

**AFPP – ONZIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MALADIES DES PLANTES
TOURS – 7 AU 9 DÉCEMBRE 2015**

**DEVELOPPEMENT DU BIOCONTROLE ET SUBSTANCES NATURELLES VEGETALES :
QUE NOUS APPRENNENT LES ESSAIS AU LABORATOIRE ?
APPLICATION SUR 2 SOUCHES DE PHYTHOPHTORA INFESTANS S ET R MEFEMOXAM**

J. MUCHEMBLEMED¹, C. DEWEER¹, L. EMILE¹, L. BREHAULT¹, D. GELIN¹, J. ZAVODSKI¹,
K. SAHMER², P. HALAMA¹

¹ ISA Lille - Institut Charles Viollette
Laboratoire Biotechnologie et Gestion des Agents Pathogènes en agriculture (BioGAP),
48 boulevard Vauban, 59046 Lille Cedex, France
jerome.muchembled@isa-lille.fr

² ISA Lille - LGCgE
Laboratoire Génie civil et GéoEnvironnement,
48 boulevard Vauban, 59046 Lille Cedex, France

RÉSUMÉ

Des substances naturelles d'origine végétale et minérale sont testées *in vitro* sur *Phytophthora infestans*, le champignon responsable du mildiou de la pomme de terre et de la tomate. L'efficacité biofongicide de 7 huiles essentielles (eucalyptus, girofle, menthe, origan, sarriette, tea tree et thym) est comparée à l'efficacité du sulfate de cuivre par l'intermédiaire du calcul de la CI₅₀. Les substances naturelles sont testées en milieu liquide sur 2 souches de *Phytophthora infestans*, respectivement S sensible et R Résistante au méfémoxam (= métalaxyl-M). La méthodologie employée permet d'observer des différences d'efficacités entre substances naturelles testées et entre les 2 souches testées. Le sulfate de cuivre et l'huile essentielle de girofle présentent les meilleures efficacités et il n'y a pas de différence entre les souches S et R. Les 2^{ème} et 3^{ème} huiles essentielles les plus efficaces sont celles de origan et sarriette, avec une plus forte efficacité sur la souche R que sur la souche S.

Mots-clés : Biocontrôle - huile essentielle - *Phytophthora infestans* - laboratoire.

ABSTRACT

**BIOCONTROL DEVELOPMENT AND PLANT NATURAL SUBSTANCES : WHAT CAN WE LEARN ON THE
LABORATORY TESTS ?**

EXPERIMENT ON 2 PHYTHOPHTORA INFESTANS STRAINS S AND R MEFEMOXAM

Natural substances of plant and mineral origin are tested *in vitro* on *Phytophthora infestans*, the fungus that causes late blight of potato and tomato. The effectiveness of biofungicide of 7 essential oils (eucalyptus, clove, mint, oregano, savory, thyme and tea tree) is compared with the efficacy of copper sulphate by the calculation of the IC₅₀. Natural substances are tested in liquid medium on two strains of *Phytophthora infestans*, respectively S sensitive and R Resistant to mefemoxam (= metalaxyl-M). The methodology allows to observe different efficiencies between natural substances and between the two strains tested. Copper sulfate and clove essential oil have the best efficiencies and there is no difference between S and R strains. The second and third most effective essential oils are oregano and savory, with a higher efficiency on the R strain than the strain S.

Keywords: biocontrol - essential oils - *Phytophthora infestans* – laboratory.

INTRODUCTION

Dans la nature, les huiles essentielles (HE) sont des métabolites secondaires de plantes intervenant dans leur protection. Leurs propriétés sont multiples : antibactériennes, antivirales, insecticides, nématocides, herbicides et fongicides (Bakkali *et al*, 2008 ; Koul *et al*, 2008). Utilisées historiquement par la médecine pour leurs propriétés antiseptiques (Shaaban, 2012), les HE peuvent aussi être utilisées par l'agroalimentaire (arômes) ou la parfumerie cosmétique (parfum, conservateur). En agriculture, les HE peuvent être utilisées en santé animale et végétale. Trois HE sont ainsi utilisables actuellement en France en protection des cultures :

- L'huile essentielle de girofle est utilisée en post-récolte des pommes et des poires contre les maladies de conservation (Bioxeda®).
- L'huile essentielle d'écorce d'orange est utilisable sur plusieurs cultures à la fois contre certains insectes et certains champignons (Prev-am®, Limocide®, Essen'ciel®).
- L'huile essentielle de menthe est ainsi utilisable en antigerminatif au stockage des pommes de terre (BioX-M®)

Si la diversité végétale est une source de très nombreuses huiles essentielles aux propriétés multiples, il n'y a donc que peu de choix d'huiles essentielles homologuées selon la réglementation européenne 1107/2009. Afin d'acquérir des connaissances sur l'usage des HE en protection des plantes et de favoriser l'émergence éventuelle de nouvelles huiles essentielles, un criblage préliminaire de 7 HE est réalisé *in vitro* sur *Phytophthora infestans* dans le cadre d'un programme CASDAR. Si les HE de girofle et d'orange ont des homologations fongicides (respectivement anti-Gleosporium sur pommes/poires et anti-mildiou sur vigne), il n'y a aucune HE homologuée comme fongicide sur pomme de terre. Le mildiou de la pomme de terre et de la tomate est une maladie redoutable dont les pertes annuelles mondiales sont estimées à 6.7 milliards de dollars. Pour la pomme de terre, l'indicateur de fréquence de traitement moyen fongicide estimé en France en 2011 est de 11.6, soit 75% de l'IFT total (Agreste, 2013). En agriculture biologique, la gestion de la maladie passe par l'utilisation de variétés peu sensibles et par l'utilisation de produits phytosanitaires à base de cuivre, celui-ci n'étant pas sans repercussion sur l'environnement (EFSA, 2013). L'utilisation à grande échelle de produits phytosanitaires d'origine chimique ou minérale pour juguler cette sérieuse pathologie peut conduire à des pollutions environnementales. En complément des fongicides chimiques et minéraux, les substances naturelles végétales que sont les HE pourraient elles introduire une dose de biocontrôle dans la gestion des populations de souches de mildiou ? Avant de tenter de répondre à ces questions par des essais au champ, il faut tout d'abord modéliser les réponses des HE par des essais au laboratoire selon une méthodologie adaptée.

MATERIEL ET MÉTHODES

MILIEU DE CULTURE ET *PHYTOPHTHORA*

2 souches de *Phytophthora infestans*, Pi 1 (2011, France) et Pi 2 (2012, Belgique) sont utilisées pour leurs sensibilités différentes au Méfémoxam. Les souches sont conservées sur du milieu gélosé V8, sans lumière et à 19°C.

HUILES ESSENTIELLES (HE) ET FONGICIDES

Les HE choisies pour ces tests sont des huiles commerciales d'eucalyptus *Eucalyptus citriodora* (E), de girofle *Syzygium aromaticum* (G), de menthe *Mentha spicata* (M), d'origan *Origanum compactum* (O), de sarriette *Satureja montana* (S), de tea tree *Melaleuca alternifolia* (TT) et de thym *Thymus vulgaris* (T).

Le méfémoxam est utilisé comme substance active fongicide de référence pour caractériser la sensibilité des 2 souches. L'efficacité des huiles essentielles est comparée à celle du sulfate de cuivre.

TECHNIQUE UTILISEE

Criblage des huiles essentielles en microplaque

Une gamme de 8 concentrations d'HE ou de substances actives fongicides est mélangée avec du glucose peptone puis répartie dans des microplaques 96 puits. 8 puits par concentration sont inoculés avec une suspension calibrée sous microscope produite à partir de cultures âgées de 20 jours. Les 4 autres puits non inoculés serviront de témoin pour calculer la DO nette correspondant à la croissance du champignon. Les microplaques sont ensuite scellées et mise en agitation (140 rpm) à 20°C pendant 6 jours (d'après Deweer *et al*, 2013).

Lecture des résultat et calcul de CI_{50}

Elle se fait à 635 nm avec un lecteur de microplaques. La DO nette obtenue en fonction des concentrations permet de calculer la CI_{50} (Concentration inhibitrice à 50%) à l'aide d'une régression non linéaire. Les expérimentations sont réalisées au moins trois fois de manière indépendante. Si 3 CI_{50} indépendantes peuvent être produites et analysées statistiquement (ANOVA), un programme spécifique développé sous R permet également de produire une unique CI_{50} avec intervalle de confiance (95%) selon un F test (Sahmer *et al*, 2014). Plus la CI_{50} est faible et plus l'huile essentielle est efficace.

RESULTATS

EFFETS DU MEFEMOXAM ET DU SULFATE DE CUIVRE

Tableau I : Concentrations inhibitrices à 50% (CI_{50}) pour le méfémoxam et le $CuSO_4$.

Table I: Half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) for mefemoxam and $CuSO_4$.

Souches	Substance active	* CI_{50} (mg/L)	*Int de confiance CI_{50} (mg/L)
Pi 1	Méfémoxam	Non calculable	Non calculable
	$CuSO_4$	32,9	[27,1 - 40]
Pi 2	Méfémoxam	0,04	[0,035 - 0,045]
	$CuSO_4$	23,7	[19,6 - 28,7]

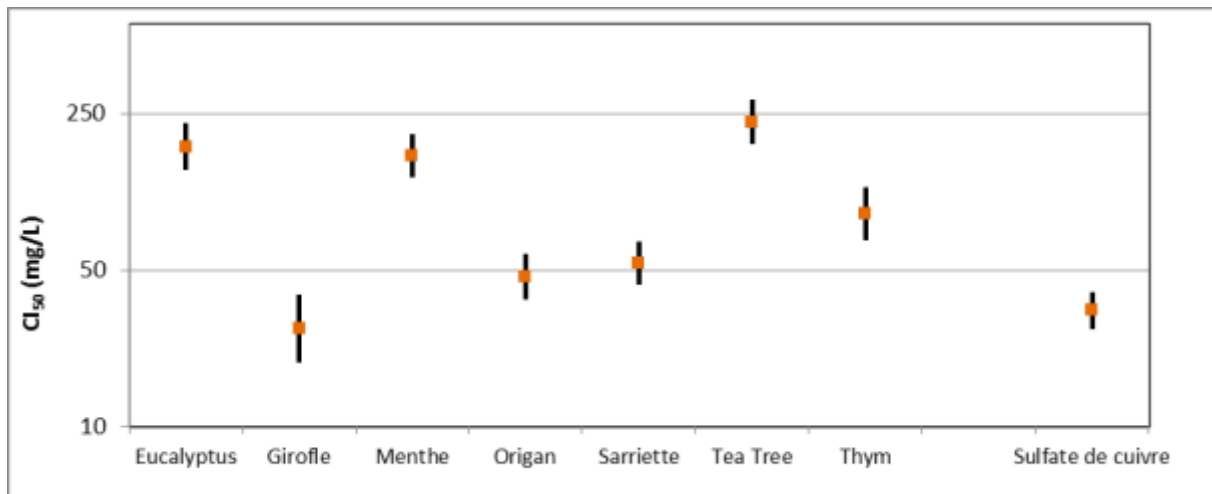
* Calculés à partir de 3 expériences répétées de manière indépendante ; intervalle de confiance à 95% avec borne inférieure à 2.5% et borne supérieure à 97.5%.

Aucune inhibition n'est observée pour le méfémoxam sur Pi 1. La CI_{50} du méfémoxam n'est donc pas calculable pour Pi 1 alors qu'elle est calculable pour Pi 2. La souche Pi 2 est donc sensible au méfémoxam (Pi 2 S) tandis que la souche Pi 1 est résistante au méfémoxam (Pi 1 R). Des CI_{50} variant entre 0.4 et 4 mg/L ont été obtenues par Rekanovic *et al* (2012) mais il s'agissait de tests en milieu solide gélosé sur du mycélium. Sur la souche sensible, le sulfate de cuivre a une CI_{50} supérieure à celle du méfémoxam. Sur la souche résistante, le $CuSO_4$ présente une efficacité fongicide. Même si la CI_{50} du $CuSO_4$ sur Pi 2 S paraît plus basse que sur Pi 1 R ; il n'y a pas de différence significative d'efficacité sur les 2 souches selon les intervalles de confiance.

EFFETS DES HUILES ESSENTIELLES

- Sur la souche résistante Pi 1 R

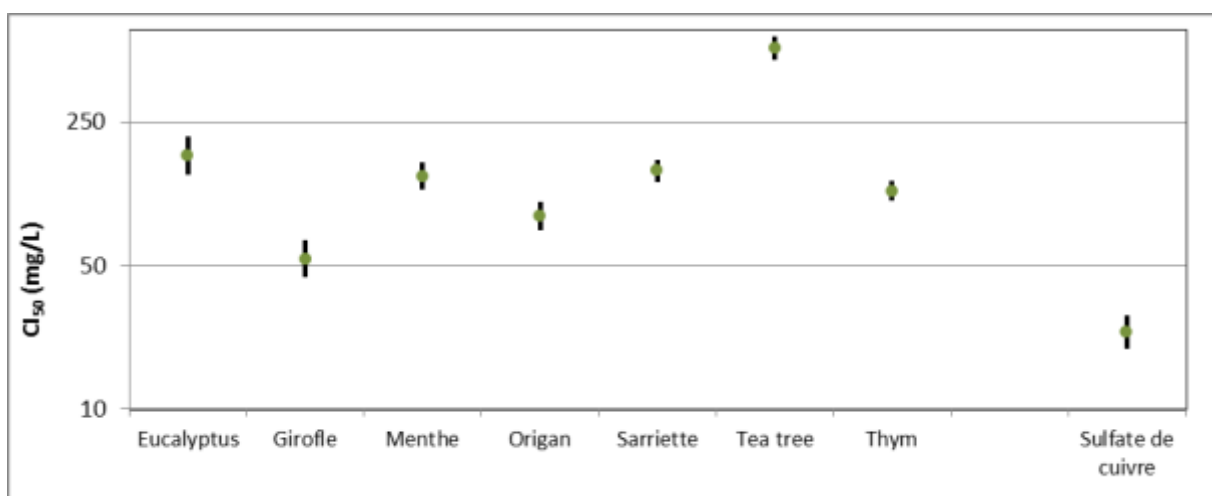
Figure 1 : CI_{50} des huiles essentielles et du $CuSO_4$ sur la souche résistante méfémoxam.
Figure 1: IC_{50} of essential oils and $CuSO_4$ on the mefemoxam resistant strain.



Avec une CI_{50} de 27,5 mg/L, l'huile essentielle de girofle est la plus efficace. Elle est suivie par les huiles essentielles d'origan et de sarriette avec respectivement 46,7 et 53,5 mg/L puis, par celle de thym (89,2 mg/L). Les huiles essentielles de menthe, eucalyptus et tea tree sont les moins efficaces avec des CI_{50} respectivement de 162, 177 et 229 mg/L. L'HE de girofle (27,5 / [19,4 - 39]) a statistiquement le même niveau d'efficacité que le sulfate de cuivre (33 / [27,1 - 40]).

- Sur la souche sensible Pi 2 S

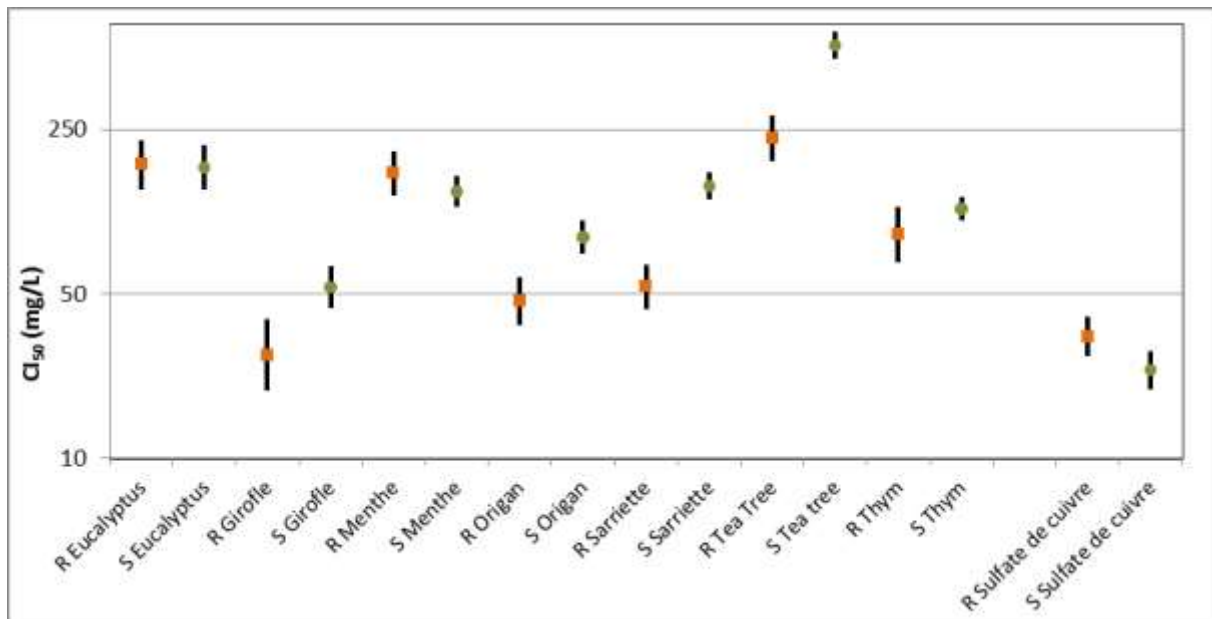
Figure 2 : CI_{50} des huiles essentielles et du $CuSO_4$ sur la souche sensible méfémoxam.
Figure 2: IC_{50} of essential oils and $CuSO_4$ on the mefemoxam sensitive strain.



Avec une CI_{50} de 53,5 mg/L, l'huile essentielle de girofle est la plus efficace. Elle est suivie par l'huile essentielle d'origan avec 87 mg/L. Les huiles essentielles de thym, de menthe et de sarriette présentent des efficacités similaires avec respectivement 115, 136 et 144 mg/L. Puis vient l'HE d'eucalyptus avec 171,7 mg/L. L'huile essentielle de tea tree est la moins efficace avec une CI_{50} de 568 mg/L. Il n'y a pas d'huile essentielle aussi efficace que le $CuSO_4$ (23,7 / [20 - 29]) sur cette souche sensible méfémoxam.

- Comparaison des 2 souches R et S méfémoxam

Figure 3 : Comparaison des CI_{50} des huiles essentielles et du $CuSO_4$ sur les souches S et R méfémoxam.
Figure 3: Comparison of IC_{50} of essential oils and $CuSO_4$ on the S and R mefemoxam strain.



Deux types d'observations sont possibles. On peut observer dans un premier cas un groupe de modalités dont les CI_{50} ne varient pas entre la souche R et la souche S : il s'agit des HE d'eucalyptus, de menthe et de thym. Cette réponse identique des souches R et S peut aussi s'observer dans le cas du $CuSO_4$. Pour toutes les autres HE (girofle, origan, sarriette, tea tree), on peut observer une différence d'efficacité entre les deux souches. Les HE de girofle, origan, sarriette et de tea tree sont plus efficaces sur la souche R que sur la souche S.

DISCUSSION

Les résultats montrent que les huiles essentielles testées présentent toutes une activité biofongicide sur les 2 souches de *Phytophthora infestans*. S'il existe de nombreuses études sur l'effet biofongicide des HE (Bakkali *et al*, 2008), il n'existe que peu de travaux sur leurs évaluations in vitro en microplaque. Pour *Phytophthora infestans*, les tests des HE se font essentiellement en milieu solide gélosé et ne conduisent pas toujours au calcul de l'indicateur d'efficacité CI_{50} (Olanya et Larkin, 2006 ; Soylyu *et al*, 2006 ; Hubert *et al*, 2013). Les HE de thym et d'origan sont ainsi classées « efficaces » par Olanya et Larkin (2006). Les HE de *Mentha piperata* et de *Thymus vulgaris* ont aussi été classées « efficaces » en milieu solide (Quintanilla *et al*, 2002). Il n'y a pas à notre connaissance d'étude sur les effets biofongicides des HE d'eucalyptus, de girofle et de tea tree sur *Phytophthora infestans*.

Parmi toutes les HE testées, l'HE de girofle est la plus efficace : cela est vrai pour les 2 souches, avec une plus grande efficacité sur la souche R que sur la souche S. L'HE la moins efficace de toutes celles testées est l'HE de tea tree : si cela est vérifié pour les 2 souches, le niveau d'efficacité est cependant différent entre les souches S et R méfémoxam. Il n'y a pas de différence d'efficacité entre les souches pour les HE d'eucalyptus, de menthe et de thym. Si la girofle est aussi efficace que le sulfate de cuivre pour la souche R, aucune HE est aussi efficace que le sulfate de cuivre pour la souche S. **L'efficacité des huiles essentielles est donc différente non seulement en fonction du type d'huile essentielle testée mais aussi en fonction de la sensibilité des souches au méfémoxam.**, Des différences d'efficacité de fongicides sur des souches de sensibilité différentes au métalaxyl M ont déjà été observées (Sedegui *et al*, 1999).

La population de *Phytophthora infestans* dans l'environnement est évolutive (Cooke and Lees, 2004 ; Lees *et al*, 2006 ; Brurberg *et al*, 2011 ; Duvauchelle, 2015) et *Phytophthora infestans* est classé comme phytopathogène avec un risque moyen de développer une résistance (FRAC Pathogen Risk List© 2014). La résistance aux fongicides concerne uniquement pour l'instant la famille des phénylamides qui agit au niveau de la synthèse des acides nucléiques (Davidse *et al*, 1988). La résistance au méfémoxam est monogénique et provient d'une mutation ponctuelle sur l'ARN polymérase I (Gisi *et al*, 2000). La résistance au méfémoxam est parfois installée : le méfémoxam est d'ailleurs utilisé uniquement en association avec une autre substance active sur le terrain. L'HE de girofle présente au laboratoire une efficacité comparable à celle du sulfate de cuivre sur la souche résistante. Si l'on sait depuis longtemps que le CuSO_4 est un fongicide multisite, on ne connaît pas exactement le mode d'action des HE. La classification du FRAC indique que l'HE de tea tree agit sur la synthèse des lipides et l'intégrité membranaire (FRAC F7). Des travaux ont montré que l'HE de tea tree détruisait la paroi fongique avant de s'attaquer aux membranes plasmiques puis inhibait par la suite la respiration cellulaire (Bishop et Thornton, 1997 ; Cox *et al*, 2000 ; Carson *et al*, 2002 ; Shao *et al*, 2013).

L'huile essentielle de tea tree est la moins efficace des 7 HE testées sur *Phytophthora infestans* dans nos conditions expérimentales. Cette HE semble cependant offrir une protection contre certaines maladies fongiques. Cette HE de *Melaleuca alternifolia* est la substance active d'un produit distribué aux USA, Canada, Chili, Argentine, Australie et aux Philippines ; le Timorex Gold, contenant 20 % d'huile essentielle. Ce nouveau biofongicide est homologué essentiellement sur des champignons eumycètes, des champignons dont la paroi est à base de chitine et la membrane à base d'ergostérol. *Phytophthora infestans* étant un oomycète, sa paroi est constituée de cellulose et de bêta glucanes tandis que sa membrane est constituée de stérols primitifs. Cette différence de constitution pariétale et membranaire pourrait elle expliquer la moindre efficacité de l'HE de tea tree sur *Phytophthora infestans* ? L'homologation à grande échelle de l'HE de tea tree est cependant de bonne augure pour le développement des substances naturelles et du biocontrôle. Cela pourrait contribuer non seulement à limiter ou gérer la résistance fongicide mais aussi contribuer au développement de la protection intégrée des cultures.

CONCLUSION

Les techniques employées dans cette étude, à la fois dans la production des données en milieu liquide et dans l'analyse statistique des données, ont permis de tester de nombreuses HE dont certaines n'avaient jamais été testées sur *Phytophthora infestans*. Les HE ont toutes présenté des efficacités fongicides. Certaines HE comme celle de girofle sont plus efficaces que d'autres. L'étude a également montré que 2 souches de *Phytophthora infestans* de sensibilité différente au méfémoxam avaient des comportements différents par rapport aux HE (4 huiles essentielles sur 7 sont plus efficaces sur la souche R que sur la souche S). Ces résultats produits sur *Phytophthora infestans* in vitro indiquent que les HE, substances naturelles végétales renouvelables, ne sont pas plus efficaces que le sulfate de cuivre. Des tests au champ sont maintenant nécessaires afin de vérifier l'absence de phytotoxicité et de mesurer l'efficacité des HE par rapport au cuivre dans le cadre de la protection biologique. Le cuivre n'est pas sans impact sur l'environnement (EFSA, 2013) et son utilisation à moindre dose pourrait être

réalisée grâce à une ou plusieurs HE. Les solutions de biocontrôle étant souvent moins efficaces que la lutte fongicide classique (Gachango *et al*, 2012), l'évaluation au champ d'HE bénéficiant d'une formulation adaptée permettra dans le meilleur des cas d'enregistrer probablement des efficacités partielles.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la forêt pour le co-financement de cette étude (CASDAR Innovation et partenariat n°1222, 2013-2015 : évaluation de l'intérêt d'utiliser des huiles essentielles en protection des cultures). Les auteurs remercient également l'ITAB en tant que porteur du projet.

BIBLIOGRAPHIE

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* 46, 446–475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106

Bishop, C.D., Thornton, I.B., (1997). Evaluation of the Antifungal Activity of the Essential Oils of *Monarda citriodora* var. *citriodora* and *Melaleuca alternifolia* on Post-Harvest Pathogens. *Journal of Essential Oil Research* 9, 77–82. doi:10.1080/10412905.1997.9700718

BRURBERG, M.B., ELAMEEN, A., LE, V-H, NÆRSTAD, R., HERMANSEN, A., LEHTINEN, A., HANNUKKALA, A., NIELSEN, B., HANSEN, J., ANDERSSON, B., YUEN, J. (2011). Genetic analysis of *Phytophthora infestans* populations in the Nordic European countries reveals high genetic variability. *Fungal Biology* 115, 335 – 342.

Carson, C.F., Mee, B.J., Riley, T.V., (2002). Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46, 1914–1920. doi:10.1128/AAC.46.6.1914-1920.2002

Cooke, D. E. L. and Lees, A. K. (2004). Markers, old and new, for examining *Phytophthora infestans* diversity. *Plant Pathology*, 53, 692–704 Doi: 10.1111/j.1365-3059.2004.01104.x

Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Bell, H.C., Gustafson, J.E., Warmington, J.R., Wyllie, S.G., (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of applied microbiology* 88, 170–175.

Davidse, L.C., Gerritsma, O.C.M., Ideler, J., Pie, K., and Velthuis, G.C.M. (1988). Antifungal modes of action of metalaxyl, cyproflumazone, benalaxyl and oxadixyl in phenylamide-sensitive and phenylamide-resistant strains of *Phytophthora megasperma* f. sp. *medicaginis* and *Phytophthora infestans*. *Crop Protection* 7, 347–355.

Deweert, C., Yaguiyan, A., Muchembled, J., Sahmer, K., Dermont, C., and Halama, P. (2013). In vitro evaluation of dill seed Essential Oil antifungal activities to control *Zymoseptoria tritici*. 65th International Symposium on Crop Protection, Ghent, Belgium. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 489-496.

Duvauchelle, S. (2015). Tout le savoir sur la pomme de terre débattu à Bruxelles. Dossier Pomme de terre, *Phytoma La santé des Végétaux*, n°680, 18-22.

EFSA (2013). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of confirmatory data submitted for the active substance Copper (I), copper (II) variants namely copper hydroxide, copper oxychloride, tribasic copper sulfate, copper (I) oxide, Bordeaux mixture, EFSA Journal;11(6):3235.

Gachango, E., Kirk, W., Schafer, R., and Wharton, P. (2012). Evaluation and comparison of biocontrol and conventional fungicides for control of postharvest potato tuber diseases. *Biological Control* 63, 115–120.

Gisi, U., Chin, K.M., Knapova, G., Färber, R.K., Mohr, U., Parisi, S., Sierotzki, H., and Steinfeld, U. (2000). Recent developments in elucidating modes of resistance to phenylamide, DMI and strobilurin fungicides. *Crop Protection* 19, 863–872.

Hubert, G.Y.J., Julienne, N., Charles, D.D., Daniel, F., Sandrine, P.T., Romain, F.F., Henry, A.Z.P., (2013). Antifungal potential and phytochemical analysis of extracts from seven Cameroonian plants against late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 2, 140–154.

Kim, J.-C., Choi, G.J., Lee, S.-W., Kim, J.-S., Chung, K.Y., and Cho, K.Y. (2004). Screening extracts of *Achyranthes japonica* and *Rumex crispus* for activity against various plant pathogenic fungi and control of powdery mildew. *Pest Management Science* 60, 803–808.

Koul, O., Walia, S. and Dhaliwal, G.S., (2008). Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. *Biopestic. Int.* 4(1): 63–84.

Lees, A. K., Wattier, R., Shaw, D. S., Sullivan, L., Williams, N. A.,. Cooke D. E. L. (2006). Novel microsatellite markers for the analysis of *Phytophthora infestans* populations. *Plant Pathology*, 55, 311–319.

Olanya, O.M., and Larkin, R.P. (2006). Efficacy of essential oils and biopesticides on *Phytophthora infestans* suppression in laboratory and growth chamber studies. *Biocontrol Science and Technology* 16, 901–917.

Quintanilla, P., Rohloff, J., and Iversen, T.-H. (2002). Influence of essential oils on *Phytophthora infestans*. *Potato Res* 45, 225–235.

Rekanović, E., Potočnik, I., Milijašević-Marčić, S., Stepanović, M., Todorović, B., and Mihajlović, M. (2012). Toxicity of metalaxyl, azoxystrobin, dimethomorph, cymoxanil, zoxamide and mancozeb to *Phytophthora infestans* isolates from Serbia. *J Environ Sci Health B* 47, 403–409.

Sahmer, K., Deweer, C., Muchembled, J., and Halama, P. (2014). Utilisation d'une régression non linéaire pour comparer l'efficacité d'huiles essentielles en tant que biofongicides. 46^{èmes} Journées de Statistique, Rennes (France). 6 p.

Sedegui, M., Carroll, R.B., Morehart, A.L., Hamlen, R.A., Power, R.J., (1999). Comparison of assays for measuring sensitivity of *Phytophthora infestans* isolates to fungicides. *Plant disease* 83, 1167–1169.

Shaaban, H.A.E., El-Ghorab, A.H., Shibamoto, T., 2012. Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: Review. *Journal of Essential Oil Research* 24, 203–212. doi:10.1080/10412905.2012.659528

Shao, X., Cheng, S., Wang, H., Yu, D., Mungai, C., (2013). The possible mechanism of antifungal action of tea tree oil on *Botrytis cinerea*. *Journal of Applied Microbiology* 114, 1642–1649. doi:10.1111/jam.12193

Soylu, E.M., Soylu, S., Kurt, S., (2006). Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Various Plants against Tomato Late Blight Disease Agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia* 161, 119–128. doi:10.1007/s11046-005-0206-z