

**AFPP – 6^e CONFÉRENCE SUR LES MOYENS ALTERNATIFS DE PROTECTION
POUR UNE PRODUCTION INTEGRÉE
LILLE – 21, 22 ET 23 MARS 2017**

**SPECIFICITES DE REPONSE DES HUILES ESSENTIELLES ET DE LEURS COMPOSES MAJORITAIRES
ENREGISTREES AU LABORATOIRE SUR *PHYTOPHTHORA INFESTANS***

C. DEWEER¹, J. MUCHEMBLED¹, L. BREHAULT¹, D. GELIN¹, K. SAHMER², P. HALAMA¹

¹Institut Charles Viollette - ISA Lille

Adaptations aux Stress et Qualité des Végétaux (ASQV)

Biotechnologie et Gestion des Agents Pathogènes en agriculture (BioGAP)

48 boulevard Vauban, 59046 Lille Cedex, France

caroline.deweer@yncrea.fr

²Laboratoire Génie civil et GéoEnvironnement (LGCgE) - ISA Lille

48 boulevard Vauban, 59046 Lille Cedex, France

RÉSUMÉ

Un criblage d'huiles essentielles a été réalisé sur l'agent pathogène responsable du mildiou de la pomme de terre et de la tomate (*Phytophthora infestans*). Des tests visant à évaluer les propriétés biofongicides, non seulement d'huiles essentielles mais aussi de leurs composés majoritaires, ont été réalisés *in vitro* au laboratoire dans le cadre d'un programme CASDAR co-financé par le Ministère de l'agriculture. 7 huiles essentielles dont la composition a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ont été utilisées. Des CI₅₀, calculées sur 2 souches S et R méfenoxam, ont été obtenues sur les 7 couples huile essentielle / composés majoritaires suivant : *Eucalyptus citriodora* / citronellal ; *Syzygium aromaticum* (girofle) / eugénol ; *Mentha spicata* / carvone ; *Origanum compactum* / carvacrol ; *Satureja montana* (sarriette) / carvacrol ; *Melaleuca alternifolia* (tea tree) / terpinen-4-ol et γ -terpinène ; *Thymus vulgaris* / thymol. Le sulfate de cuivre a été choisi comme substance minérale fongicide de référence. Sur les 2 souches, la girofle a été l'huile essentielle la plus efficace. Les HE de girofle, origan, sarriette et de tea tree ont été plus efficaces sur la souche R que sur la souche S alors qu'il n'y avait pas de différence entre les 2 souches pour la menthe, le thym et l'eucalyptus. Le carvacrol a été le composé majoritaire le plus efficace sur la souche sensible et le thymol sur la souche résistante.

Mots-clés : Biocontrôle - huiles essentielles - *Phytophthora infestans* - laboratoire.

ABSTRACT

A screening of essential oils was tested on the pathogen causing downy mildew of the potato and tomato (*Phytophthora infestans*). Tests to evaluate biofungicidal properties of essential oils and their major compounds, were carried out *in vitro* in the laboratory as part of a CASDAR program co-financed by the Ministry of Agriculture. 7 essential oils whose composition was determined by gas chromatography coupled with mass spectrometry were used. IC₅₀, calculated on 2 strains S and R mefenoxam, were obtained from the 7 essential oil / predominant compounds: *Eucalyptus citriodora* / citronellal ; *Syzygium aromaticum* (clove) / eugenol ; *Mentha spicata* / carvon ; *Origanum compactum* / carvacrol ; *Satureja montana* (savory) / carvacrol ; *Melaleuca alternifolia* (tea tree) / terpinen-4-ol et γ -terpinène ; *Thymus vulgaris* / thymol. Copper sulfate was selected as the reference for fungicidal mineral substance. On the 2 strains, the clove was the most effective essential oil. Cloves, oregano, savory and tea tree were more effective on the R strain than on the S strain, whereas there was no difference between the 2 strains for mint, thyme and eucalyptus. Carvacrol was the most effective majority compound on the susceptible strain and thymol on the resistant strain.

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

INTRODUCTION

La culture de la pomme de terre est l'une des cultures les plus gourmandes en intrants : l'IFT (Indice de Fréquence de Traitements) est un indicateur de la dose de produits phytosanitaires utilisée sur une culture. Pour la pomme de terre, en 2011 cet IFT total est de 15,6 ; plus de 74% de cet IFT correspond à l'application de fongicides spécifiquement utilisés contre le mildiou de la pomme de terre. (AGRESTE, 2013). 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 (USA-Blight). Différents types de fongicides sont utilisés sur les cultures de pomme de terre comme par exemple le méfénoxam (Metalaxyl-M) et le fluazinam ; certaines résistances sont apparues comme celle au méfénoxam très répandue chez *P. infestans* partout en Europe (Runno-Paurson *et al.*, 2010 ; Rekanović, 2012). En agriculture biologique, le sulfate de cuivre peut être utilisé mais il est lui aussi controversé, par sa capacité à s'accumuler dans les sols sans pouvoir être dégradé et sa capacité à être bioaccumulé aussi bien chez les animaux, l'Homme ou les plantes, posant alors des problèmes de stérilité des sols (EFSA Journal, 2013). Dans une optique de durabilité de l'agriculture, la recherche et le développement de nouvelles méthodes de lutte sont nécessaires. 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 sept huiles essentielles est réalisé *in vitro* sur *Phytophthora infestans* dans le cadre d'un programme CASDAR. Actuellement, l'huile essentielle de menthe est déjà utilisable en antigerminatif au stockage des pommes de terre (BioX-M®). La composition de ces huiles essentielles est très complexe. De nombreux composés peuvent être trouvés dans la composition d'une huile essentielle, souvent avec un ou deux composés majeurs. Grâce à une méthodologie adaptée, des essais seront réalisés *in vitro* pour comparer l'action de ces substances naturelles végétales que sont les huiles essentielles avec leurs composés majoritaires sur des souches de *phytophthora infestans*, sensible et résistante au méfénoxam.

MATERIEL ET MÉTHODES

MILIEU DE CULTURE ET PHYTOPHTHORA

2 souches de *Phytophthora infestans* sont utilisées pour leurs sensibilités différentes au Méfénoxam (Muchembled *et al.*, 2015). La souche sensible (S) et la souche résistante (R) sont conservées sur du milieu gélosé V8, sans lumière et à 19°C. Une suspension de spores à 4.10^4 spores/mL est réalisée pour la réalisation de tests en microplaques dans du glucose peptone à partir de cultures âgées de 20 jours.

HUILES ESSENTIELLES (HE), LEURS COMPOSÉS MAJORITAIRES ET FONGICIDE MINÉRAL

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).

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse de ces huiles essentielles a montré que les composés majoritaires étaient représentés par le citronellal (71% de l'huile essentielle d'*Eucalyptus citriodora*), l'eugénol (92% de l'huile essentielle de griffe de girofle), la carvone (60% de l'huile essentielle de *Mentha spicata*), le carvacrol (40% des huiles essentielles d'*Origanum compactum* et *Satureja montana*), le terpinen-4-ol (39% de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia*), le thymol (51% de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*) (données non montrées).

Les HE et leurs composés majoritaires choisies pour ses tests sont celles d'eucalyptus (E) /citronellal ; de girofle (G)/ eugénol ; de menthe (M) / D-carvone et L-carvone ; d'origan (O) et de sarriette (S) / carvacrol ; de tea tree (TT) / terpinene-4-ol et γ -terpinène ; de thym (T) /thymol. Le sulfate de cuivre a été choisi comme fongicide minéral de référence.

TECHNIQUE UTILISEE

Criblage des différentes substances testées en microplaque

Une gamme de 8 concentrations d'HE, de composés majoritaires ou de sulfate de cuivre 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 la substance est efficace.

RESULTATS

Effet des huiles essentielles, de leurs composés majoritaires et de la substance active minérale sur la souche sensible méfénoxam.

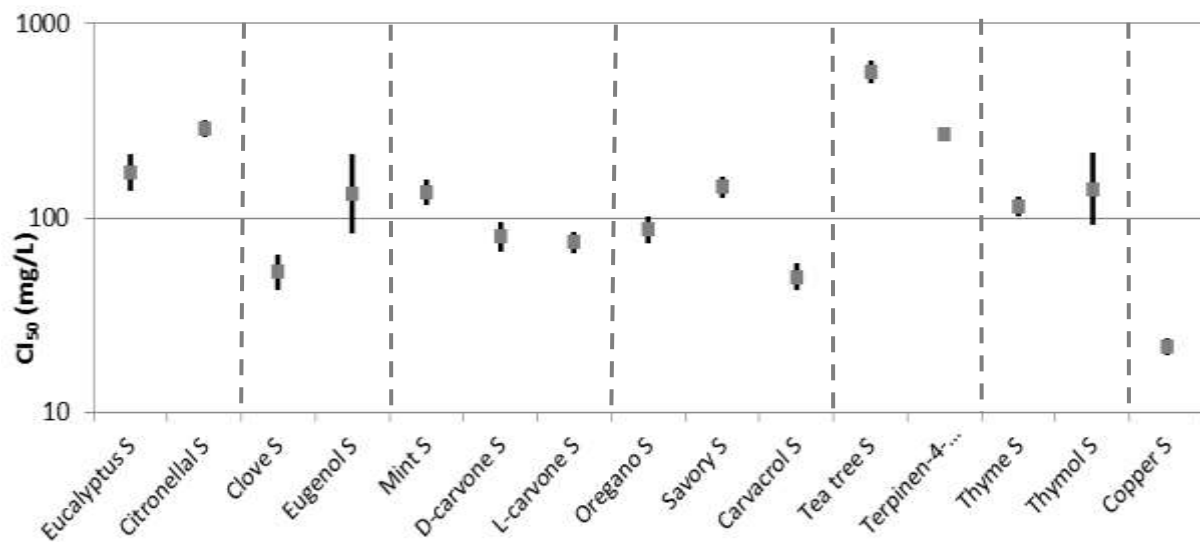


Figure 1: CI_{50} des huiles essentielles, de leurs composés majoritaires et du sulfate de cuivre sur la souche sensible. IC_{50} of the essential oils, their respective majoritary compound and copper sulfate for the sensible strain.

Toutes les CI_{50} sont calculables donc toutes les huiles essentielles, leurs composés majoritaires et le fongicide minéral sont efficaces sur la souche sensible.

La girofle est l'huile essentielle la plus efficace sur cette souche mais elle l'est moins que le cuivre qui reste la substance la plus efficace. Le carvacrol, la carvone et le terpinène 4-ol sont les composés majoritaires qui sont plus efficaces que l'origan, la sarriette, la menthe et le tea tree. Le thymol est aussi efficace que le thym. L'eugénol, le citronellal et le γ -terpinène sont moins efficaces que les huiles essentielles de girofle, eucalyptus et tea tree. La valeur de CI_{50} du γ -terpinène a été enlevée du graphique car elle est trop élevée (4772 mg/L).

Effet des huiles essentielles, de leurs composés majoritaires et de la substance active minérale sur la souche résistante méfénoxam

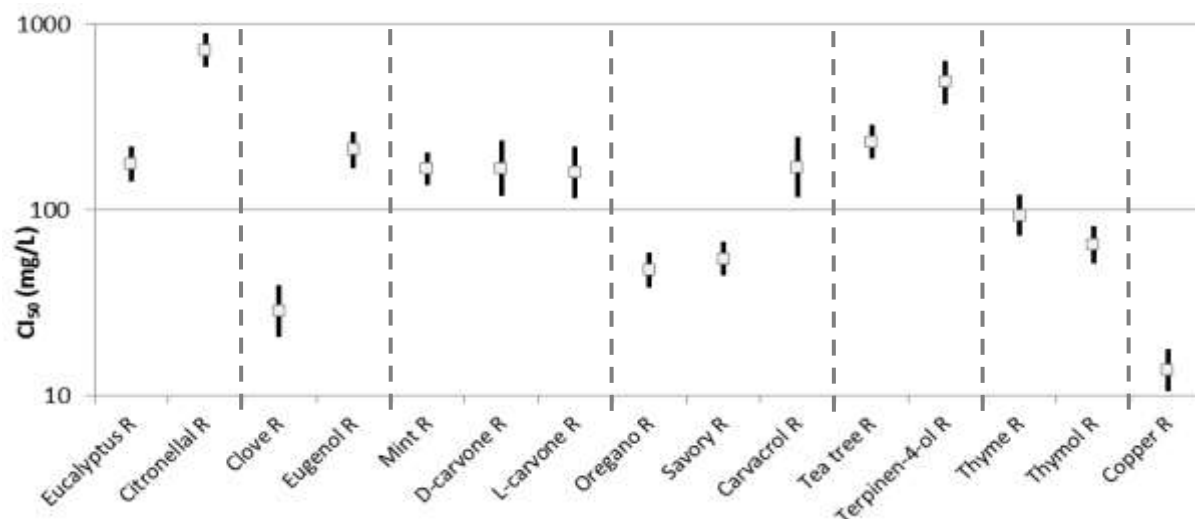


Figure 2: Cl₅₀ des huiles essentielles, de leurs composés majoritaires et du sulfate de cuivre sur la souche résistante méfénoxam. IC₅₀ of the essential oils, their respective majoritary compound and copper sulfate for the resistant mefenoxam strain.

Toutes les Cl₅₀ sont calculables pour tous les produits donc toutes les substances sont efficaces sur la souche résistante méfénoxam. La Cl₅₀ du sulfate de cuivre (14 mg/L) est proche de la Cl₅₀ des huiles essentielles de girofle (28 mg/L) et d'origan (47 mg/L). Le thymol et la carvone sont les composés majoritaires aussi efficaces que les huiles essentielles de thym et de menthe. Les autres composés majoritaires sont moins efficaces que leurs huiles essentielles respectives. La valeur de Cl₅₀ du γ -terpinène a été enlevée du graphique (2725 mg/L).

Effet des huiles essentielles, de leurs composés majoritaires et de la substance active minérale sur la souche résistante méfénoxam

	Souche S		Souche R	
	Cl ₅₀	Intervalle de confiance (95%)	Cl ₅₀	Intervalle de confiance (95%)
Eucalyptus	171,2	[137,5 - 213,1]	177,0	[141,7 - 221,2]
Citronellal	286,5	[259,0 - 316,9]	724,4	[587,2 - 893,6]
Clove	52,8	[42,8 - 65,1]	28,3	[20,5 - 39,2]
Eugenol	133,5	[83,1 - 214,7]	210,7	[167,9 - 264,6]
Mint	135,9	[116,9 - 158,1]	166,7	[136,1 - 204,3]
D-Carvone	79,9	[67,1 - 95,2]	168,0	[118,5 - 238,3]
L-Carvone	74,7	[65,7 - 85,0]	159,0	[115,0 - 219,9]
Oregano	87,0	[73,78 - 102,6]	47,5	[38,2 - 59,2]
Carvacrol	49,8	[42,5 - 58,3]	170,0	[117,1 - 246,6]
Savory	143,8	[125,9 - 164,2]	54,6	[44,5 - 67,1]
Carvacrol	49,8	[42,5 - 58,3]	170,0	[117,1 - 246,6]
Tea Tree	567,7	[495,5 - 650,5]	232,6	[188,9 - 286,4]
Terpinen-4-ol	269,1	[253,6 - 285,5]	488,8	[373,6 - 639,5]
γ -Terpinene	4772,3	[4201,3 - 5420,9]	2725,0	[2036,2 - 3646,6]
Thyme	114,8	[102,7 - 128,5]	93,3	[72,4 - 120,1]
Thymol	141,3	[92,4 - 216,2]	64,9	[51,2 - 82,3]
Copper	21,7	[19,7 - 23,9]	13,70	[10,5 - 17,9]

Tableau I: Cl₅₀ des huiles essentielles et des composés majoritaires sur les 2 souches. IC₅₀ of the essential oils and majority compounds on two strains.

Pour les 2 souches, le cuivre est plus efficace que les huiles essentielles et il l'est d'autant plus sur la souche résistante que sur la souche sensible. Les HE de girofle, origan, sarriette et de tea tree sont plus efficaces sur la souche R que sur la souche S alors qu'il n'y a pas de différence entre les 2 souches pour la menthe, le thym et l'eucalyptus.

Le carvacrol est le composé majoritaire le plus efficace sur la souche sensible et le thymol sur la souche résistante. Il n'y a pas de différence pour l'efficacité de l'eugénol qui est la même sur les 2 souches. Il y a une différence d'action pour les autres composés entre la souche sensible et résistante : les composés sont plus efficaces sur la souche sensible sauf pour le γ -terpinène et le thymol.

DISCUSSION

Les résultats montrent que les huiles essentielles testées sur les 2 souches de *Phytophthora infestans* présentent toutes une activité biofongicide. Le sulfate de cuivre présente également une activité biofongicide en étant plus efficace sur la souche résistante que la souche sensible. Ce fongicide minéral d'origine naturelle utilisé en agriculture biologique, présente une action multi-site : il touche un ensemble de voies métaboliques dans le champignon.

Les huiles essentielles de girofle et d'origan présentent la meilleure efficacité sur les 2 souches. L'huile essentielle de girofle a déjà été testée sur beaucoup de champignons et a prouvé son efficacité. Elle a été testée sur d'autres *Phytophthora* que *P. infestans*. En conditions *in vitro* sur milieu solide, Nana *et al.*, (2015), ont estimé la CMI de l'huile essentielle de girofle sur *Phytophthora megakarya* à 250 μ L/L. L'huile essentielle d'origan s'est montrée efficace sur un autre oomycète, *Phytophthora citrophthora*, avec une inhibition complète en milieu solide dès 150 ppm (Camele *et al.*, 2012).

L'huile essentielle de tea tree est l'huile essentielle la moins efficace sur les deux souches. Cela pourrait s'expliquer par l'un de ses modes d'action, qui, observations faites sur *B. cinerea*, détruit la paroi fongique pour ensuite s'attaquer aux membranes plasmiques (Shao *et al.*, 2013). *P. infestans* est un oomycète, par conséquent sa paroi n'est pas composée de chitine comme celle des eumycètes. Cette différence est une possible explication de l'efficacité limitée de l'huile essentielle de tea tree sur *P. infestans*.

Le carvacrol est le composé majoritaire le plus efficace sur la souche sensible et le thymol sur la souche résistante. Le carvacrol est un phénol, isomère du thymol. La seule différence entre ces deux molécules étant la position du groupement hydroxyle (-OH) (Burt, 2004). Le carvacrol a la capacité de rendre les membranes cytoplasmiques perméables, et chez *Bacillus cereus*, on a observé qu'il s'intercalait dans la double couche lipidique de ces membranes, formant des canaux à travers la membrane permettant aux ions de circuler, rompant ainsi le gradient électrochimique, menant inexorablement la cellule à la lyse (Burt, 2004 ; Koul *et al.*, 2008). Le mode d'action semble différent en fonction de ces isomères : le carvacrol semble se lier préférentiellement aux acides gras tandis que le thymol se lierait plutôt aux protéines transmembranaires modifiant la perméabilité des membranes (effets constatés chez des bactéries) (Hyldgaard *et al.*, 2012).

L'Eugénol, composé majoritaire de la girofle n'est pas aussi efficace que l'huile essentielle. L'eugénol est un phénol, autrement dit il est dérivé de la phénylalanine et possède plusieurs groupements hydroxyles. L'eugénol a la capacité d'interagir avec les membranes plasmiques et de se lier à certaines protéines, mais son mode d'action principal est la perméabilisation des membranes, perturbant ainsi le gradient électrochimique existant entre les milieux intra et extracellulaires, et provoquant la « fuite » du contenu cellulaire (Rhayour *et al.*, 2003 ; Hyldgaard *et al.*, 2012 ; Abbaszadeh *et al.*, 2014).

Le γ -terpinène et le terpinen-4-ol sont les composés majoritaires de l'huile essentielle de Tea tree, avec une teneur de 21,5% et 38,7% respectivement. Ce sont aussi les composés majoritaires les moins efficaces. Hyldgaard *et al.* en 2012 constatent que les terpènes sont généralement inefficaces lorsqu'ils sont utilisés seuls. Néanmoins, le terpinen-4-ol présente une efficacité supérieure au γ -terpinène dans un ensemble d'essais sur une grande diversité de champignons, et cela grâce à sa fonction chimique alcool (Hammer *et al.*, 2003 ; Terzi *et al.*, 2007 ; Kadoglidou *et al.*, 2011).

Les composés majoritaires ne sont pas plus efficaces que leurs huiles essentielles correspondantes. Il y a donc d'autres composés qui semblent interagir pour augmenter l'efficacité des huiles essentielles sur *Phytophthora infestans*.

L'efficacité des huiles essentielles et de leurs composés majoritaires est donc différente non seulement en fonction du type d'huile essentielle testée mais aussi en fonction de la sensibilité des souches au méfenoxam. Ces résultats sont à mettre en relation avec ceux de Sedegui *et al.* (1999) qui avaient mis en évidence des différences d'efficacité de fongicides en fonction de la sensibilité des souches au métalaxyl M.

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* et leurs composés majoritaires. Les HE ont toutes présenté des efficacités fongicides. Certaines HE comme celle de girofle et d'origan sont plus efficaces que d'autres. L'étude a également montré que 2 souches de *Phytophthora infestans* de sensibilité différente au méfenoxam 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 et que leurs composés majoritaires ne sont pas plus efficaces que leurs huiles essentielles correspondantes. 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 cofinancement de cette étude (CASDAR Innovation et partenariat n°1222, 2013-2015 : évaluation de l'intérêt d'utiliser des huiles essentielles en protection des cultures).

BIBLIOGRAPHIE

- Abbaszadeh, S., Sharifzadeh, A., Shokri, H., Khosravi, A.R., Abbaszadeh, A., 2014. Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi. *Journal of Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology* 24, e51–e56.
- Agreste, 2013. Enquête Pratiques culturelles 2011 Agreste Les Dossiers N° 18 – novembre 2013, pp : 1–39.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* 94, 223–253.
- Camele, I., Altieri, L., De Martino, L., De Feo, V., Mancini, E., Rana, G.L., 2012. *In Vitro* Control of Post-Harvest Fruit Rot Fungi by Some Plant Essential Oil Components. *International Journal of Molecular Sciences* 13, 2290–2300.
- Deweer, 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.
- EFSA Journal (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. 11 (6) : 3235, 40 p.
- 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.

- Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V., 2003. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology* 95, 853–860.
- Hyltdgaard, M., Mygind, T., Meyer, R.L., 2012. Essential Oils in Food Preservation: Mode of Action, Synergies, and Interactions with Food Matrix Components. *Frontiers in Microbiology* 3.
- Kadoglidou, K., Lagopodi, A., Karamanoli, K., Vokou, D., Bardas, G.A., Menexes, G., Constantinidou, H.-I.A., 2011. Inhibitory and stimulatory effects of essential oils and individual mono-terpenoids on growth and sporulation of four soil-borne fungal isolates of *Aspergillus terreus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum*, and *Verticillium dahliae*. *European Journal of Plant Pathology* 130, 297–309.
- Koul, O., Walia, S. and Dhaliwal, G.S., (2008). Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. *Biopestic. Int.* 4(1): 63–84.
- Muchembled, J., Deweer, C., Emile, L., Brehault, L., Gelin, D., Zavodski, J., Sahmer, K., and Halama, P. (2015) Développement du biocontrôle et substances naturelles végétales : que nous apprennent les essais au laboratoire ? Application sur 2 souches de *Phytophthora infestans* S et R méfénoxam. 11ème Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, 7-9 décembre 2015, Tours (France), pages 553-560.
- Nana, W.L., Eke, P., Fokom, R., Bakanrga-Via, I., Begoude, D., Tchana, T., Tchameni, N.S., Kuate, J., Menut, C., Fekam Boyom, F., 2015. Antimicrobial Activity of *Syzygium aromaticum* and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Essential Oils Against *Phytophthora megakarya*. *Journal of Phytopathology* 163, 632–641.
- 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.
- Rhayour, K., Bouchikhi, T., Tantaoui-Elaraki, A., Sendide, K., Remmal, A., 2003. The Mechanism of Bactericidal Action of Oregano and Clove Essential Oils and of their Phenolic Major Com-ponents on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Essential Oil Research* 15, 286–292.
- Runno-Paurson, Eve, T.R., Rimmel, T., Ojarand, A., Aav, A., Mänd, M., 2010. The structure of *Phytophthora infestans* populations from organic and conventional crops. *European Journal of Plant Pathology* 128, 373–383.
- 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.
- 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.
- Terzi, V., Morcia, C., Faccioli, P., Valè, G., Tacconi, G., Malnati, M., 2007. In vitro antifungal activity of the tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil and its major components against plant pathogens. *Letters in Applied Microbiology* 44, 613–618.
- USABlight.: <http://usablight.org/node/15> consulté le 09/09/2016