques attribués à l'espèce

En présence de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica*, les semences des trois espèces testées, à savoir l'ambérique, le cresson et le riz, germent moins ou faiblement et/ou avec un léger retard ou pas du tout. Il arrive que la germination relative soit tellement faible que le délai de germination 50 est rendu absent ou nul.

Ainsi l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* retarde ou bloque le processus de germination. Elle a donc une propriété allélopathique contre la germination de trois espèces modèles éloignées. C'est une réponse couramment observée dans ce genre de test (DUDAL et al, 1999 et WILLIAMS et al, 2005). Dans la mesure où les huiles essentielles sont constituées de plusieurs molécules, celles de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* pourraient aussi avoir des propriétés allélopathiques. Ces dernières agissent parfois en inhibant certains enzymes spécifiques ou en perturbant la perméabilité de la membrane, affectant ainsi l'entrée d'eau dans une cellule végétale (EINHELLIG, 1995 ; CHOU, 1999 ; PUTNAM, 1978 ; PADHY et al, 2000 ; MORADSHASHI et al, 2003 et WEIR et al, 2004), alors que l'influx d'eau est une étape décisive dans le processus de germination (MAYERS et al, 1963). Le phénomène conduit le plus souvent à l'inhibition de la germination ou même à la mort de la semence (JEANSON, 2006), comme c'est le cas des espèces traitées au cours de nos expérimentations. Toutefois des études plus approfondies dans ce sens sont nécessaires pour affirmer que l'entrée d'eaux et la mort des graines sont reliées dans ce cas.

Néanmoins, d'autres auteurs ont reportés des effets stimulateurs de la germination, en étudiant les propriétés allélopathiques de certaines huiles essentielles (ALVEZ et al, 2004 et CABOUN, 2006). Pour notre part, de pareils cas ont été rencontrés mais les différences observées ne sont pas statistiquement significatives.

Mises en culture avec l'huile essentielle de *Ravensara aromatica*, les semences de chaque espèce modèle ne développent pas toujours des plantules cotylédonaire photosynthétiques mais seulement des radicules de longueur variable ou des plantules atteintes d'albinisme. En effet, aucun témoin non traité avec de l'huile essentielle n'est albinos.

En réduisant fortement le taux de semences ayant donné des plantules conformes, l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* perturberait le passage au stade plantules des semences germées ou émergence des plantules et ce, en stoppant la croissance de la radicule juste après sa sortie ou en donnant des plantules sans chlorophylle. Elle a dans ce sens, des effets allélopathiques sur la conversion des graines en plantules. Cet effet sur la croissance et ou l'émergence des plantules est souvent observé avec de nombreuses huiles (DUDAL et al, 1999 et BOUSQUET-MELOU et al, 2005) et pourrait résulter du fait que les composés chimiques qu'elles contiennent, ont des propriétés inhibitrices de la division cellulaire ou de la synthèse de chlorophylle, comme c'est le cas de nombreux huiles essentielles et composés allélochimiques (EINHELLIG, 1995 ; CHOU, 1999 ; PUTNAM, 1978 ; PADHY et al, 2000 ; MORADSHASHI et al, 2003 et WEIR et al, 2004). C'est d'ailleurs le cas ici. Selon l'intensité de l'efficacité de l'huile, l'effet se manifeste dans l'ordre suivant : l'absence d'effet sur la conversion en plantules, l'inhibition de la synthèse des chlorophylles et l'arrêt du processus juste après la sortie ou la croissance de la radicule.

En contact avec l'huile essentielle de *Ravensara aromatica*, les plantules de sept jours de chaque espèce modèle, souffrent de dommages dont elles peuvent se remettre au bout de cinq jours ou léthaux.

Ainsi, cette huile affecte également les plantules déjà émergées en les endommageant ou en entraînant leur mort. Elle a, par conséquent, des effets allélopathiques sur des plantules de sept jours.

Tel est aussi le résultat de nombreuses recherches effectuées sur la phytotoxicité de certaines huiles essentielles (MACIAS et al, 2001 ; WEIR et al, 2004 et JEANSON, 2006). De nombreuses huiles essentielles sont connues pour leur capacité à bloquer de nombreux processus métaboliques normaux tels la respiration, la photosynthèse de par leurs composants allélopathiques (EINHELLIG, 1995 ; CHOU, 1999 ; PUTNAM, 1978 ; PADHY et al, 2000 ; MORADSHASHI et al, 2003 et WEIR et al, 2004).

D'ailleurs, les propriétés allélopathiques de nombreux composés chimiques contenus dans les huiles essentielles extraites de différentes plantes ont été à ce jour mises en évidence, dont certaines sont retrouvées dans l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* (ANDRIANOELISOA et al, 2006), tel le limonène qui affecte l'absorption d'oxygène et l'activité de l'ATP synthase et celle du complexe adénine nucléotide translocase (MORADSHASHI et al, 2003 et WEIR et al, 2004).

La libération de ces composés, qui auparavant étaient dans la plante, se fait probablement par décomposition des litières au niveau du substrat (PUTNAM, 1978 et JEFFERSON et al, 2003). D'éventuelles émissions de ces substances sont possibles au niveau des feuilles, par volatilisation ou par lessivage lorsqu'elles étaient encore rattachées à la plante mère (PUTNAM, 1978). Par ailleurs, d'autres modes d'émissions de ces substances sont possibles au niveau d'autres parties de la plante dans la mesure où les différents organes de la plante synthétisent aussi ces molécules (ANDRIANOELISOA et al, 2006), et de telles émissions pourraient avoir des impacts significatifs sur l'allélopathie de l'huile correspondant à chacune de ces possibilités.

Le mode d'extraction de ces composés pourrait aussi affecter la capacité allélopathique de ces extraits (PENG et al, 2004 et EPPARD et al, 2005), dans la mesure où cela pourrait influencer sur la composition de l'huile essentielle (ANDRIANOELISOA et al, 2006). Il est possible que ces activités observées au laboratoire se reproduisent en milieu forestier et pourraient donc jouer un rôle déterminant dans la dynamique des espèces environnantes ou sur la dynamique de la même espèce : autotoxicité (PUTNAM et al. 1978 ; DUDAL et al, 1999 ; REIGOSA et al, 2000 et EPPARD et al, 2005). Certains auteurs ont montré qu'il y avait une différence entre le pouvoir toxique d'extraits de feuilles fraîches ou de litières artificielles et celui des huiles essentielles (JEANSON, 2006), mais peu ou

pas de travaux ont été recensés sur la différence des allélopathiques observées in situ ou ex- situ, ainsi que sur l'influence des différents modes d'extraction ou sur la variation de la capacité allélopathique entre chémotypes de la même espèce.

2. La variation de l'effet allélopathique en fonction de la concentration de l'huile

Les propriétés allélopathiques de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* se manifestent à des concentrations limites au-delà desquelles l'effet observé augmente en fonction de la dose.

De plus, il semblerait que la dose minimum nécessaire pour induire un effet perturbateur varie en fonction de l'effet observé. En effet, seules les deux plus fortes doses (6 :150µl, 7 :300µl) sont efficaces sur la germination, tandis que l'effet sur la croissance et celui sur des plantules de plusieurs jours se manifeste après application des doses 4 et 2 respectivement (50 et 5µl).

Ainsi, les semences apparaissent plus résistantes à l'effet toxique de l'huile. Cette résistance relative pourrait s'expliquer par la structure des semences qui sont enveloppées de téguments coriaces et épais leur permettant de résister à toutes formes de stress (MAYERS et al, 1963). L'émergence des plantules à l'extérieur de ce tégument les rendrait ensuite plus vulnérables. De plus, il s'agit ici de plantules de quelques jours encore très fragiles, sans oublier que plus la plantule grandit plus il y a de sites d'action possibles pour l'huile (INDERJIT et al, 2003).

Ainsi, la concentration de l'huile serait un facteur décisif de l'activité allélopathique et ce, quel que soit l'effet observé : on parle d'activité dose dépendante (JEFFERSON et al, 2003 ; PENG et al, 2004 ; WEIR et al, 2004 et ALVEZ et al, 2004).

Deux explications sont possibles :

☞ ces composés semblent agir sur la régulation des hormones, leur synthèse et leur transport. Or, l'activité de ces hormones sont dose dépendante, surtout l'auxine sur laquelle ces composés semblent le plus agir et dont la concentration des autres hormones semble dépendre (EINHELLIG, 1999 ; WEIR et al, 2004).

☞ Il a été rapporté que l'effet non observé avec certain protocole, peut apparaître en incluant d'autres concentrations et en appliquant plusieurs cycles d'hydratation – déshydratation et ou d'imbibition sur les semences (PADHY et al, 2000 et WILLIAMS et al, 2005).

Par ailleurs, des tests supplémentaires avec des doses plus fortes ont été effectués et les résultats obtenus révèlent des propriétés inhibitrices de la germination non observées à de plus faible dose (pages 35).

3. La variation de l'effet allélopathique en fonction du mode d'application de l'huile

L'application en aérosol semble donner de meilleurs résultats que celle en solution aqueuse dans la plupart des cas et ce, quelle que soit l'espèce testée, la concentration utilisée et l'impact évalué.

Ainsi, diffusée dans l'atmosphère, l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* est plus perturbatrice pour les trois stades de développement étudiés qu'en contact direct avec la plante.

Toutefois, des exceptions à cette règle ont été notées :

☞ l'huile à méthyl-chavicol semble être plus inhibitrice de la germination des graines de riz et celle des graines d'ambérique dans l'application en solution aqueuse que dans celle en aérosol.

☞ lors de la conversion des graines de riz et d'ambérique en plantule, l'huile à limonène est plus perturbatrice en solution aqueuse qu'en aérosol et celle à sabinène semble agir de même avec les graines d'ambériques.

A ce jour, peu d'études ont été effectuées sur la comparaison des deux modes d'application de l'huile. Cependant, de nombreuses recherches ont montré que le fait de mettre le composé en contact avec de l'eau ou le sol peut affecter son activité allélopathique parce que de tels procédés peuvent agir sur le pH ou peut causer des réactions avec les minéraux du sol (INDERJIT et al, 2005).

Par ailleurs, il a été prouvé que l'activité d'un composé dépend de sa structure, de sa concentration, de sa persistance et de son interaction avec d'autres composés, rendant ainsi un composé plus ou moins efficace sous une forme qu'une autre (BURT, 2004). De plus, grâce à sa volatilité, dans un conteneur clos, l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* pourrait agir directement sur les différents organes de la plante dans le cas d'une diffusion atmosphérique. En effet

l'herméticité n'a pas été assurée dans l'application en solution aqueuse dans la mesure où le traitement favorise le contact direct entre l'huile et le matériel végétal testé.

4. La variation de l'effet allélopathique en fonction du chémotype de l'huile

Les huiles semblent présenter un comportement différent selon leur chémotype. Dans tous les cas, plusieurs explications sont possibles :

☞ La différence entre l'action de chaque chémotype d'huile viendrait de leur teneur en composant majeur. En effet, l'huile à méthyl-chavicol contient 94.4% de méthyl-chavicol, tandis que celle à limonène contient 46.8% de limonène et celle à sabinène contient 45.7% de sabinène.

☞ La différence entre l'action de chaque chémotype d'huile viendrait de la structure chimique de leurs composants majeurs. Deux éléments peuvent y contribuer. En effet, le composé majeur étant en plus grande quantité, serait plusieurs fois plus actif que les constituants mineurs. Par ailleurs, grâce à une structure chimique qui leur permet d'attaquer différents sites, certains composés causent plus de dégâts que d'autres indépendamment de leur quantité. (BURT, 2004).

☞ L'activité inhérente à chaque huile peut être reliée à la configuration chimique des composants, de leur proportion et de l'interaction entre eux. Ainsi, tous les composants participent à l'intensité de l'activité : il s'agirait d'activité due à un synergisme entre les composants d'une huile, dont la résultante serait dans certains cas plus perturbatrice que d'autres (BURT, 2004).

☞ Il se peut que le facteur discriminant ne soit pas le composant majeur, soit le chémotype ; mais plutôt la proportion de chaque composant mineur. Après tout, certains composants mineurs sont de puissants allélopathiques :

- La cinéole qui inhibe la synthèse d'ADN au niveau du méristème apical racinaire ;
- La pinène qui fait intervenir plusieurs sites d'action (MORADSHASHI et al, 2003 et WEIR et al, 2004).

Tout dépendrait donc de la dose minimum à laquelle ces composés sont efficaces, de la variation dose dépendante de leur activité et de leurs interactions : il s'agit d'un effet régi par les composants mineurs (BURT, 2004).

Néanmoins, aucune explication définitive ne peut encore être avancée sur l'ordre d'efficacité des huiles en fonction de leur chémotype. D'une manière générale la limonène est la moins toxique, le méthyl-chavicol est la plus toxique ; mais ce n'est pas toujours vrai. Il est probable que cette variation instable de l'ordre de toxicité de chaque huile vient de l'interaction entre la tolérance de l'espèce test, le mode d'application de l'huile, la concentration utilisée et les propriétés physico-chimiques de chaque composant de chaque huile, mais cet un point qui sera discuté plus tard.

Bref, il se peut que ce soit dû au fait que la structure d'un composé, dans des conditions précises, atteigne plus de site d'action qu'un autre. Après tout, la structure des composants d'une huile essentielle détermine sa mode d'action (BURT, 2004).

5. La variation de l'effet allélopathique en fonction de l'espèce modèle

La sensibilité de chaque espèce modèle vis-à-vis de chaque huile diffère d'un chémotype à un autre. Elle varie également en fonction du stade de développement de la plante modèle. Ces résultats corroborent ceux rapportés dans la littérature (INDERJIT et al, 2003) :

- Lors de la germination, le cresson paraît être le plus résistant à l'huile appliquée en aérosol, tandis que le riz et l'ambérique réagissent à peu près de la même façon. Par ailleurs, les huiles n'ont pratiquement pas d'effet sur la germination des graines de cresson, appliquées en solution aqueuse, sauf un léger effet d'augmentation inexplicé du délai de germination 50 dans les doses intermédiaires (15, 30 et 150 μ l).
- Au cours de l'émergence des plantules, l'ambérique semble être le plus sensible, alors que le riz et le cresson adoptent à peu près le même comportement.

- Pour les plantules émergées, celles du cresson semblent les plus souffrir de l'exposition à l'huile, tandis que celles du riz y sont les plus résistantes.

Or, dans de nombreuses recherches effectuées auparavant, le cresson apparaissait toujours comme étant l'espèce modèle la plus sensible (BERNHARD-REVERSAT, 1987 et JEANSON, 2006), quels que soient le traitement et l'huile appliqués. Et, dans les travaux de JEANSON (2006), le riz y est souvent plus résistant que le cresson. Toutefois, il faut noter que, si la différence existe, elle est faible.

Cette différence pourrait s'expliquer en partie selon la définition de la germination adoptée par les auteurs. Dans notre cas, dès que la radicule a percé le tégument, la semence est considérée comme germée, quelle que soit la longueur de celle-ci ; alors que dans les autres travaux la semence n'est considérée germée que lorsque la radicule a atteint une certaine longueur (PENG et al, 2004).

Un autre facteur très important, sur lequel il serait intéressant de jouer dans les investigations futures est l'activité dose dépendante des composés allélochimiques, citée plus haut, qui fait que le même composé à des proportions différentes peut causer des effets très différents sur une même plante. Or dans notre étude, seul le chémotype de l'huile a été pris en considération et non la proportion du principe actif et deux huiles peuvent avoir le même chémotype mais avec un taux en composants majeurs différents ou non (ANDRIANOELISOA et al, 2006). De plus, les semences de cresson étant plus petites, il est possible que l'entrée d'eau dans la semence soit effectuée bien avant que les allélochimiques contenus dans l'huile essentielle aient pu entrer en contact avec la semence et causer des dégâts ; et le riz étant une Graminée, il est plus coriace que les deux Dicotylédones. Le reste trouve sans doute leur fondement dans le fait qu'à chaque espèce, à chaque stade de développement, correspond un degré et un mode de résistance à un composé allélopathique (INDERJIT et al, 2003). En outre, la capacité d'une espèce à tolérer et à résister à un facteur dépend de nombreux facteurs dont sa propre prédisposition génétique (RAMIANDRISOA, 2008), qui lui confère les moyens de lutter contre tout élément perturbateur.

Par ailleurs, d'autres recherches menées sur d'autres espèces modèles relatent les mêmes effets avec quelques différences au niveau de l'intensité des réponses en question, ou la concentration à laquelle elles se manifestent ; qu'il s'agisse d'espèce cultivée comme la laitue (SOARES, 2000), le millet (PADHY et al, 2000) ou d'espèces forestières telles *Adenocarpus agyrophyllus*, *Cistus landanifer* et *Rhamnus alternus* (HERRANZ et al, 2005).

6. L'interaction des paramètres étudiés dans les résultats obtenus

Dans la plupart des cas, la mesure de l'interaction entre les paramètres « espèces », « mode d'application », « chémotype » et « volume d'huile utilisée » donne une valeur de Pr nettement **inférieur à 0.05** pour chaque paramètre considéré isolément. Ainsi, l'hypothèse de l'existence d'un effet chémotype, d'un effet mode d'application, d'un effet espèce testée et d'un effet volume d'huile utilisée dans les propriétés allélopathiques de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* est vraie. Cela confirme les résultats des ANOVA séparées sans interaction. Par ailleurs, l'ordre d'efficacité des huiles, celle des volumes d'huiles utilisées et l'ordre de sensibilité des espèces testées sont aussi confirmées par cette deuxième ANOVA, mais nous avons choisi de ne plus entrer dans ces détails dans les parties du résultat qui relate l'ANOVA avec interaction pour éviter les redondances.

Cependant, la mesure de l'interaction de chacun de ces paramètres dans les fluctuations de chaque variable dépendante étudié a donné des valeurs de Pr généralement très inférieures à 0.05 (<0.0001), et dans les cas où l'interaction à quatre niveaux n'est pas vérifiée, l'hypothèse d'une interaction à 3 niveaux est retenue. Ce qui confirme l'hypothèse d'une très forte interaction entre ces paramètres dans les résultats observés.

Ainsi, toutes les variations de la propriété allélopathique de l'huile essentielle de *R. aromatica* seraient plus la résultante d'effets combinés du volume d'huile utilisée, du chémotype auquel appartient cette huile, de la façon dont cette huile est appliquée sur la plante, de l'espèce à laquelle cette plante appartient, qu'un effet isolé de chacun de ces paramètres.

CONCLUSIONS GENERALES
et
PERSPECTIVES

CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

A la suite de ce travail, nous pouvons dire que *Ravensara aromatica* a effectivement des propriétés allélopathiques, dans le sens où elle gêne le développement des trois espèces modèles, soient le riz, le cresson alénois commun et l'ambérique. Les effets observés sont les résultats de l'action des substances chimiques synthétisées au niveau de ses feuilles et récupérées par hydrodistillation. Il serait intéressant d'étudier plus en profondeur la façon dont ses composés sont libérés par la plante d'origine et agissent sur la plante cible ou celles environnantes. L'impact du mode d'extraction des composés, du mode de stockage que pourrait avoir sur leur propriété allélopathique devrait aussi faire l'objet de plus ample recherche.

Cette propriété varie en fonction de l'efficacité de l'huile, du mode d'application de celle-ci et de la sensibilité de l'espèce testée. L'huile essentielle de *R. aromatica* agit sur la germination des graines par l'inhibition totale de cette dernière, par sa baisse ou par son retard. Elle peut agir lors de la conversion des graines en plantules et ainsi avoir une action déterminante sur l'émergence de ces dernières, soit en stoppant le développement avant la sortie des plantules, soit en induisant l'évolution vers des plantules albinos. L'huile essentielle de *R. aromatica* peut aussi causer des dommages réversibles et irréversibles pouvant entraîner la mort de plantules de 7 jours.

Il découle du présent travail que la proportion de chaque composant a un impact important sur le pouvoir toxique de l'huile essentielle de cette espèce, en ce sens que la sensibilité de chaque espèce varie d'un chémotype d'huile à un autre et ce quel que soit le mode d'application de ces huiles ou l'effet étudié. Il est indéniable, cependant, que la concentration est aussi un facteur décisif dans toutes variations perçues de cette activité allélopathique.

Comme d'autres chémotypes de *R. aromatica* (ANDRIANOELISOA et al, 2006) n'ont pas été testés dans le présent travail du fait de leur insuffisance, il faudrait trouver un moyen d'en collecter suffisamment et de les tester de la même manière que les trois autres, et d'avancer plus en profondeur sur le déterminisme écophysiologique et génétique de ces différences de comportements entre les différentes huiles et l'ordre de leur efficacité.

D'une manière générale, le présent travail contribue à l'avancement des investigations sur l'espèce *Ravensara aromatica* à deux niveaux.

Il oriente le sens des investigations oeuvrant pour la valorisation de l'espèce, que ce soit dans le domaine écologique ou celui de l'agriculture, en ce sens qu'il montre à quel niveau pourrait-on intervenir pour limiter les espèces envahissantes ou gênantes. Il indique aussi quelles huiles seraient les plus pertinentes à utiliser et à quelles doses les tester? L'huile à méthyl- chavicol étant éliminée d'office du fait de sa génotoxicité (BURT, 2004), la tolérance de l'espèce indésirable serait donc le facteur décisif de choix entre l'huile à sabinène et celle à limonène.

Ce travail montre également la tolérance et la résistance de différents groupes végétaux à l'huile essentielle de l'espèce *Ravensara aromatica* en vue de l'utilisation future de celle-ci comme bioherbicide, en particulier pour le riz qui est une espèce d'intérêt économique et qui semble être plus résistante à l'huile. Il serait intéressant d'orienter les recherches sur la tolérance des espèces pathogènes et parasites de cette espèce.

Par ailleurs, d'autres investigations restent à accomplir dans la valorisation de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* comme herbicide, tels la toxicité des produits issus des espèces traitées avec ces huiles pour les consommateurs mais aussi leur toxicité pour les utilisateurs directs tels les cultivateurs et la faisabilité des protocoles utilisés à grande échelle (BURT, 2004).

Ce travail ouvre aussi, un champ de recherche sur l'existence et l'impact du phénomène allélopathique sur les écosystèmes forestiers de Madagascar et aide à comprendre des phénomènes comme la succession et la régénération soit la dynamique forestière (PENG et al, 2004).

On sait maintenant qu'*in vivo* et *ex-situ*, le phénomène existe mais quel en serait l'impact en forêt? Y – aura-t-il des répercussions sur la dynamique forestière? Peut-on éliminer totalement l'hypothèse d'une intervention de la compétition dans les résultats obtenus *in situ*. Après tout, de pareils cas ont été rapportés dans la littérature (NILLSON, 1994). Par ailleurs les investigations sur les tests *ex-situ* pourraient être élargies à d'autres forêts, d'autres saisons, et même aux variations possibles d'une génération à l'autre. En effet, même si le chémotype de l'huile ne varie pas suivant ces facteurs, le teneur en composant majeur peut varier.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDRIAMIRIJA, M.H. (2007). Etude de la composition chimique et distribution spatiale des types chimiques d'huile essentielle de feuilles de *Ravensara aromatica* Sonnerat dans les forêts de Raboana et d'Ambohilero. 132p. Mémoire d'ingénieur en Industries Agricoles et Alimentaires. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques d'Antananarivo.
- ANDRIANAIVORAVELONA, J.O.; TERREAUX, C.; SAHPAZ, S.; RASOLONDRAMANITRA, J. et HOSTETTSMANN, K. (1999). A phenolic glycoside and N-(p-coumaroyl)-tryptamine from *Ravensara anisata*. *Phytochemistry*, **52**:1145-1148.
- ANDRIANARISON, R. B. ; RAZAFINDRAZAKA, M. et MAMINIRINA, N. O. (2001). Etude sur une future gestion d'une forêt pour réserve scolaire (cas de l'EPP Sahafasenina, C.R. de Didy/Fivondronampokotany d'Ambatondrazaka). Rapport de stage. 10p.
- ANDRIANOELISOA, H.; MENUT, C.; COLLAS De CHATELPERRON, P.; SARACCO, J.; RAMANOELINA, P. et DANTHU, P. (Sous Presse). Chemical composition of essential oils in bark and leaves of individual trees of *Ravensara aromatica*.
- ASLAN, I.; CALMASUR, O.; SAHIN, F. et CALGAR, O. (2005). Insecticidal effects of essential plant oils against *Ephestia kuehniella* (Zell.), *Lasioderma serricornis* (F.) and *Sitophilus granarium* (L.). *Journal of Plant Diseases and Protection* **111**(4): 400-407.
- Association Internationale pour les Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques de Semences. (1999). Règles internationales pour les Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques de semences. *Seed Science and Technology*, **27**, supplément **1**: 362
- BELTRAMI, M.; ROSSI, D. et BAUDO, R. (1999). Phytotoxicity assessment of lake Orta sediments. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, **2**: 391-401.
- BELZ, R.G. (2007). Allelopathy in crop/weed interactions- an update. *Pest Management Science* **63**:308-326. Society of chemical industry (eds). 18p.

- BERNHARD-REVERSAT, F. (1986). Quelques observations sur l'effet allélopathique des *Eucalyptus* plantes au Congo. ORSTOM, Pointe-Noire, 12 p.
- BISHOP, C. D. (1995). Antiviral activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche), Cheel (tea tree) against tobacco mosaic virus. *Journal of Essential Oil Research*, **7**: 641-644.
- BONG-SEOP, K.(1992). Effects of pine allelochemicals on selected species. In Koreain Rizvi V (eds). *Allelopathy: Basic and applied aspects*. Chapman & Hall publ. GB-London. pp. 204-241.
- BOUSQUET-MELOU, A.; LOUIS, S.; ROBLES, S.; GREFF, S.; DUPOUYET, S. et FERNANDEZ, C. (2005). Allelopathic potential of *Medicago arborea*, a mediterranean invasive shrub. *Chemoecology*, **15**: 193-198.
- BURT, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods, a review. *International Journal of Microbiology*, **94**: 223-253.
- CABOUN, V. (2006) Tree-tree allelopathic interaction in middle European forest. *Allelopathy journal*, **17**(1): 17-32.
- CALLAWAY, RM.; ASCHEHOUG, E.T. (2000). Invasive plants versus their new and old neighbours: a mechanism for exotic invasion. *Science*, **290**: 521-523.
- CHANDRASEKHAR, S.; NARSIHMULU, C.; SHAMEEM, S. et REDDY, S. (2004) .The first stereoselective total synthesis of (GS)-S,G-dihydro-G-[(2R)-2-hydroxy-Gphenyl]-2H-pyran-Z-one. *Tetrahedron Letter*, **45**: 9299-9301.
- CHENG, S.S.; LIN, H.Y. et CHANG, S.T. (2005). Chemical composition and antifungal activity of essential oils from different tissues of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*). *Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 614-619.
- CHOU, C.H. (1999). Roles of allelopathy in plant biodiversity and Sustainable Agriculture. *Plant Science*, **18**(5): 609-636.
- Da CONCEICAO SAMPAIO ALVEZ, M.; MEIDEROS FILHO, S.; INECCO, R. et BARROS TORRES, S. (2004). Allelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface (*Pesquarias Agropescadoras*), *Pesq. Agropec.* **39**(11): 1083-1086.
- DAYAN, J. et ROB, G. (2000). Allelopathic effect of volatile cineols on two weedy plants species. *Journal of Chemical Ecology*, **26**(1): 303-313.

- DEMESURE, B.; SODZI, N. et PETIT, J. (1995). A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molecular Ecology*, **4**: 129-131.
- DUDAL, N.; POLJAKOFF-MAYBER, A.; MAYER, A. M.; PUTIEVSKY, E. et LERNER, H.R. (1999). Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. *Journal of Chemical Ecology*, **25**: 1079-1088.
- EINHEILLIG, F.A. (1995). Allelopathy: current status and future goals. In INDERJIT, DAKSHINI, K.M.M. et EINHEILLIG, F.A. *Allelopathy: Organism, Processes and Application*, ACS Symposium Series **582**:1-24.
- EPPARD, H. R.; HORTON, J.L.; NILSEN, E.T.; GALUSKY, P. et CLINTON, B.D. (2005). Investigating the allelopathic potential of *Kahnia latifolia* L. (Ericaceae). *Southern Naturalist*, **4(3)**: 383-392.
- GNIAZDOWSKA, A. et BOGATEK, R. (2005). Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals. *Acta Physiologiae Plantarum*, **27(3)**: 215-226.
- GOEL, U. et NATHAWAT, G. S. (1990). Relative effects of *Prosopis juliflora* Swartz and *Prosopis cineraria* (L.) Druce on seed germination and seedling growth. *Acta Botanica Indica*, **18**: 76-79.
- HERRANZ, J.M. ; FERNANDIS, P. ; COPETE, M.A. ; DURO, E.M. et ZALACAIN, A. (2005) . Effect of allelopathic compounds produced by *Cistus landanifer* on 20 Mediterranean taxa. *Plant Ecology*, **184**:259-272.
- HIERRO, J.L. et CALLAWAY, R.M. (2003). Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant soil*, **256**: 29-39.
- HUMBERT, 1952. Flore de Madagascar et des Comores (plantes vasculaires), **81** : 50-52
- INDERJIT; CALLAWAY, R.M. (2003). Experimental designs for the study of allelopathy. *Plant Soil*, **256**: 1-11.
- JEANSON, M. (2006). Structure et dynamique des populations d'une espèce forestière malgache, *Ravensara aromatica* (Son) : une piste allélopathique. 48p. Mémoire MASTER en Ecologie, Biodiversité et Evolution. Université de PARIS.
- JEFFERSON, L.V. et PENNACCHIO, M. (2003). Allelopathic effects of foliage extracts from four Chenopodiaceae species on seed germination. *Journal of Arid Environments*, **55**: 275-285.

- LAWRENCE, C.J. et TREWIN, V.F. (1991). The construction of biochemical reference ranges and the identification of possible adverse drug reactions in the elderly. *Statistical Medicine*, **10**(6): 831-837.
- LODHI, M.A.K (1976). Role of al allelopathy as expressed by dominating trees in a lowland forest in controlling the productivity and pattern of herbaceous growth. *Allelopathy Journal*, **2**(1): 11-22.
- MACIAS, F.A.; MOLINILLO, J.M.G; GALINDO, J.C.G.; VARELA, R.M.; SIMONET, A.M. et CASTELLANO, D. (2001). The use of allelopathic studies in the search for natural herbicides. *Allelopathy in Agroecosystems*, KHOLI, R. K.; SINGH, H.P. et BATISH, D.R. (eds), Food Products Press an Imprint of the Howarth Press, Inc. New York, London, Oxford, pp. 237-256.
- MAYER, A.M. et POLJAKOFF-MAYBER, A. (1963). The germination of seeds. Pergamon press. Ltd. Oxford-London-New york-Paris.
- MALLIK, A. U. et INDERJIT (2002). Problems and prospects in the study of plant allelochemicals: a brief introduction. In MALLIK, A. U. et INDERJIT. eds. Birkhäuser, Verlag, Baser, Boston, Berlin. *Chemical ecology of plants: Allelopathy in aquatic and terrestrial ecosystems*, pp. 1-5.
- MILLER, D.A. (1996). Allelopathy in forage crop systems. *Agronomy Journal*, **88**: 854-859.
- MINISTÈRE FRANÇAIS DE L'AGRICULTURE, Notice complémentaire relative aux demandes d'homologation de matières fertilisantes ou de supports de culture d'origine résiduaire. CERFA n° 506440 1.
- MOLINA,A.; REIGOSA, MJ. et CARBALLEIRA, A. (1991). Release of allelochemical agents from litter, throughfall, and topsoil in plantation of *Eucalyptus globulus* (Labill) in Spain. *Journal of Chemical Ecology*, **17**(1): 147-160.
- MORADSHAHI, A.; GHADIRI, H. et EBRAHIMIKIA, F. (2003). Allelopathic effects of crude volatile oil and aqueous extracts of *Eucalyptus calmaludensis* (Dehnh.) leaves on crops and weeds. *Allelopathy Journal*, **12** (2): 189-196.
- MULLER, C. H.; MULLER, W. H. et HAINES, B. L. (1964). Volatile growth inhibitors production by aromatic shrubs. *Science*, **143**: 471-473.

- NGUEFACK, J.; SOMDA, I.; MORTENSEN, C.N. et AMVAM ZOLLO, P.H. (2005). Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroun for controlling seed-born bacteria of rice (*Oriza sativa* L.). *Seed Science and Technology*, **33**: 397-407.
- NILSSON, MC (1994). Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum*. *Oecologia*, **98**: 1-7.
- OECD (Organization for the Economic Cooperation and Development) (2006) Terrestrial plants: growth test. OECD Guidelines for testing of chemicals, n° 208, Paris.
- OKA, Y.; NACAR, S.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; YANIV, Z. et SPIEGEL, Y. (2000). Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopatology*, **90**: 710-715.
- OLESZECK, W.A. et STOCHMAL, A. (2002). Triterpensaponins and flavonoids in the seeds of *Trifolium* species. *Phytochemistry*, **61**: 165-170.
- OLOFSDOTTER, M.; JENSEN, L.B. et COURTOIS, B. (2001). Improving crop competitive ability using allelopathy- an example from rice. *Plant Breeding*, **121**: 1-9.
- PADHY, B.; PATNAIK, P.K. et TRIPATHY, A.K. (2000). Allelopathic potential of *Eucalyptus* leaf litter leachates on germination of seedlings growth of finger millet. *Allelopathy Journal*, **7**: 69-78.
- PANARIN, M. et TESSYER, J. (2003). Analyse des systèmes de production agricole sur abattis brûlis- comparaison riz irrigué/riz pluvial : exemple de la forêt d'Ambohilero (commune de Didy –Ambatondrazaka. 92p. Mémoire de fin d'étude. CIRAD –Agro-Montpellier.
- PESSOA, L.M.; MARAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L. et LUCIANO, J.H.S. (2002). Antihelminic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* brin. and eugenol against *Haemonchus contortus*. *Veterinar Parasitology*, **109**: 59-63.
- PUTNAM, A.R. et DUKE, W.B. (1978). *Allelopathy in agroecosystem*. *Annual Revue of Phytopathology*, **1**(5): 131-155.
- RAKOTO, R.A. (2007). Distribution spatiale des types chimiques et diversité génétique de *Ravensara aromatica* Sonnerat (LAURACEAE) dans le centre Est de Madagascar. Mémoire de DEA. Option : Physiologie Végétale. Université d'Antananarivo. 49p.

- RAMAMONJISOA, L.; ANDRIANARIVO, C.; RABEVOHITRA, R.; RAKOTONIAINA, N.; RAKOTOVAO, Z.; RAKOUTH, B.; RAMAMONJISOA, B. S.; RAPANARIVO, S. et RATSIMIALA RAMONTA, I. (2003). Situation des ressources génétiques forestières de Madagascar. Note thématique.
- RAMIANDRISOA, D. F. T. (2008). Evolution des chémotypes d'huile essentielle de *Ravensara aromatica* (Son) par traitement sylvicole. 87p. Mémoire de fin d'études en ingénierat. Industries Agricoles et Alimentaires. ECOLE SUPÉRIEURE DES SCIENCES AGRONOMIQUES. Université d'Antananarivo.
- RANDRIAMPARANY, N.F.H.C. (2005). Contribution à l'étude prospective des potentialités écologiques en *Ravensara aromatica* Sonnerat en vue d'une proposition de gestion de son exploitation : cas de la forêt classée d'Ambohilero-commune de Didy- district d'Ambatondrazaka-région d'Alaotra-Mangoro. 94p. Mémoire d'ingénieur en Eaux et Forêt. Ecole Supérieurs des Sciences Agronomiques d'Antananarivo.
- RASOANAIVO, P. (1990). Rainforests of Madagascar: sources of industrial and medicinal plants. *Ambio*, 19(8): 421-423.
- RASOANAIVO, P. (1997). *Ravensara aromatica*: a threatened, aromatic species of Madagascar. *Medical Plant Conservation*, 4: 9.
- RAZAFITSIAROVANA, N.F. (2006). Fonctionnement de la filière huile essentielle et pérennisation d'une espèce forestière menacée de disparition : *Ravensara aromatica* Sonnerat à Madagascar. 106p. Mémoire d'ingénieur en Agromanagement. Ecole Supérieurs des Sciences Agronomiques d'Antananarivo.
- RAZANABAHINY, V. (2002). Etude d'une société coutumière : dynamique sociale et organisation paysanne (cas de la commune de Didy, préfecture d'Ambatondrazaka. 100p. Mémoire DEA. Faculté des Lettres et des Sciences Humaines. Université de Toliara.
- REIGOSA, M.J.; GONZALEZ, L.; SOUTO, X.C. et PASTORIZA, J.E. (2000). Allelopathy in forest ecosystems. In *Allelopathy in Ecological Agriculture and Forestry*. TAURO, P. (eds). Netherlands: Kluwer Academic Publishers, pp. 183-193.

- REINHARDT, C.; MPHEPHU, K. et BEZUIDENHOUT, S. (1999). Implication of allelopathic weeds for sustainability in agronomy, agroforestry and forestry. *In Biodiversity and Allelopathy: From organism to ecosystem in the pacific*. CHOU, C.H.; WALLER, G. R. et REINHARDT, C. (eds)., pp. 301-313.
- RICE, E.L. (1984) . Allelopathy(2^d ed): Academic press GB-London
- RIDENOUR, W. et CALLAWAY, R.M. (2001). The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. *Oecologia*, **126(3)**: 444-450.
- SAVAIVO (1999). Analyse diagnostique du corridor forestier Zahamena-Ankeniheny. Rapport d'activité.
- SCHATZ, G. E. (2001). Lauraceae Juss. In Generic tree flora of Madagascar, Royal Botanical Gardens, Kew and Missouri Botanical Garden. Kew, pp. 226-229.
- SHOLIN, P.; ZHUOQUAN, C.; JUN, W. et HUA, S. (2004). Is allelopathy a driving force in forest succession? *Allelopathy Journal*, **14 (2)**: 197-204.
- SHARMA, M.L. (1973). Simulation of drought and its effect on germination of five pasture species. *Agronomy Journal*, **65**: 982-987.
- SOARES, G.L.G.(2000). Inibicao da germinacao e do crescimento radicular de alface (cv. Grand rapid) por extratos aquosos de cinco especies de GLEICHENIACEAE. *Floresta e Ambiente*, **7(1)**:190-197.
- Von POSER, G.; MENUT, C.; TOFFOLI, M.E.; VERIN, P.; SOBRAL, M.; BESSIERE, J.M. ; LAMATY, G. et HENRIQUES, A.T (1996). Essential oil composition and allelopathic effect of the brazilian Lamiaceae *Hesperozygis ringens* (Benth.) epling and *Hesperozygis rhododendron* Epling. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **44**: 1828-1832.
- VYVYAN, J.R. (2002). Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron*, **58**: 1631-1649.
- WANG, S.Y.; CHEN, P.F. et CHANG, S.T. (2004). Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophleum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresource Technology*,**96**: 813-818.
- WEIR, T.; PARKS, S.W. et VIVIANCO, J.M. (2004). Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion Plant Biology*,**7**: 472-479.

- WILLIAMS, R.D.; PEAL, L.K.; BARTHOLOMEV, P.W. et WILLIAMS, S.J. (2005). Seed hydration-dehydration in an allelochemical (coumarin) alters germination and seedlings growth. *Allelopathy journal*, 15(2):183-196.
- XUAN, T.D.; SHINKICHI, T. ; KHANH, T.D. et MIN, C. (2005). Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant allelopathy: an overview. *Crop Protection*, 24: 197-206.
- <http://www.kalyx.com>. Les vertus thérapeutiques de *Ravensara aromatica*.
- <http://www.naturesgift.com>. Les vertus thérapeutiques de *Ravensara aromatica*.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : Moyenne de température et de précipitation mensuelle de la commune de Didy. Période 1951 – 1980 selon la station météorologiques d'AMPANDRIANOMBY (Source : Service de la météorologie *Ampandrianomby*)

Mois	Jan v.	Fèv.	Mar s	Avr il	Mai	Jui n	Juil let	Août	Sep t.	Oct.	Nov .	Déc
Précipitations (mm)	219,9	143,2	174,8	48,1	34,4	46,5	51,5	57,3	26,9	43,8	16,7	189,9
Nombre de jours de pluie	15,6	13,3	16,1	10,1	11,0	12,8	14,8	13,7	9,4	8,4	10,9	13,7
Précipitation max de 24h	147,7	146,4	147,8	56,0	36,7	32,9	20,1	26,4	27,7	60,5	83,3	82,2
Température moyenne	23.1	22.3	22.7	22.6	21.1	17.2	17.2	16.4	17.6	19.7	22.4	23.3

Annexe 2 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* utilisée (obtenu après analyse chimique. Comme les arbres de Didy sont déjà chemotypés, il restait à déterminer les composants chimiques et leur proportion relative) [Source : ANDRIANOELISOA S. Hanitriniaina N. (communication personnelle)]

Composants chimiques	Chemotype d'huile		
	m-chavicol	limonène	Sabinène
a-thujene		0.2	1.8
α -pinène		1.4	10.8
camphene		1.0	1.0
sabinène		0.9	45.7
b-pinene		1.4	6.7
myrcene		2.9	3.2
a-phellandrene		1.6	0.7
d2-carene		0.3	0.0
delta-3-carène		1.5	0.7
α -terpinène		0.3	1.5
p-cymène		0.3	0.4
limonène	0.3	46.8	7.0
trans-b-ocimene		0.3	0.0
γ -terpinene		0.1	3.1
linalool	1.2	9.7	0.9
borneol	0.1	0.9	0.0
terpinen-4-ol	0.1	0.9	6.1
m-chavicol	94.4	0.2	0.3
bornyl acetate	0.1	0.2	0.0
m-eugenol	3.0	3.2	0.1
a-copaene		0.5	0.3
b-cubebene		0.9	0.6
(E)- β -caryophyllene	0.2	3.0	3.1
a-humulene		0.7	0.4
germacréne D	0.1	4.7	1.0
E-nerolidol	0.1	8.4	0.0
b-phellandrène			0.2
1,8 Cineole			0.2
Cis-Hydrate de sabinene			0.0
ans-Linalool oxide (furanoid)			1.2
cis-Linalool oxide (furanoid)			0.7
cis-p-Menth-2-en-1-ol			0.0
ans-p-Menth-2-en-1-ol			0.3
d-Terpineol			0.0
a-terpineol			0.0
cis-Piperitol			0.0
trans-Piperitol			0.0
Piperitone			0.0
(E)-Anethole			0.0
terpinen-4-yle acetate			0.0
Piperitenone			1.6
α-Terpinyl acetate			0.2

Annexe 3 : Données relatives aux moyennes des germinations relatives et des délais de germination 50 ayant servis à l'établissement des graphes pour l'impact de l'huile sur la germination

EFFET sur la GERMINATION des graines

AEROSOL

AMBERIQUE

concentration (μ l/l d'air)	GR			DG 50		
	methyl chavicol	sabinène	limonène	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	1.000	1	1	0.578	0.65	0.4
5	0.999	0.98	1.02	0.580	0.65	0.52
10	1.016	1.02	0.99	0.555	0.63	0.48
50	1.016	1.02	0.96	0.548	0.55	0.49
100	0.984	0.99	0.99	0.553	0.8	0.48
500	0.982	0.99	1.01	0.573	1.07	0.49
1000	1.025	0	0	0.723		
5000	0.700			0.930		

CRESSON

concentration (μ l/l d'air)	GR			DG 50		
	methyl chavicol	sabinène	limonène	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	1.000	1	1	0.703	0.5	0.53
5	0.977	1.02	1.03	0.733	0.5	0.52
10	0.970	1.02	0.93	0.780	0.5	0.58
50	0.952	1	1.01	0.838	0.5	0.58
100	0.919	0.98	1.02	0.838	0.5	0.61
500	0.986	0.99	1.01	0.758	0.5	0.58
1000	0.877	1.02	0.43	0.735	0.53	

RIZ

concentration (μ l/l d'air)	GR			DG 50		
	methyl chavicol	sabinène	limonène	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	1.000	1	1	3.600	1.88	2.48
5	1.020	1	0.94	2.900	1.8	2.65
10	1.000	0.99	1	3.180	1.83	2.63
50	0.990	0.97	0.97	3.100	1.93	2.55
100	0.940	1.03	0.96	3.100	1.98	2.6
500	0.930	0.96	0.94	3.200	2.68	4.48
1000	0.430	0.89	0.95		2.83	4.65

SOLUTION AQUEUSE

AMBERIQUE

concentration (µl/l d'eau)	GR			DG 50		
	methyl chavicol	sabinène	limonène	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	1	1	1	1.025	0.62	0.6
500	1.08	0.97	0.97	0.82	0.87	0.67
1000	1.07	1.05	1.01	0.7	0.7	0.6
5000	1.02	1.04	1.01	1.275	0.7	0.55
10000	1.01	1.04	1.02	1.125	0.67	0.62
50000	0.7	0.96	0.8	1.725	0.62	1.9
100000	0	0.98	0.81		0.7	1.77

CRESSON

concentration (µl/l d'eau)	GR			DG 50		
	methyl chavicol	sabinène	limonène	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	1	1	1	0.5	0.5	0.5
500	1.03	1.01	1.01	0.5	0.5	0.5
1000	1.02	1.01	0.99	0.5	0.5	0.5
5000	0.95	1.02	1	0.85	0.5	0.5
10000	0.92	0.99	0.99	1.175	0.52	0.5
50000	0.96	0.99	0.99	0.65	0.5	0.62
100000	0.97	0.97	0.99	0.65	0.52	0.5

RIZ

concentration (µl/l d'eau)	GR			DG 50		
	methyl chavicol	sabinène	limonène	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	1	1	1	2.55	2.8	4.08
500	0.94	0.94	1	3.3	3.17	3.83
1000	0.89	1.03	0.93	4.075	2.67	4.05
5000	0.98	1.06	1.07	3.53	2.57	3.83
10000	0.96	1.04	0.99	3.4	2.5	3.88
50000	0.87	1.1	0.9	4.22	2.67	4.1
100000	0	1.04	0.7		2.65	4.35

Annexe 4 : Données relatives aux moyennes des proportions de plantules ayant atteint le stade cotylédonnaire (les cellules grises sont celles dont les plantules sont albinos) **ayant servis à l'établissement des graphes pour l'impact de l'huile sur l'émergence des plantules**

EFFET sur la CONVERSION des graines en plantules

RIZ

concentration de l'huile essentielle ($\mu\text{l/l}$ d'air)	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	73.1	89	86.6
5	75	91.7	89
10	74.4	89.2	90.8
50	74.6	90	90.8
100	44	86.5	94.7
500	0	0	91.2
1000	0	0	92.9

CRESSON

concentration de l'huile essentielle ($\mu\text{l/l}$ d'air)	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	89.7	98.3	94.5
5	92	100	95.5
10	62.3	99	97.5
50	48.5	96	92.5
100	23.5	88	91.43
500	0	0	86.05
1000	0	0	41.4

AMBERIQUE

concentration de l'huile essentielle ($\mu\text{l/l}$ d'air)	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	72	89	69
5	75	87	78.16
10	64.5	73.3	63.56
50	0	77.45	67.86
100	0	0	73
500		0	0
1000		0	0

SOLUTION AQUEUSE

RIZ

concentration de l'huile essentielle ($\mu\text{l/l}$ d'eau)	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	89	94	91
70	86	94	96
140	93	93	96
700	91	87	94
1400	89	93	93
7000	100	95	96
14000	0	73	16.5

CRESSON

concentration de l'huile essentielle ($\mu\text{l/l}$ d'eau)	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	96.7	92.5	89
70	97.7	95.56	85
140	97.3	90.63	98
700	91.5	93.3	99
1400	87	91.67	95.5
7000	0	37.5	97.5
14000	0	18.333	87.66

AMBERIQUE

concentration de l'huile essentielle ($\mu\text{l/l}$ d'eau)	methyl chavicol	sabinène	limonène
0	77.7	67.5	87.2
70	76	63.4	87.3
140	83.9	63.2	86.7
700	66	11.9	85.1
1400	26.3	0	0
7000	0.86	0	0
14000	0	0	0

Annexe 5 : Données relatives aux moyennes des proportions (%) de plantules mortes, endommagées et saines ayant servies à l'établissement des graphes pour l'effet herbicide de l'huile

EFFET HERBICIDE

AEROSOL

RIZ	Methyl Chavicol			Sabinène			Limonène		
concentration (µl/l d'air)	saines (%)	Endommagés (%)	Mortes (%)	saines (%)	Endommagés (%)	Mortes (%)	saines (%)	Endommagés (%)	Mortes (%)
0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
5	100	0	0	100	0	0	100	0	0
10	70	93	0	25	75	0	100	0	0
50	0	86	14	0	82	17	0	100	0
100	0	69	31	0	47	70	0	100	0
500	0	66	34	0	0	100	0	100	0
1000	0	62	38	0	0	100	0	100	0

CRESSON	Methyl Chavicol			Sabinène			Limonène		
concentration (µl/l d'air)	saines (%)	Endommagés (%)	Mortes (%)	saines (%)	Endommagés (%)	Mortes (%)	saines (%)	Endommagés (%)	Mortes (%)
0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
5	39	61	0	0	0	100	77	22	0
10	17	75	8	0	0	100	22	52	25
50	0	0	100	0	0	100	0	50	50
100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
500	0	0	100	0	0	100	0	0	100
1000	0	0	100	0	0	100	0	0	100

AMBERIQUE	Methyl Chavicol			Sabinène			Limonène		
concentration (µl/l d'air)	saines (%)	Endommagés (%)	Mortes (%)	saines (%)	Endommagés (%)	Mortes (%)	saines (%)	Endommagés (%)	Mortes (%)
0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
5	83	17	0	83	17	0	100	0	0
10	26	29	44	46	53	0	66	42	0
50	0	0	100	20	5	75	70	25	0
100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
500	0	0	100	0	0	100	0	0	100
1000	0	0	100	0	0	100	0	0	100

SOLUTION AQUEUSE

RIZ	methyl chavicol			sabinène			limonène		
concentration de l'huile essentielle (µl/l d'eau)	saines	endommagées	mortes	saines	endommagées	mortes	saines	endommagées	mortes
0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
5	100	0	0	100	0	0	100	0	0
10	100	0	0	100	0	0	100	0	0
50	95	5	0	85	15	0	90	10	0
100	55	45	0	65	35	0	90	10	0
500	25	75	0	0	100	0	0	100	0
1000	0	100	0	0	25	75	0	85	15

CRESSON	methyl chavicol			sabinène			limonène		
concentration de l'huile essentielle (µl/l d'eau)	saines	endommagées	mortes	saines	endommagées	mortes	saines	endommagées	mortes
0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
5	100	0	0	100	0	0	100	0	0
10	100	0	0	100	0	0	100	0	0
50	100	0	0	100	0	0	100	0	0
100	86	14	0	45	5	0	100	0	0
500	0	100	0	0	100	0	0	100	0
1000	0	100	0	0	100	0	0	0	100

AMBERIQUE	methyl chavicol			sabinène			limonène		
concentration de l'huile essentielle (µl/l d'eau)	saines	endommagées	mortes	saines	endommagées	mortes	saines	endommagées	mortes
0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
5	100	0	0	100	0	0	100	0	0
10	100	0	0	100	0	0	100	0	0
50	100	0	0	80	20	0	100	0	0
100	100	0	0	5	95	0	100	0	0
500	54	37	9	0	100	0	15	85	0
1000	26	70	4	0	100	0	5	95	0

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

Faculté des sciences

Département de Biologie et Ecologie végétale

DEA 2008

**En Biologie et Ecologie
Végétales**

Option : Physiologie végétale

Title: « INVESTIGATING THE ALLELOPATHIC PROPERTIES OF *Ravensara aromatica* Sonnerat (LAURACEAE) »

Author: ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra

SUMMARY

Essential oils in fresh leaves of *Ravensara aromatica* Sonnerat, an endemic tree of Madagascar humid Eastern region, were extracted by hydrodistillation in order to investigate their allelopathic properties.

The toxicity of three chemotypes, on three species (*Oriza sativa* L., *Lepidium sativum*, *Phaseolus aureus*) grown at three developmental stages were evaluated.

Ravensara aromatica essential oil was found to be inhibitor of seed germination by delaying it and by reducing the germination rates. The oil is also toxic on seedlings development by disrupting radicle growth and promoting the formation of albinos plant. Finally, the oil caused different ranges of damages on seedlings that may lead to their death.

This called dose-depended activity seem to have a minimal efficient- dose which varied according to the developpemental stage studied: 150 µl are necessary to inhibit 50 to 100% the germination of seeds , 15 µl are necessary to stop or to disrupt 50 to 100% the germinated-seed growth and 1,5 µl may cause 50 to 100% of damaged or dead seedlings.

Aerosol- applied oils are often more allelopathic than those applied directly diluted with the culture medium ; and in opposition to healthy seedlings, germinated –seed growth and seed germination seemed to be more sensitive with methyl-chavicol oil than on Sabinene or Limonene oil.

Each model species showed different sensitivities to each chemotype, but the rice appears to be the more resistant to their herbicidal activity.

These results suggest that *Ravensara aromatica* could act as a control agent over surrounding- species dynamic and possibly on the whole ecosystem. The essential oil extracted from *R. aromatica* could be used as a bioherbicide, following deeper investigations on its toxicity and mode of action.

Keywords: *Ravensara aromatica* Sonnerat ; Allelopathy ; Chemotype ; Essential Oil ; seed germination, germinated-seed growth, herbicide.

Supervisors: Dr RATSIMIALA RAMONTA Isabelle
Dr DANTHU Pascal

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO
Faculté des sciences
Département de Biologie et Ecologie végétale

DEA 2008
En Biologie et Ecologie
Végétales
Option : Physiologie végétale

Titre: « EVALUATION DES PROPRIETES ALLELOPATHIQUES DE *Ravensara aromatica* Sonnerat (LAURACEAE) »

Auteur : ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra

RESUME

Les huiles essentielles de feuilles fraîches de *Ravensara aromatica* Sonnerat, espèce endémique de la région humide de l'Est de Madagascar ont été extraites par hydrodistillation en vue de l'étude de leurs potentialités allélopathiques.

Seuls trois chémotypes ont pu être extraites en quantités suffisantes. Leurs toxicités vis-à-vis de la germination, de la croissance et envers des plantules saines de trois espèces tests, dont le riz, l'ambérique et le cresson alénois commun, ont été évaluées sous sept concentrations et deux modes d'applications de l'huile essentielle.

Ainsi, l'huile essentielle de *Ravensara aromatica* Sonnerat a effectivement des propriétés allélopathiques : elle inhibe la germination (50 à 100%), perturbe le devenir en plantule (arrêt de la croissance de 60 à 100%) et est toxique pour les plantules développées (50 à 100% de plantules mortes ou endommagées). Ces propriétés se manifestent à partir de concentrations bien déterminées et la dose minimum pour induire un effet diminue quand on passe d'un stade de développement à l'autre : 1,5 µl pour la germination, 15 µl pour la conversion des graines en plantules et 150 µl pour des plantules développées.

Le chémotype de l'huile testé est aussi un facteur décisif de chaque effet et dans les deux premiers niveaux : l'huile à méthyl-chavicol semble générer le plus de dégât, ensuite vient celle à sabinène et le moins nuisible apparaît être l'huile à limonène ; tandis qu' au niveau de l'effet herbicide l'huile à sabinène dépasse celle à méthyl-chavicol et celle à limonène.

Le mode d'application de ces huiles semble aussi avoir un impact sur l'intensité de cet effet, celle en aérosol semble être plus favorable comparée à celle en solution aqueuse.

La tolérance et la résistance des espèces tests sont les derniers facteurs de variabilité pour cette propriété, cependant l'ordre de sensibilité change à chaque niveau et le riz est le plus résistant à l'effet herbicide après l'ambérique et le cresson alénois commun.

De tels résultats suggèrent que *Ravensara aromatica* joue probablement un rôle déterminant dans la dynamique des espèces environnantes et donc de l'écosystème dont elle fait partie, ce qui implique une possible utilisation de son huile essentielle comme bioherbicide avec de plus grandes investigations dans ce sens.

Mots clés : *Ravensara aromatica* Sonnerat ; Allélopathie ; Chémotype ; Huile essentielle ; germination, croissance, herbicide.

Encadreurs : Dr RATSIMIALA RAMONTA Isabelle
Dr DANTHU Pascal