



**HAL**  
open science

## Évaluation de l'intérêt de l'utilisation d'huiles essentielles dans des stratégies de protection des cultures

Rodolphe Vital, Jérôme Muchembled, C. Deweer, Ludovic Tournant, Nathalie Corroyer, Sylvianne Flammier

### ► To cite this version:

Rodolphe Vital, Jérôme Muchembled, C. Deweer, Ludovic Tournant, Nathalie Corroyer, et al.. Évaluation de l'intérêt de l'utilisation d'huiles essentielles dans des stratégies de protection des cultures. *Innovations Agronomiques*, 2018, 63, pp.1-20. 10.15454/1.5191163442342263E12 . hal-01831436

**HAL Id: hal-01831436**

**<https://hal.science/hal-01831436>**

Submitted on 5 Jul 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## Évaluation de l'intérêt de l'utilisation d'huiles essentielles dans des stratégies de protection des cultures

Vidal R.<sup>1</sup>, Muchembled J.<sup>2</sup>, Deweer. C.<sup>2</sup>, Tournant L.<sup>3</sup>, Corroyer N.<sup>4</sup>, Flammier S.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> ITAB (Institut Technique de l'Agriculture Biologique), 149 rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12

<sup>2</sup> ISA Lille, Laboratoire Biotechnologie et Gestion des Agents Pathogènes en agriculture (BioGAP)

<sup>3</sup> FREDON Nord Pas de Calais (Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles)

<sup>4</sup> CRAN (Chambre Régionale d'Agriculture de Normandie)

<sup>5</sup> SERAIL (Station d'Expérimentation Rhône-Alpes Information Légumes)

**Correspondance** : rodolphe.vidal@itab.asso.fr

### Résumé

Ce projet s'inscrit dans le contexte de recherche de moyens plus durables de protection des cultures. Cela concerne l'agriculture conventionnelle mais également l'agriculture biologique pour lesquelles le remplacement du cuivre et la recherche d'alternatives efficaces aux produits phytosanitaires de synthèse constitue un important challenge.

L'objectif principal est d'évaluer l'intérêt d'huiles essentielles dans des stratégies de protection des cultures sur 4 principales maladies des cultures (mildious de la pomme de terre, de la vigne et de la salade, tavelure du pommier) en s'appuyant à la fois sur les connaissances empiriques existantes et sur des recherches scientifiques en laboratoire (*in vitro* et *in vivo*) et au champ.

Les résultats *in vitro* montrent sans ambiguïté que toutes les HE testées possèdent une activité fongicide. Cependant, en condition de terrain (sous abri ou en plein champ), le projet n'a pas permis de mettre en évidence des efficacités significatives à 0.2% (v/v) sur les champignons cibles. Des tendances peuvent cependant être rapportées. En outre, vis-à-vis des insectes auxiliaires des cultures, à la concentration de 0.2% dans le sirop de nourrissage des abeilles, aucun effet toxique significativement supérieur à la mortalité naturelle n'a été remarqué. La mortalité sur typhlodrome est quant à elle augmentée par les huiles essentielles.

Une évaluation *ad hoc* de l'impact de ces substances sur les différents compartiments écologiques semble donc nécessaire pour comprendre l'impact des HE sur les productions végétales et leur environnement.

**Mots-clés** : substances naturelles, protection des cultures, alternative, CI50, évaluation phytosanitaire

### Abstract: Essential oils assessment as plant protection products against fungal diseases

This project seeks for sustainable plant protection product based on essential oils for conventional and organic agriculture. It must assess efficacy of 7 essential oils chosen from literature for plant protection against 4 fungal diseases: potato blight, powdery mildew of grape, downy mildew of salad and apple scab.

The assessment is based on *in vitro* and *in vivo* approaches before field trials. Only pure culture fungi i.e. *Phytophthora infestans* and *Venturia inaequalis* could be tested under *in vitro* conditions.

Results showed unambiguous efficacy of all tested essential oils on fungal development in laboratory (*Phytophthora infestans* and *Venturia inaequalis*). However, on field trials, at 0,2% v/v, essential oils did not show statistical efficiency but some trends can be exploited. In addition, concerning ecotoxicology, when bees were fed with sugar mixture containing 0,2% of essential oil, no extra mortality beyond natural one has been reported. However, typhlodromus were more impacted by these substances.

To conclude, methodology must be developed to include ecological compartments in the scheme of assessment of essential oil on the whole production system.

**Keywords:** natural substances, crop protection, copper alternative, IC50, assessment

## Introduction

Ce projet visait à évaluer l'intérêt en protection des cultures, d'huiles essentielles dont les propriétés antifongiques et antibactériennes sont déjà connues et utilisées en médecine humaine et vétérinaire, avec pour perspectives de proposer aux agriculteurs des alternatives partielles ou totales aux produits actuellement utilisés. Même s'il est permis de penser que la réduction de l'utilisation des fongicides se fera en mobilisant plutôt des leviers agronomiques, de nouvelles solutions fongicides bio-sourcées sont néanmoins à rechercher dans le cadre des agricultures biologiques et conventionnelles. Ce projet s'est focalisé sur quelques cultures emblématiques par leur importance économique mais également parce qu'elles sont de grosses consommatrices de produits phytopharmaceutiques auxquels il est urgent de trouver des alternatives. Les modèles choisis pour ce projet concernent des maladies fongiques du feuillage, majeures en production agricole. Il s'agit du mildiou de la pomme de terre (*Phytophthora infestans*), du mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*), du mildiou de la salade (*Bremia lactucae*) et de la tavelure du pommier (*Venturia inaequalis*). Le choix des couples plante / pathogènes a été fait selon les données bibliographiques disponibles, de la facilité à mettre en œuvre des expérimentations avec ces modèles biologiques et des retours du terrain. Tous ces modèles biologiques sont nécessaires et complémentaires pour la mise en place d'une méthode d'évaluation des huiles essentielles à des fins de protection des plantes.

## 1. Présentation du projet

L'approche globale, à la base de ce projet, était double puisqu'elle s'appuyait sur les résultats des essais d'efficacité *in vitro* et *in vivo* (en conditions contrôlées) ainsi que sur les pratiques des producteurs biologiques. Le projet Casdar HE s'organisait selon 5 axes de travail interdépendants (Figure 1) :

- Axe 1 : Mettre au point et évaluer en conditions contrôlées (*in vitro*, plantes en pot, jeunes plants) des préparations à base d'huiles essentielles
- Axe 2 : Identifier et analyser les pratiques empiriques concernant l'usage d'Huiles Essentielles pour la protection des cultures chez des agriculteurs bio (enquêtes et analyses)
- Axe 3 : Évaluer d'éventuels effets non-intentionnels sur les cultures, la faune auxiliaire, la transformation des matières premières d'origine agricole
- Axe 4 : Évaluer au champ l'intérêt d'huiles essentielles pour la protection des cultures
- Axe 5 : Coordination du programme. Diffusion et Communication

La méthode utilisée pour les expérimentations est dite en entonnoir puisque les résultats des HE testées *in vitro* permettent de valider leur utilisation en plein champ

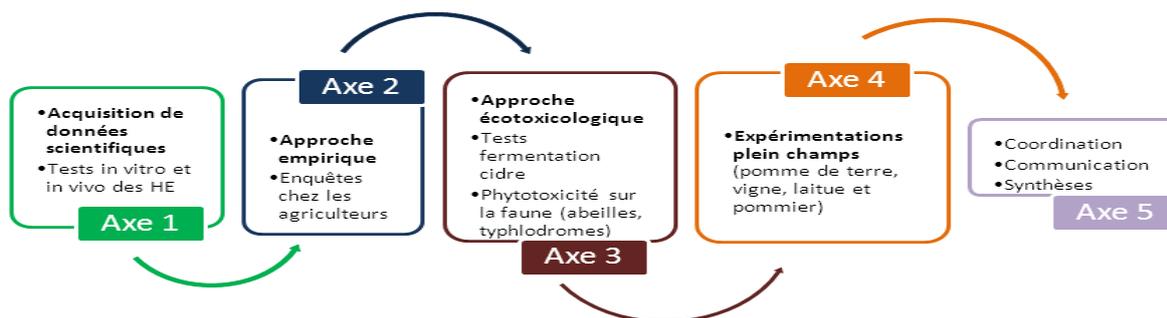


Figure 1 : Organisation globale du projet Casdar HE

## 2. Identification du partenariat

Le partenariat s'appuie sur un ensemble de structures réparties sur le territoire national (Figure 2) à vocation scientifique et technique : Instituts Techniques Agricoles, Chambres d'Agriculture, stations d'expérimentation, établissements supérieurs d'enseignement agricole et de recherche agronomique.

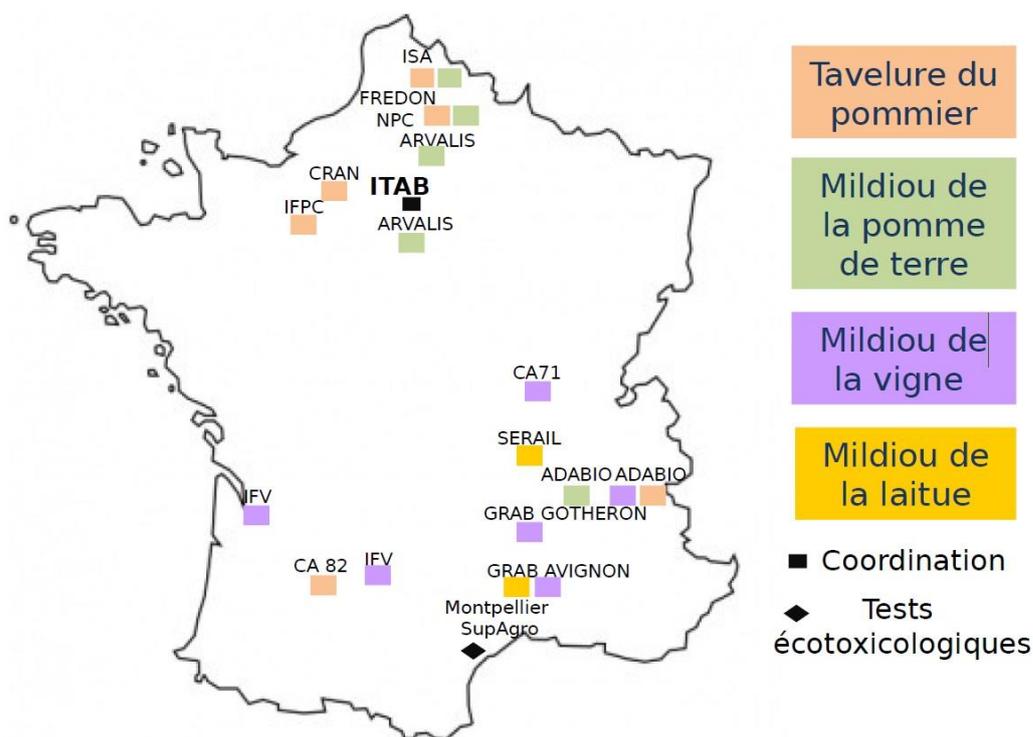


Figure 2 : Carte de répartition des partenaires du projet Casdar HE

Dans ce projet, 12 partenaires bénéficiaient d'un financement via le fond d'Appel à Projet du Casdar Innovation et Partenariat. Il s'agit de l'ITAB (Institut Technique de l'Agriculture Biologique), l'ADABIO Isère (Association de Développement de l'AB), ARVALIS (Institut du végétal), la CA71 (Chambre d'Agriculture de la Saône et Loire), la CRAN (Chambre Régionale d'Agriculture de Normandie), la FREDON Nord-Pas-de-Calais (Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles), le GRAB (Groupement de Recherche en Agriculture Biologique), l'IFPC (Institut Français des Productions

Cidricoles), l'IFV (Institut Français de la Vigne et du vin), l'ISA de Lille (Institut Supérieur d'Agriculture), Montpellier SupAgro (Ecole Supérieure d'Agriculture) et la SERAIL (Station d'Expérimentation Rhône-Alpes Information Légumes). La CA82 (Chambre d'Agriculture du Tarn et Garonne) a contribué au projet sur ses propres fonds.

### 3. Matériels, méthodes et résultats par axe de travail

#### 3.1 Axe 1 : Mettre au point et évaluer en conditions contrôlées (in vitro, plantes en pot, jeunes plants) des préparations à base d'huiles essentielles

Les tests ont été menés en culture pure pour les modèles qui le permettaient: *Venturia inaequalis* – Tavelure du pommier- et *Phytophthora infestans* – Mildiou de la Pomme-de-Terre-) et sur disques foliaires et jeunes plants pour les champignons pathogènes obligatoires (qui nécessitent un support végétal pour survivre).

Un criblage *in vivo* en conditions contrôlées sur plantes en pot, disques foliaires et jeunes plants est nécessaires pour les champignons pathogènes biotrophes, tels que le mildiou de la vigne et de la salade (*Plasmopara viticola* et *Bremia lactucae*).

#### 3.1.1 Test in vitro d'HE contre *Phytophthora infestans* et *Venturia inaequalis*

Ces deux phytopathogènes peuvent causer des pertes non négligeables en production. Ils doivent être gérés de manière intégrée et nécessitent souvent l'emploi de fongicides. L'emploi de ces derniers pouvant conduire à des pollutions environnementales, nous cherchons à savoir si des substances végétales peuvent avoir une efficacité biofongicide naturelle sur ces agents pathogènes.

L'ISA de Lille a produit au laboratoire, dans des conditions spécifiques et innovantes, des données comparatives de l'efficacité biofongicide d'huiles essentielles (HE) par rapport à des références fongicides (chimiques et minérales). 7 HE commerciales biologiques (AB) ont été utilisées après la vérification de leur composition par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG-SM). Elles ont été testées en microplaque sur 2 souches S (Sensible) et R (Résistante) aux fongicides de *P. infestans* et *V. inaequalis*, en présence ou en absence d'un adjuvant de type alcool terpénique. Pour *P. infestans* (*P.i.*), les 2 souches sont, respectivement, Sensible et Résistante méfenoxam, seule résistance connue et couramment présente en France. Pour *V. inaequalis* (*V.i.*), les 2 souches sont respectivement Sensible et Résistante aux triazoles. Les composés majoritaires de chaque huile essentielle ont également été testés (Tableau 1). Toutes les expériences ont été réalisées au moins trois fois de manière indépendante. Les efficacités sont estimées par le calcul de la CI50 (concentration d'inhibition de 50 % de la croissance du champignon) à l'aide d'un programme statistique spécifiquement développé.

**Tableau 1** : Composés majoritaires de chaque HE étudiée

Huile essentielle	Composé majoritaire
HE d'eucalyptus ( <i>Eucalyptus citriodora</i> )	Citronellal
HE de girofle ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	Eugénol
HE de menthe ( <i>Mentha spicata</i> )	D-Carvone Et L-Carvone
HE d'origan ( <i>Origanum compactum</i> ) et de sarriette ( <i>Satureja montana</i> )	Carvacrol
HE de tea tree ( <i>Melaleuca alternifolia</i> )	Terpinen-4-Ol
HE de thym ( <i>Thymus vulgaris</i> ).	Thymol

La méthodologie de criblage employée permet d'estimer de manière reproductible l'efficacité de nombreuses substances naturelles par rapport à différentes souches de phytopathogènes. Cette méthodologie permet de modéliser assez rapidement en conditions contrôlées le caractère biofongicide de très nombreuses modalités (7 huiles essentielles \* 2 phytopathogènes \* 2 souches \* adjuvant \* 3 répétitions). L'analyse statistique des résultats montre que les efficacités biofongicides enregistrées dépendent à la fois de la nature de l'huile essentielle, du type de phytopathogène, du type de souche, de la présence ou de l'absence de l'adjuvant. La modélisation de la réponse doit ensuite être corrélée à des tests réalisés *in planta* (ou sur des modèles de feuilles en survie, ou en serre, ou en champs) afin de vérifier l'efficacité dans des conditions moins contrôlées.

On peut noter que l'HE de Girofle permet d'obtenir une CI50 significativement différente de celle obtenue avec l'HE d'Eucalyptus et de Tea Tree. Toutes les HE autres que celle de Girofle sont dans le même groupe : il n'y a donc pas de différence statistique entre les huiles, hors HE de Girofle.

En dehors des différences significatives, on peut voir en tendance que les HE de Girofle, Origan et Sarriette des montagnes sont les plus efficaces pour inhiber la croissance de *P.i.*

Aucune HE testée n'empêche la sporulation du champignon.

L'ajout d'héliosol augmente globalement la CI50 des HE, *i.e.* les HE avec leur adjuvant sont moins efficaces pour limiter le développement de *P.i.* Cette observation permet de se rendre compte de l'importance des coformulants dans l'efficacité des produits testés.

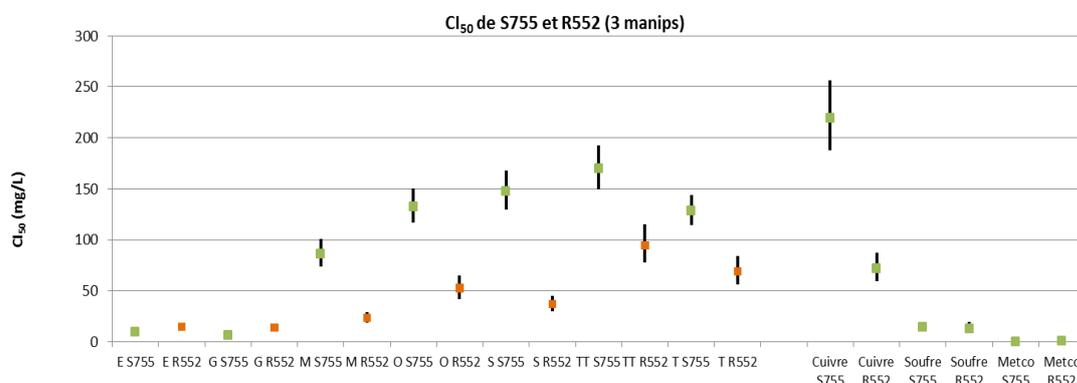
Le cuivre seul sous forme hydroxyde est plus efficace que les HE pour limiter le développement de *P.i.* L'ajout d'héliosol au cuivre permet d'améliorer son efficacité (contrairement aux HE).

Sans surprise, le chlorothalonil et le fluazinam ont des CI50 extrêmement faibles.

Girofle et Eucalyptus sont les HE les plus efficaces parmi toutes les HE sur les 2 souches de tavelure testées (Figure 3). Les souches proviennent de la variété GOLDEN, S755 : Sensible aux Triazoles, R552 : Résistante aux Triazoles. Comme pour les fongicides classiques, les HE présentent des efficacités différentes en fonction de la sensibilité des souches : ici une souche R triazole est plus sensible aux HE que la souche S triazole.

Contre *Venturia inaequalis*, Girofle, Eucalyptus et Menthe sont plus efficaces que le cuivre sur les 2 souches. L'Heliosol diminue l'efficacité des HE en règle générale sur les 2 souches (comme le soufre, mais augmente l'efficacité du metconazole et du cuivre)

L'indice de sporulation montre des différences entre modalités (Témoin, HE, fongicide de synthèse) pour la souche 755 uniquement.



**Figure 3 :** Concentrations d'inhibition (CI50) des HE en fonction de souches de tavelure Sensible (S) et résistante (R) aux triazole (E: Eucalyptus, G: Girofle, M: Menthe, O: Origan, S: Sarriette, TT: Tea-Tree, T: Thym à thymol)

En conclusion, toutes les CI50 sont calculables donc toutes les HE et tous les composés majoritaires sur les 2 souches des 2 phytopathogènes présentent une efficacité biofongicide. Si les HE et les composés majoritaires sont toujours moins efficaces que les fongicides chimiques, les niveaux d'efficacité sont parfois identiques à ceux des fongicides minéraux de référence comme le CuSO<sub>4</sub> (Tableau 2). Pour *P. i.*, les HE les plus efficaces sont celles de girofle et origan avec une plus grande efficacité sur la souche R méfénoxam et au même niveau d'efficacité que la référence minérale (CuSO<sub>4</sub>) (Muchembled *et al.*, 2015). Notons que pour les 2 souches de *P. i.*, l'eugénol est moins efficace que l'HE de girofle. Pour *V. i.*, les HE les plus efficaces sont celles de girofle et d'eucalyptus avec une plus grande efficacité sur la souche sensible aux triazoles, et avec une meilleure efficacité que la référence CuSO<sub>4</sub> (Deweert *et al.*, 2015 ; Muchembled *et al.*, 2015). Si l'eugénol est plus efficace que l'HE de girofle sur la souche S de *V. i.*, il est aussi efficace que le girofle sur la souche R.

L'HE de girofle est la plus efficace sur les 2 champignons (Tableau 2) :

1. Sur *P. infestans*, le girofle n'est pas plus efficace que Cuivre ou chlorothalonil ou fluazinam
2. Sur *V. inaequalis*, la girofle est plus efficace que le Cuivre et que le soufre. *V.i.* est globalement plus sensible aux HE que *P.i.* (et d'autant plus sur la souche R)

**Tableau 2** : HE classées suivant leur efficacité sur *P. infestans* et *V. inaequalis*

<b>Phytopathogène</b>	<b>HE classées suivant leur efficacité en <i>civ</i></b>
<i>Phytophthora infestans</i>	chlorothalonil > Girofle = origan = CuSO <sub>4</sub> > eucalyptus
<i>Venturia inaequalis</i>	Metconazole >> Girofle = eucalyptus > Souffre > CuSO <sub>4</sub>

L'eucalyptus est aussi efficace que le girofle sur *V. inaequalis* alors que sur *P. infestans*, l'efficacité est moindre : les HE peuvent avoir des comportements différents en fonction des organismes biologiques.

Il est très intéressant de constater que les efficacités de certaines HE sont parfois comparables à celle du sulfate de cuivre. Ceci permettrait d'envisager leur utilisation dans une perspective de réduction de l'utilisation du cuivre en protection des plantes.

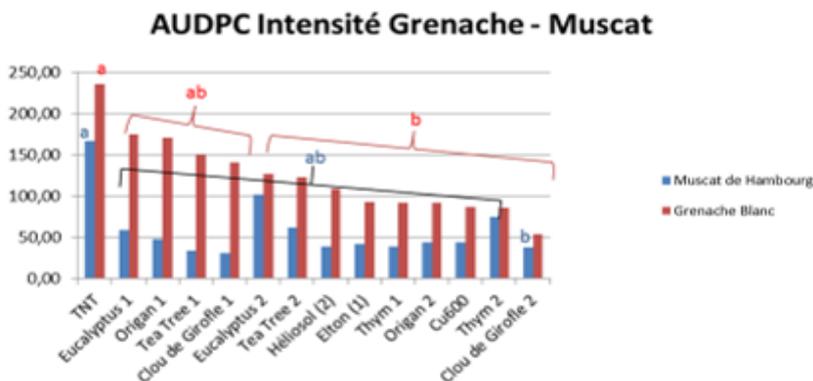
### **3.1.2 Expérimentation en conditions contrôlées contre *Plasmopara viticola***

Les essais contre le mildiou de la vigne doivent être réalisés sur disques foliaires ou sur plants entiers car ce champignon ne peut se développer qu'en contact avec son hôte végétal.

Essais sur disques foliaires en survie : afin de mieux évaluer l'effet des HE sur le mildiou, des essais ont été réalisés à l'IFV en conditions contrôlées, sur des disques foliaires issus de feuilles de vigne (cépage merlot) récoltées au vignoble. Les huiles essentielles et leur adjuvant (Tween 20®) sont appliqués sur les disques qui sont inoculés avec une solution de sporocystes de *P. viticola* et conservés en survie. En 2013, les premiers essais au laboratoire ont permis de montrer que les HE seules à 0,2% avaient un effet antifongique lorsque la solution de sporocystes était directement mélangée avec la solution d'HE. En 2014 et 2015, la majorité des essais ont fait intervenir la contamination 24h après le traitement des disques avec les HE. Cette stratégie ressemble à ce qui est réalisé au vignoble, à savoir une application quelques jours avant les événements contaminants annoncés (pluies).

Sur disque foliaire, les résultats de 2014 montrent que les HE sont inefficaces pour diminuer les contaminations de mildiou. Le changement de volume de pulvérisation (1 à 3 fois) ou l'augmentation de la concentration des HE (de 0,1% à 0,2%) n'ont pas permis d'obtenir une efficacité. Le constat de perte d'efficacité entre les résultats en mélange et l'inoculation à 24h ont poussé les études en 2015 vers des essais d'application préventive en faisant varier les temps d'inoculation du mildiou (6h, 17h et 24h), en

gardant la concentration des HE à 0,2%. Les résultats obtenus montrent une bonne efficacité 6h après traitement puis une perte rapide d'efficacité dès 17h et une inefficacité à 24h. Les HE ne présentent pas les mêmes efficacités (meilleures efficacités du Thym et de l'Origan) mais la baisse d'efficacité avec le temps est générale.



**Figure 4** : Histogramme des AUDPC (aires sous la courbe de progression de la maladie) du mildiou sur deux cépages en fonction des HE testées

Essais sur plants de vigne en pots : au GRAB d'Avignon, des essais ont été réalisés en 2013 et 2014 sur des vignes en pots sous ombrière (cépage Grenache blanc et Muscat de Hambourg), avec 6 répétitions de 2 pots dans un environnement brumisé pendant 5 min toutes les 45 min. 14 modalités ont été testées : 5 huiles essentielles (Clou de girofle, eucalyptus, origan, tea tree, thym à thymol), concentration à 0,2% ; Témoin non traité ; adjuvant Elton (=Li 700) 0,5% (seul) et adjuvant Héliosol 0,2% (seul) ; Référence Cuivre équivalent à 600g/ha (sans adjuvant). Les plants ont été traités avec une application d'HE puis inoculés 4 jours après avec une solution de sporocystes de mildiou. Le dispositif visait à évaluer l'impact d'un traitement préventif d'HE pour réduire les dégâts du mildiou.

Sur plantes en pots, en 2013, la pression de l'inoculum est restée trop faible et les résultats sont peu exploitables, les HE utilisées à une dose forte de 2% induisent des dégâts de phytotoxicité. En 2014, les modalités HE sont globalement moins touchées sur le feuillage par le mildiou que le témoin non traité (Figure 4) mais il n'est pas possible de les classer de façon statistique. Il apparaît aussi que dans les conditions d'essai, les adjuvants utilisés ont aussi une influence sur le mildiou et qu'il n'est pas possible de distinguer statistiquement l'activité des HE et celle de leur adjuvant. En tendance, les HE (associées à leur adjuvant respectif) de Girofle et de Thym semblent les plus efficaces.

### 3.1.3 Expérimentation en conditions contrôlées contre *Bremia lactucae*

Le mildiou de la laitue (*Bremia lactucae*) est la maladie la plus redoutée sur cette espèce, notamment en culture biologique sur les créneaux d'hiver, sous abris, mais également de printemps et d'automne, en plein champ. Dans le quart Sud-Est, les dégâts sont très importants, parfois dès la pépinière et entraînent de fortes pertes financières. Les essais ont été menés sur deux stations maraîchères qui travaillent sur ce phytopathogène, avec des contextes pédoclimatiques et des créneaux de production bien distincts : le GRAB à Avignon (84) et la SERAIL à Brindas (69).

Pour faciliter l'évaluation d'un nombre important d'huiles essentielles, il a été nécessaire de travailler dans un premier temps en conditions contrôlées et simplifiées (sur plantes en pot et jeunes plants). Ainsi, en 2013, une dizaine de modalités a été testée, intégrant sept huiles essentielles différentes, seules ou en association, et avec ou sans co-formulant. L'essai réalisé au GRAB, en pépinière sur jeunes plants de laitue, a permis d'évaluer l'intérêt de 6 huiles essentielles (thym, sarriette, origan, tea tree, girofle, eucalyptus) à la dose de 0,2%, pour limiter les attaques de *Bremia*. Celui de la SERAIL, également conduit en pépinière et sur jeunes plants, a permis d'évaluer les sept huiles essentielles à

deux concentrations (0,01% et 0,1%) et associées à un de ces deux co-formulants : LI700 (à base de de lécithine de soja) à 5% ou Mix In, (à base d'huile végétale) à 2%.

En 2014, sur le site de la SERAIL, deux essais ont été conduits, le premier en pépinière, le second en plein champ. L'essai en pépinière a permis de tester à nouveau les sept huiles essentielles à deux doses (0,2% et 0,5%) associées à un mouillant ou adjuvant : l'Héliosol (composé de terpènes de pin) et d'identifier ainsi les 2 meilleures huiles qui seront testées en plein champ.

La première année d'essai en pépinière sous abris, au Grab d'Avignon, il est apparu que l'émulsifiant choisi (Héliosol) montrait une certaine activité fongicide dans les conditions de l'essai. Seule l'HE de girofle et le Cuivrol (environ 2kg/ha de cuivre métal) ont apporté une protection correcte vis-à-vis du mildiou, supérieure aux autres modalités. A la dose de 0,2%, aucune HE n'a fait preuve de phytotoxicité. A la Serail, sur les sept huiles essentielles étudiées, aucune ne se distingue en terme d'efficacité, par rapport au témoin ou au Cuivrol, quelle que soit sa dose ou le co-formulant qui lui est associé.

### 3.2 Axe 2 : Identifier et analyser les pratiques empiriques concernant l'usage d'Huiles Essentielles pour la protection des cultures chez des agriculteurs bio (enquêtes et analyses)

#### 3.2.1 Méthodologie des enquêtes de terrains

Cet axe de travail a été réalisé en début d'année 2014, il a donné lieu au mémoire de fin d'étude d'ingénieur de Diane Chavassieux (2014). Cet axe de travail a été mené par l'itab, avec le soutien des membres du comité de pilotage pour la réalisation du questionnaire d'enquête et des partenaires d'expérimentation pour les rendez-vous physiques (Adabio, IFV). La méthode (Figure 5) consiste à identifier les personnes ressources (agriculteurs, conseillers, techniciens) qui utilisent ou préconisent l'utilisation des HE pour lutter contre les maladies fongiques des plantes. Cette étape préliminaire a été menée via une enquête en ligne diffusée grâce au réseau de partenaires du projet et via des forums thématiques (agriculture bio, biodynamique, Chambre d'agriculture, Alter Agri, arboriculture, viticulture). La seconde étape consistait à mener une enquête approfondie chez les personnes identifiées (par téléphone ou lors de rendez-vous physiques).

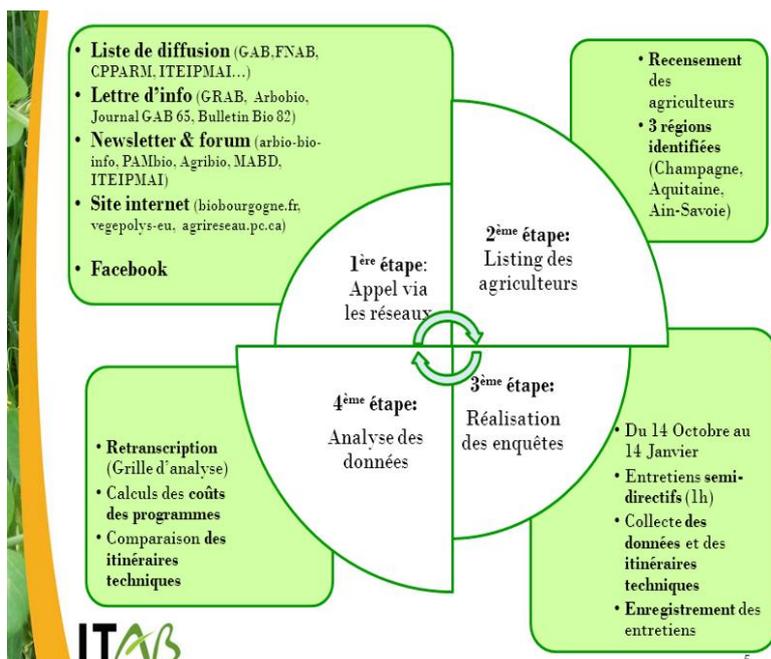


Figure 5 : Méthodologie de réalisation des enquêtes pour le recensement des pratiques agricoles

### **3.2.2 Résultats des enquêtes de terrains**

Les enquêtes auprès d'agriculteurs ont été réalisées dans 3 régions principalement (Champagne, Aquitaine et Rhône-Alpes) dans le but d'identifier et caractériser des stratégies de protection des cultures incluant des huiles essentielles. Au total, 32 entretiens semi-directifs ont été réalisés sur un échantillon d'agriculteurs. Il en ressort qu'ils sont plus jeunes, avec un niveau de formation plus élevé et qu'ils s'installent plus hors cadre familiale que la moyenne des agriculteurs français (AGRESTE, 2011). Les exploitations sont principalement viticoles, en Agriculture Biologique et Biodynamie et s'étendent sur des surfaces faibles (< 10 ha). Les huiles essentielles sont intégrées dans un programme global de protection en complément du cuivre avec des infusions, décoctions et purins de plantes. Elles sont aussi bien utilisées en tant qu'insectifuge que fongicide suivant l'espèce, le chémotype et la composition. Les huiles essentielles restent des produits chers mais le coût total dépend de l'espèce et du chémotype des plantes dont l'huile est extraite, de la dose et de la fréquence d'application. De plus, elles sont dans la plupart du temps moins chères que certains produits commerciaux déjà formulés (Prevam®, Solalg®, Ortag®... etc). Tous les agriculteurs enquêtés ont mis en évidence le manque de références, de résultats et d'informations quant à l'utilisation des huiles essentielles en protection des cultures car c'est une pratique qui est assez récente. De plus, les huiles essentielles ne sont actuellement pas homologuées en tant que produits de protection des cultures (sauf 2 qui disposent d'autorisation de mise en marché (A.M.M)).

### **3.3 Axe 3 : Évaluer d'éventuels effets non-intentionnels sur les cultures, la faune auxiliaire, la transformation des matières premières d'origine agricole**

Dans le cadre de l'évaluation des substances agricoles phytopharmaceutiques pour l'obtention d'une A.M.M, il est nécessaire d'évaluer la toxicité de ces substances sur la faune auxiliaire. Sur cette base, il est prévu dans le Casdar d'évaluer la toxicité des HE sur les populations d'abeilles *Apis mellifica* et de typhlodrome *Typhlodromus pyri*.

Cet axe inclut également les observations de phytotoxicité notées dans les expérimentations sur matériel végétal.

#### **3.3.1 Évaluation de la toxicité des huiles essentielles sur les insectes auxiliaires des cultures**

Pour évaluer la mortalité des abeilles, la méthode de travail utilisée consiste à ajouter directement l'HE au sirop de nourrissage (test par voie orale) à 1% et 0,5% avec comme adjuvant le LI700 (les tests ont été refait avec du Mix-in et aucune différence n'a été observée). 4 mL de sirop traité puis du sirop non traité ont été donnés aux abeilles tous les jours dans les boîtes (30 à 50 abeilles). Le pourcentage de mortalité des abeilles a été calculé tous les jours de J+1 à J+4. La référence toxique est le diméthoate dilué dans l'eau distillée à 2 concentrations finale respectivement de 0,10 (référence faible) et 0,35 µg (référence forte) de diméthoate pour 10µl de sirop. Des tests de toxicité par contact ont également été conduits selon le protocole suivant : un tissu, d'une surface de 100cm<sup>2</sup> et ayant reçu une aspersion contrôlée de substance (HE + émulsifiant + eau distillée), est déposé dans les boîtes de contention (Figure 6).

Des essais similaires ont également été conduits sur les typhlodromes (insectes auxiliaires des cultures). Pour plus de précisions, se référer au document officiel C.E.B., Méthode N° 167 de Kreiter et Sentenac (2004).

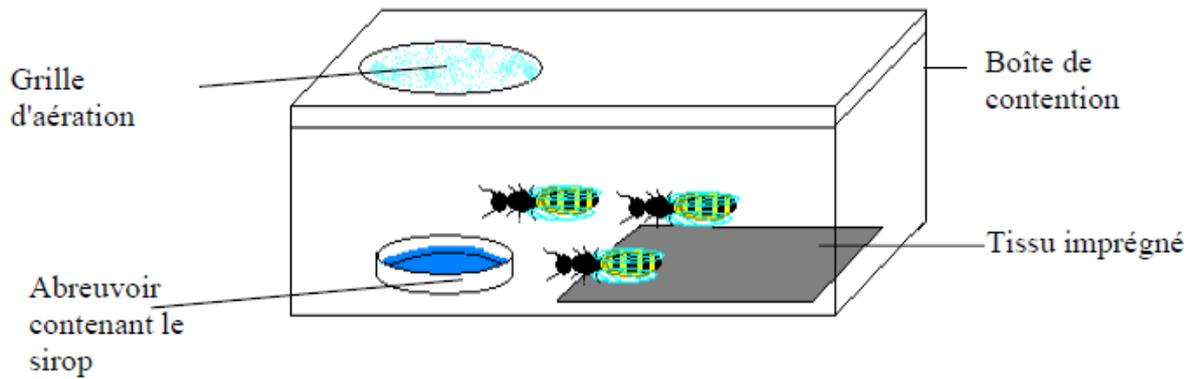


Figure 6 : Schéma de principe des tests toxicologiques par voie orale sur abeille

### 3.3.2 Résultats des tests de toxicité des huiles essentielles sur abeilles

Par voie orale, à la concentration la plus forte de 1 % (v/v), 3 des huiles (TH-thym-, TTF-Tea Tree-, GG-Girofle griffe) testées provoquent une mortalité supérieure à 30% et 2 huiles essentielles (SdM-Sarriette des Montagne- et OS-Origan sauvage-) engendrent une mortalité d'environ 15 et 25% et cela dès le premier jour de test (Figure 7). Ces 5 huiles entraînent une mortalité très forte ( $\geq 80\%$ ) et significativement supérieure au témoin sucré après 4 jours d'expériences (test de Newman-Keuls au seuil 5%). Les huiles EC-Eucalyptus- et MD-Menthe douce- ne provoquent pas de mortalité significativement différente de la mortalité naturelle.

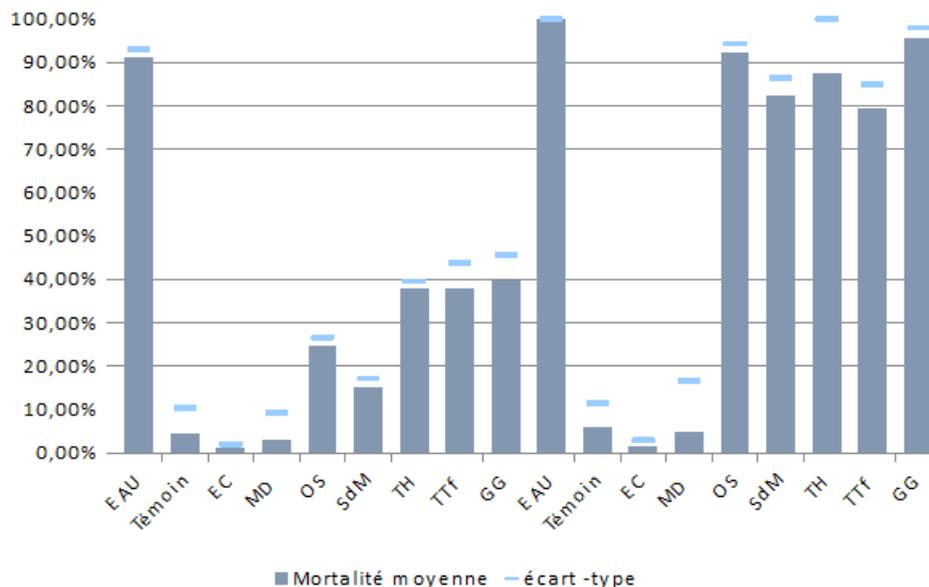
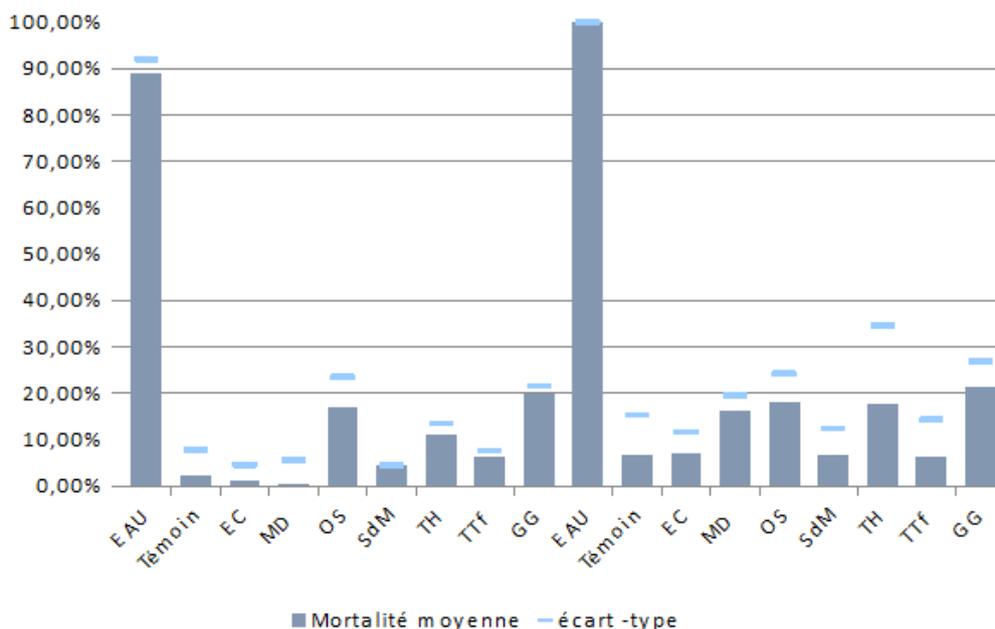


Figure 7 : Mortalités des abeilles après 1 jour (gauche) et 4 jours de nourrissage (droite) en fonction des modalités (concentration en HE 1 % v/v)

A la concentration la plus faible 0,2 % (v/v), identique à celle des essais au champs, aucun effet toxique significativement supérieur à la mortalité naturelle n'a été remarqué (Figure 8). Les huiles qui induiraient la plus grande mortalité (environ 20%) à cette concentration sont les huiles GG-Girofle, Th-Thym à thymol et OS-Origan sauvage.



**Figure 8** : Mortalités des abeilles après 1 jour (gauche) et 4 jours de nourrissage (droite) en fonction des modalités (concentration en HE 0,2 % v/v)

Par contact, la toxicité induite des huiles essentielles est, dans l'ensemble, plus faible que lorsque l'huile est ingérée. A la concentration de 1%, les huiles Th, TTF et GG induisent une mortalité de l'ordre de 20% dès le premier jour de test mais les données ne montrent pas de différence significative avec la mortalité naturelle. Après 4 jours de tests, la mortalité de ces 3 huiles est nettement supérieure à la mortalité naturelle et atteint environ 70%. L'huile SdM provoque également une mortalité significativement différente de la mortalité constatée dans le témoin, elle atteint 45% avec une variabilité dans les résultats, supérieure à celle constatée dans les tests de toxicité orale. Les huiles EC, MD et OS ne présentent pas de toxicité remarquable en comparaison avec le témoin.

A la concentration la plus faible (0,2%), aucune huile n'a engendré une mortalité significativement supérieure à celle du témoin et cela même après 4 jours d'expérience. La variabilité des résultats au sein des lots témoins ne nous a pas permis de prolonger l'expérimentation plus longtemps, en effet la mortalité d'un lot témoin était supérieure à 20% au 5<sup>ème</sup> jour.

La quantité d'huile résiduelle sur les plantes et/ou ramenée dans la ruche et pouvant se trouver dans l'alimentation de la colonie est inconnue lors d'un traitement aérien ; il est donc délicat pour le moment de confirmer l'innocuité ou la toxicité de ces huiles. On peut néanmoins supposer qu'en considérant les concentrations d'huiles qui seraient utilisées en agriculture dans le cadre d'un traitement réaliste, et la toxicité qui reste négligeable jusqu'à une concentration de 0,5% pour la plupart des huiles, qu'un usage précis de ces huiles en traitement agricole ne présenterait pas de risque majeur pour la survie des colonies d'abeilles environnantes.

### **3.3.3 Résultats écotoxicologiques des HE sur typhlodrome**

Le pourcentage de réduction théorique P (%) permettrait de présager d'une diminution de P du taux instantané d'accroissement approximé de la population de *T. pyri* testée dans des conditions de plein champ par rapport à la modalité traitée avec de l'eau distillée.

Il semblerait, d'après les études de laboratoire, que les huiles essentielles aient un impact toxique sur *T. pyri* à la concentration de 0,5%, à l'exception de l'eucalyptus et de l'origan (Tableau 3). Elles

engendrent une mortalité directe et une diminution de la fécondité en comparaison avec le témoin, mais pas la viabilité des descendants. Les essais de laboratoire maximisent la toxicité de tout produit, substance, du fait des conditions (application, sensibilité de la population, support traité).

**Tableau 3** : Impact toxique des huiles essentielles sur *T. pyri* à la concentration de 0.5%

HE testée	Toxicité <i>in vitro</i>	Mortalité des femelles	Taux de fécondité	% réduction théorique (P)
Eucalyptus citriodora	Faiblement toxique	25 %	6,56	16 %
Origan sauvage	Moyennement toxique	32,5 %	6,84	18 %
Tea tree	Toxique	47,5 %	6,54	27 %
Menthe douce	Toxique	47,5 %	6,17	29 %
Thym à thymol	Toxique	60 %	6,09	34 %
Sarriette des montagnes	Toxique	65 %	6,58	36 %
Girofle (griffe)	Très toxique	67,5 %	5,17	46 %

### **3.3.4 Evaluation de la phytotoxicité des huiles essentielles sur les cultures**

Des notations concernant la phytotoxicité des huiles essentielles ont eu lieu dans tous les essais sur matériel végétal (plantes en pots, disques foliaires et en plein champ).

Il ressort des résultats que les concentrations supérieures à 0.5% ont tendance à « brûler » les plantes (Figure 9 et 10). Ces résultats globaux sont à relativiser en fonction de l'adjuvant utilisé, de l'HE évaluée, de l'espèce et de la variété sur laquelle la substance est testée et en fonction du stade phénologique d'application.



**Figure 10** : Brûlures d'HE sur feuille de vigne



**Figure 9** : Brûlures d'HE sur feuille de poirier

En 2014, sur vigne, la première dose de la saison a été testée à 0.5% avec pour conséquence des brûlures foliaires (sans gravité pour la suite de la saison) ce qui confirme la phytotoxicité à cette dose. Les applications suivantes ont été abaissées à 0.2% et n'ont plus provoqué de brûlure. Cette même huile a eu les mêmes conséquences sur feuilles de pommier, allant jusqu'à la brûlure totale suite à la répétition des applications.

### 3.3.5 Impacts des huiles essentielles sur la conservation

Cet axe comprenait également des essais pour évaluer l'impact des HE sur la conservation des pommes à couteau et à cidre et sur la fermentation des moûts de pomme à cidre.



Figure 11 : Immersion des pommes dans une solution d'huile essentielle

L'essai de conservation s'est déroulé sur la variété Jonagored de la façon suivante : Immersion pendant 2 minutes dans l'eau à 48°C additionnée d'adjuvant et de 0,2 % d'HE (Figure 11) puis séchage à l'air libre. Les notations ont été réalisées 120 jours plus tard après conservation en froid positif. Sur pommes à couteaux, les résultats des premiers essais n'ont pas permis de mettre en évidence que l'utilisation d'huiles essentielles en thérapie améliore significativement la conservation des fruits par rapport au témoin. En revanche, certaines HE ont engendré des échaudures de senescence plus ou moins marquées (Figure 12). Les HE à phénols engendrent des désordres physiologiques du type brunissement des fruits. De ce fait, ceux-ci ne sont plus commercialisables en l'état.



Figure 12 : Symptômes d'échaudures provoquées par les HE à 0,2% en immersion avant stockage (M7: Menthe douce, M8: Origan, M9: Sarriette, M10: Thym à thymol)

Toutes les HE testées en conservation semblent avoir eu un impact plus ou moins négatif sur la conservation des pommes (Figure 13). Par contre, il est à noter que le traitement à l'eau chaude uniquement améliore la conservation.

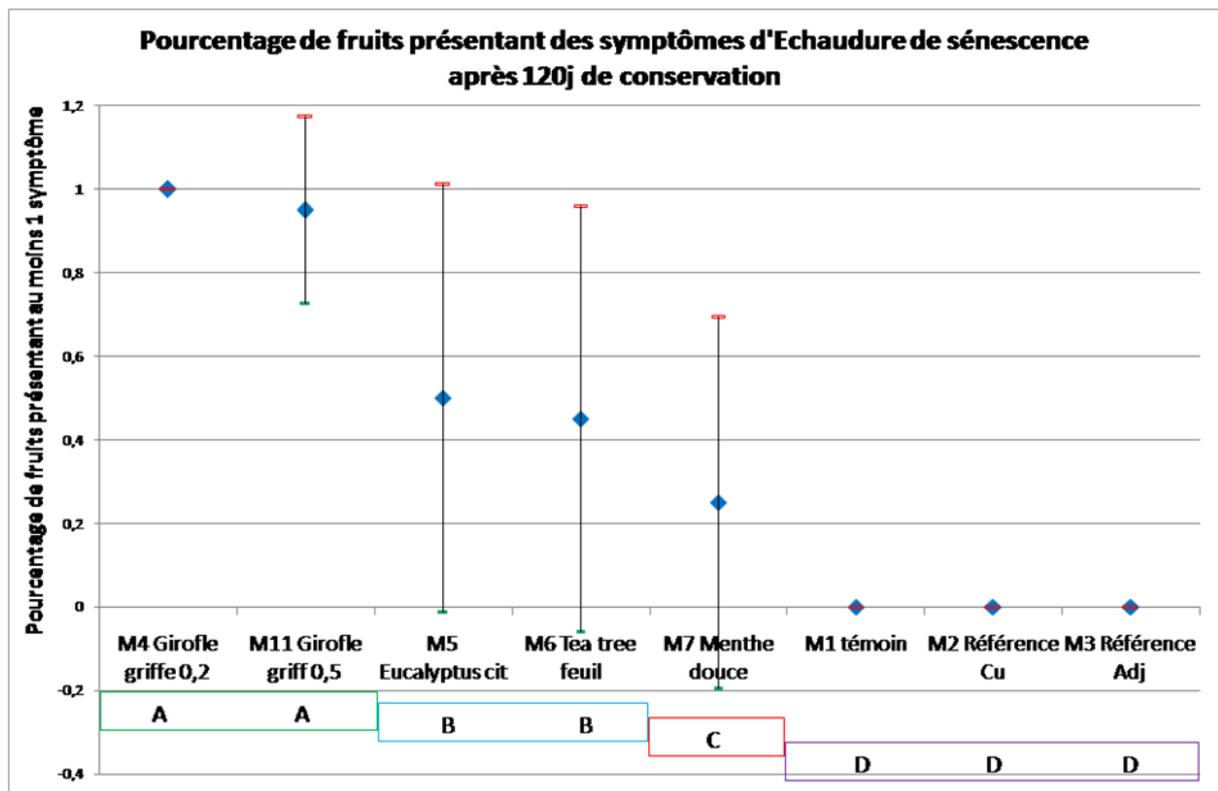


Figure 13 : Pourcentage de fruits par modalité de traitements présentant des symptômes après 120 j de conservation

### 3.3.6 Impacts des HE sur les cinétiques de fermentation

Sur les pommes à cidre, les pommes sont laissées sur place sous les arbres et n'ont pas subi de traitement en immersion et seules les modalités les plus prometteuses lors des essais ont été laissées en vergers. Ces pommes ont par ailleurs été pressées et mises en fermentation afin de comparer leur cinétique fermentaire par rapport à un lot non traité.

Concernant l'impact des traitements aux HE sur les cinétiques fermentaires, on peut conclure que le traitement avec des HE n'a pas d'impact sur le déroulement des fermentations comme le montrent les courbes ci-après. Ces courbes indiquent l'évolution de la masse volumique en cours de la fermentation, qui est un indicateur de la consommation du sucre contenu dans le moût par les levures. On remarque ici que les modalités HE suivent la même évolution de leur masse volumique que le témoin (Figure 14).

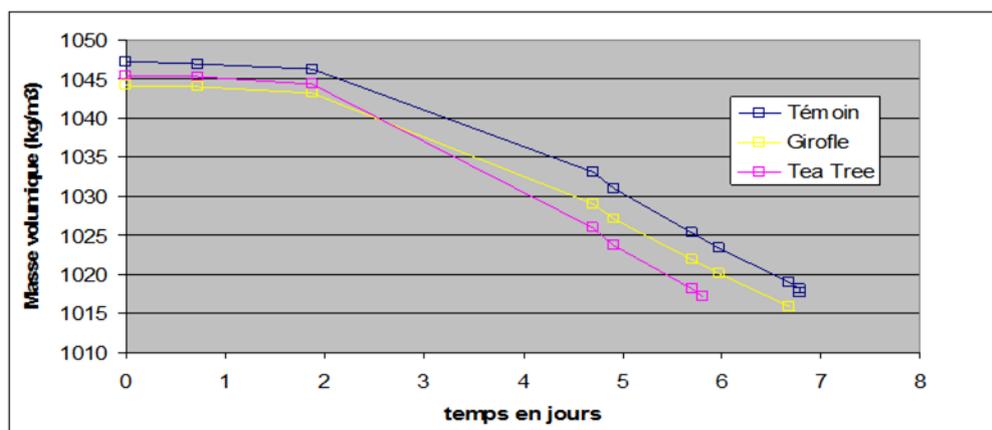


Figure 14 : Cinétique de fermentation des moûts de pommes ayant été traitées en culture

### 3.4 Axe 4 : Évaluer au champ l'intérêt d'huiles essentielles pour la protection des cultures

Dans le cadre de cet axe 4, il est prévu d'évaluer au champ des huiles essentielles selon différentes modalités : en mélange, associées à des coformulants et pour des doses, des périodes et des fréquences d'application variables, en comparaison avec des stratégies globales de protection incluant des références de produits fongicides (cuivre, soufre). Lors de ces essais au champ, des notations complémentaires sont réalisées sur oïdium (pommier), sur pucerons (pommiers, salades), sur doryphore (pomme de terre), sur black rot et oïdium (vigne) suite à l'application d'huiles essentielles.

#### **3.4.1 Expérimentation sur pommier en verger expérimental contre *Venturia inaequalis***

Des tests aux vergers complémentaires des essais en laboratoire ont eu pour but de déterminer l'intérêt des huiles essentielles, non seulement en Agriculture Biologique (comparativement au cuivre) mais aussi en production fruitière intégrée. Il y avait peu de résultats d'essais sur l'utilisation des huiles essentielles en protection des vergers de pommiers avant cette étude. Suite aux résultats des essais en laboratoire, 4 HE ont principalement été testées sur les campagnes 2013, 2014 et 2015 par 2 réseaux d'expérimentation (Nord et Sud) : eucalyptus, girofle, sarriette et tea tree (3 HE supplémentaires sur certains sites). Les HE sont utilisées à la concentration de 0,2% (v/v) additionnées d'un adjuvant (Héliosol) à 0,2% (v/v). Les traitements ont eu lieu tous les 7 jours (sauf s'il n'y avait pas de précipitation durant cette période) ou tous les 20 mm de pluie. 5 à 6 notations tavelure étaient prévues au cours de la saison :

1<sup>er</sup> passage : sortie des taches issues des premières contaminations au seuil de projection de 5% d'ascospores projetées

2<sup>nd</sup> passage : sortie des taches issues des contaminations au seuil de projection de 25% d'ascospores projetées

3<sup>ème</sup> passage : 50%

4<sup>ème</sup> passage : 75%

5<sup>ème</sup> passage : fin des contaminations primaires

6<sup>ème</sup> passage : récolte

Le réseau Nord était constitué de la CRAN, de la FREDON NPdC et de l'IFPC sur pomme de table et pomme à cidre. Le réseau Sud était constitué de la CA 82 sur pomme de table.

La pression tavelure, trop forte ou trop faible suivant les situations, de 2013 à 2015, n'a malheureusement pas permis de différencier les modalités entre elles dans les différentes régions mais a permis de mettre en évidence des différences significatives avec la modalité référence (cuivre-soufre). Seules quelques tendances semblent s'être dessinées, mais elles n'ont pas permis de mettre en évidence une répétabilité entre les sites d'essais.

Notons qu'il n'y a pas eu de symptôme de phytotoxicité observé pour une cadence de traitement assez élevée (tous les 7 jours).

Par contre, aucun effet dans la maîtrise des populations de pucerons cendré et/ou lanigère n'a pu être constaté. Dans différents sites et sur deux années, les colonies de pucerons cendrés et lanigères ont été relativement importantes et cela malgré la répétition des applications à base d'huiles essentielles. Il est possible de s'interroger sur l'existence éventuelle d'un lien entre la phytotoxicité sur hyménoptères de certaines huiles et ces évolutions de colonies de pucerons.

Sur pomme à cidre, des tests avec des concentrations en HE à 0,5 % (v/v) n'ont pas montré plus d'efficacité.

### **3.4.2 Expérimentation en vignoble contre *Plasmopara viticola***

La problématique de l'usage du cuivre, notamment en viticulture biologique, reste d'actualité. Les discussions au niveau européen tendent vers une baisse des doses autorisées à échéance rapprochée. Ainsi les besoins de solutions de réduction (produits complémentaires, modulation des doses, optimisation de la pulvérisation) deviennent urgents.

Il est à noter que les modalités sur vigne incluaient toutes une faible dose de cuivre (100 g/ha/traitement) ; les HE n'ont pas été testées seules.

En viticulture, les partenaires mobilisés (ADABIO Savoie, CA71, GRAB et IFV) ont réalisé des essais sur 3 modèles complémentaires : disques foliaires en survie, vignes en pots et vignoble. Les huiles essentielles étudiées sont issues de la griffe de Girofle, l'Eucalyptus citronné, l'Origan, le Thym, la Sarriette et le Tea-Tree.

En 2014 et 2015, les HE ont été utilisées au vignoble dans des essais d'évaluation classiques (micro-parcelles répétées en blocs de Fisher) en associant les huiles (0,2%) avec une dose de cuivre basse (100 à 150 g de cuivre métal à chaque traitement : Kocide Opti®). L'objectif était que la faible dose de cuivre seule ne soit pas assez efficace contre le mildiou et que l'ajout d'HE puisse révéler une efficacité supplémentaire pour pallier ce décalage. Les résultats des essais au vignoble sont très hétérogènes, notamment en 2015 où la pression mildiou a été relativement faible (Bourgogne et Savoie).

Au vignoble, si on essaie de synthétiser les données en regroupant les résultats des 2 années (Tableau 3), l'ajout des HE à la dose faible de 0,2 % et de cuivre, quelle que soit la plante utilisée, ne procure pas une efficacité supplémentaire par rapport à la dose faible de cuivre seule. Si on regarde dans le détail les résultats essai par essai, on peut observer quelques tendances mais celles-ci ne se retrouvent pas entre les sites d'essai ou parfois même entre les millésimes. Ainsi l'HE d'Eucalyptus semble provoquer des effets négatifs sur les parcelles du Bordelais (2014 et 2015), alors qu'elle montre des tendances positives en Savoie !

S'il est clair que les HE disposent intrinsèquement d'un potentiel anti-mildiou intéressant (résultats des essais sur plants et sur disques foliaires), leur utilisation au vignoble pose un certain nombre de questions. Tout d'abord sur la nature même des huiles qui, lorsqu'elles sont pures, possèdent des phrases de risques et nécessitent une manipulation précautionneuse. De plus, leur nature hydrophobe pose de véritables problèmes de dilution dans la bouillie de traitement : lors des expérimentations, de nombreux adjuvants naturels ou commerciaux ont été évalués mais ceux qui donnent les meilleurs résultats ne permettent pas une dissolution parfaite et durable. Ainsi, on peut se demander si les HE ont été appliquées de façon homogène et optimale sur les essais au vignoble. Enfin, la question la plus importante est celle soulevée par les essais *in vitro* : l'hypothèse d'une dégradation rapide des composés actifs contenus dans les HE, par des éléments extérieurs (oxygène, UV, autres produits phytosanitaires...) remet en cause l'utilisation en application préventive.

Le recours à une formulation spécifique est une piste d'amélioration possible pour protéger les composés actifs des agressions extérieures. Ces études nécessiteraient des caractérisations chimiques des principaux constituants des HE et un travail sur des co-formulants adaptés. Cette voie a déjà été choisie par certains industriels pour développer des produits à base d'huiles essentielles ou de composés issus d'HE (Bioxeda®, Sporatec®).

Une autre piste serait d'employer les HE en application sur des symptômes déjà établis, pour profiter de leur action immédiate sur le mycélium et les spores. Dans les essais *in vitro* du programme HE, cette stratégie a été étudiée mais les réalisations n'ont pas donné de résultats exploitables. Il serait peut-être judicieux de poursuivre dans cette voie en améliorant les protocoles et les méthodologies.

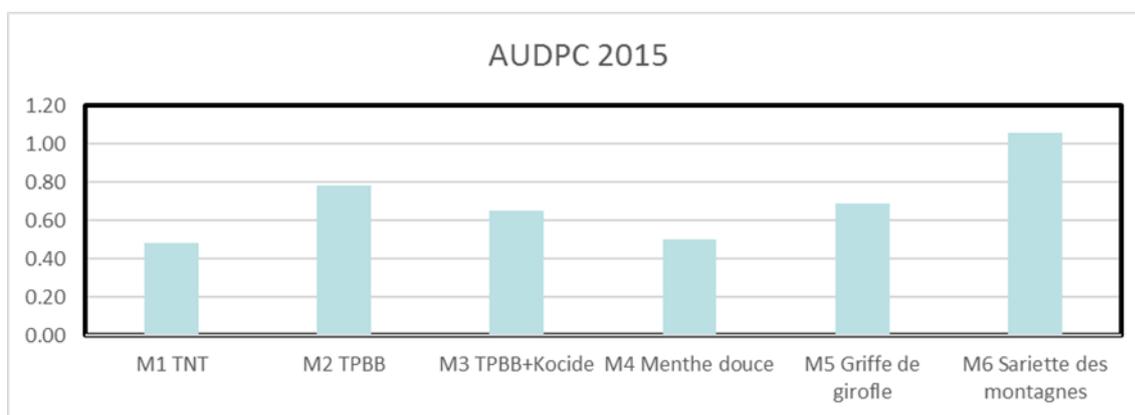
**Tableau 4** : Tableau de synthèse des résultats sur vigne des essais HE

Partenaire	Résultat global	Meilleures HE
ADABIO 14	Pas de différences significatives HE / dose Cuivre réduite	Thym Sariette
ADABIO 15	Pas de différences significatives HE / dose Cuivre réduite	Eucalyptus Sariette (feuillage)
CA 71 14	Pas de différences significatives HE / dose Cuivre réduite	Eucalyptus Tea-tree
CA 71 15	Pas de pression mildiou- Pas de différences entre les modalités	
GRAB 14	Pas de différences significatives HE / dose Cuivre réduite	
GRAB 15	Pas de différences significatives HE / dose Cuivre réduite	
IFV 33 14	Pas de différences significatives HE / dose Cuivre réduite	Thym Origan
IFV 33 15	Pas de différences significatives HE / dose Cuivre réduite	Thym Origan
IFV 81 14	Pas de différences significatives HE / dose Cuivre réduite	Thym?
IFV 81 15	Pas de différences significatives HE / dose Cuivre réduite	Girofle Thym

### 3.4.3 Expérimentation Pomme-de-terre en condition de production contre *Phytophthora infestans*

Les essais sur pomme de terre ont eu lieu en parcelles expérimentales sur 3 sites brumisés pour augmenter la pression de maladie (sites Arvalis de Boigneville et Villers Saint Christophe, site FREDON Nord Pas de Calais d'Auchy les Mines) et sur une parcelle de producteur en Isère (essai Adabio) en 2014 et 2015. Les variétés testées étaient Kaptah, Vandel, Ditta et Charlotte. Les modalités testées comprenaient, par site, 4 huiles essentielles à 0,2% additivées d'un adjuvant (Heliosol), une modalité de référence dite référence producteur (comprenant Bouillie Bordelaise et Souffre) et un témoin non traité (adjuvant).

Sur pomme de terre, il a été difficile de corroborer les résultats obtenus d'un site à l'autre et d'année en année. En effet, les modalités menthe douce et girofle griffe semblent montrer une tendance bénéfique pour lutter contre le mildiou (Figure 15) mais cette tendance n'a pas été confirmée sur les sites d'Arvalis en stations d'expérimentations brumisées sous forte pression de maladie.

**Figure 15** : AUDPC des essais isérois 2015 sur pomme de terre (TPBB= Témoin Producteur Bouillie Bordelaise)

Sur le site de Boigneville, les HE n'ont montré aucune efficacité (Figure 16). Les courbes de destruction du feuillage des modalités HE suivent la courbe de destruction du feuillage du témoin non traité.

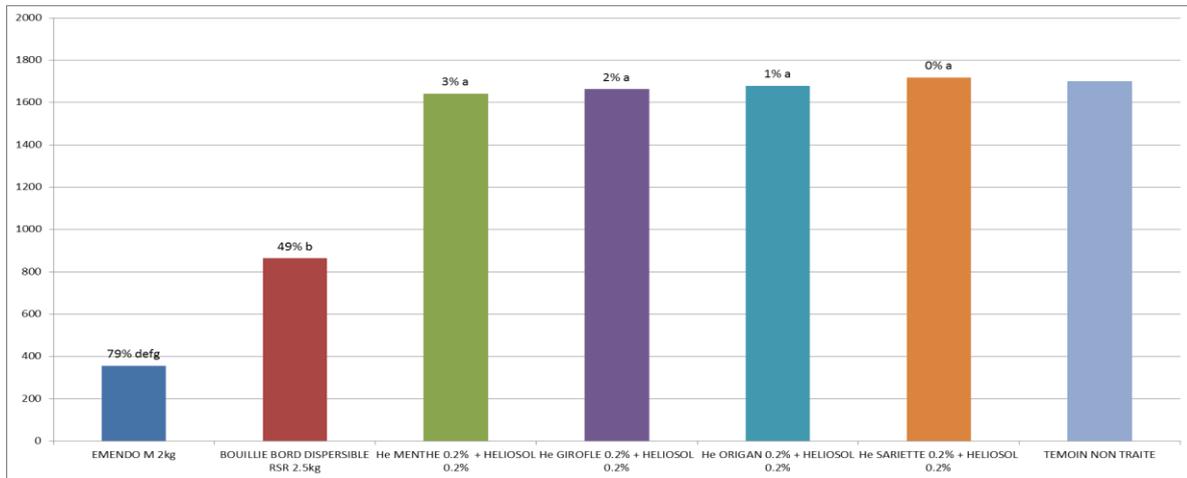


Figure 16 : AUDPC des essais de Boigneville 2015 sur pomme de terre

Sur le site de Villers-Saint-Christophe, la modalité Sariette a montré une légère efficacité lors des premières applications (les premières semaines de l'essai). Malheureusement en fin d'essai, les modalités HE étaient identiques au Témoin non traité. En fin de saison, l'analyse des rendements corrobore ce résultat puisque les modalités girofle et menthe ont des rendements supérieurs au témoin (Figure 17).

Les sites d'Arvalis sont des sites d'expérimentation sous brumisation ce qui leur confère une pression de maladies beaucoup trop importante pour les modalités à base d'HE qui ne semblent pouvoir s'exprimer qu'à un certain niveau de pression.

Un résultat intéressant vient des notations complémentaires effectuées sur le site isérois. En effet, on note un effet de la modalité de traitement sur le rendement : la modalité girofle griffe présente un poids de tubercules par pied supérieur aux autres modalités. En outre, les doryphores sont plus nombreux sur les modalités menthe douce et sarriette.

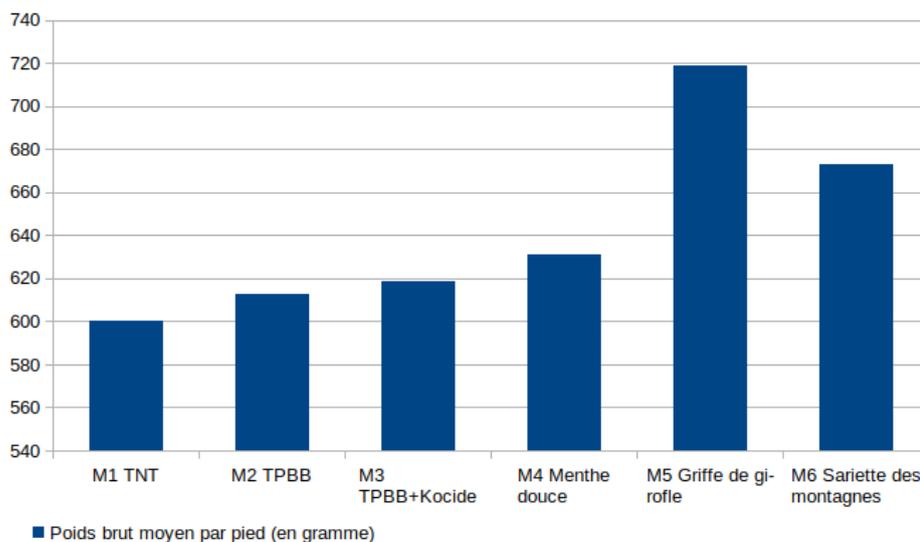


Figure 17 : Rendements moyens des plants de pomme de terre selon les modalités HE

### **3.4.4 Expérimentation Salade en plein champ en condition de production contre *Bremia lactucae***

Sur la base des résultats des essais précédents sous tunnels, ce sont donc les huiles essentielles de girofle et de sarriette qui ont été retenues pour les essais en conditions de production, en culture de laitue.

Le second essai conduit à la SERAIL a permis d'évaluer les deux huiles essentielles associées au même mouillant Héliosol seules ou en mélange à deux doses (0,1% et 0,2%). Les premières attaques de *Bremia* ont été très précoces et relativement virulentes.

En 2014, sur la station de la SERAIL, d'abord en pépinière puis en plein champ, sur les sept huiles essentielles étudiées, seule l'huile essentielle de sarriette a montré des résultats prometteurs par rapport à l'ensemble des autres modalités. Cependant, elles n'ont pas montré d'efficacité significative par rapport au témoin non traité. Au Grab, en condition de production, les HE de girofle et de sarriette, testées seules ou en mélange, n'ont pas apporté de protection satisfaisante, dans les conditions expérimentales de 2014. Cependant aucune phytotoxicité n'a été observée.

En 2015, le mélange des deux huiles essentielles (girofle et sarriette) à la 0,2% chacune a été testé avec deux émulsifiants : Héliosol (terpènes de pin) et Fieldor Max (triglycéride d'origine végétale).

Au GRAB, cet essai a également été réalisé avec le même mouillant Héliosol, en testant les deux huiles essentielles seules (à 0,2%) et en mélange (0,1% chacune et 0,2% chacune). Dans cet essai (pression mildiou modérée), Cuivrol a apporté une protection limitée (25% d'efficacité), à la dose totale de cuivre métal égale à 2,88 kg/ha.

En dernière année, à la SERAIL, les conditions climatiques de l'année n'ont pas permis d'observer de développement de mildiou et ainsi empêché l'évaluation de l'efficacité des modalités contre ce phytopathogène. Dans l'essai du Grab (pression mildiou forte), les modalités à base de cuivre ont apporté une protection limitée (40% d'efficacité pour le Cuivrol, 50% d'efficacité pour l'Héliocuivre). Fieldor Max a montré une activité fongicide (20% d'efficacité) supérieure à Héliosol (5% d'efficacité). Par contre, les huiles essentielles de girofle et de sarriette, testées en mélange avec chacun des émulsifiants, n'ont pas apporté de protection satisfaisante, dans les conditions expérimentales de 2015.

## **Conclusion**

Ce projet a permis de mettre en lumière l'intérêt du monde agricole pour des produits de protections des plantes à base d'HE et plus généralement à base de substances naturelles. Cependant, si l'efficacité de telles molécules est bien démontrée au laboratoire, les partenaires du projet ont été rapidement confrontés aux difficultés techniques et réglementaires de la formulation de ces substances qui sont difficile à utiliser sur le terrain. En effet, la mise en solution des HE nécessite une expertise importante en formulation mais est pourtant nécessaire pour leur utilisation efficace en agriculture. Dans une optique de remplacement des fongicides de synthèse, il apparaît donc nécessaire de renforcer les efforts de recherche sur cette problématique afin de pouvoir proposer des HE qui conserveraient toute leur efficacité fongicide au champ. De nombreux agriculteurs qui utilisent les HE s'en servent pour rétablir des équilibres fonctionnels entre les compartiments écologiques. Une autre voie de recherche plus fondamentale consisterait donc à étudier l'influence de ces substances sur les équilibres écosystémiques à des doses non biocide, ce qui reviendrait à repenser complètement la protection des plantes.

## Références bibliographiques

Agreste Primeur, 2011b. France métropolitaine - Première tendances. Recensement agricole 2010, 266.

Chavassieux D., 2014, Utilisation des huiles essentielles en protection des cultures, Analyses et enquêtes des pratiques chez les agriculteurs, Rapport de Master Agroecology, Double Diplôme ISARA/WUR

Deweere C., Muchembled J., Sahmer K., Halama P., 2015. Biocontrol and botanical substances: innovative methods for evaluation of essential oils on a triazole resistant strain of *Venturia inaequalis* XVIII. International Plant Protection Congress 24–27 August 2015, Berlin. Communication orale

Kreiter S., Sentenac G., 2004. Méthode CEB No. 167: Méthode d'Étude des Effets Non Intentionnels à Moyen Terme sur les Phytoseiidae de la Vigne des Préparations Phytopharmaceutiques Utilisés en Traitement des Parties Aériennes. CEB, AFPP, Paris, France.

Muchembled J., Deweere C., Sahmer K., Halama P., 2015. In vitro evaluation of 7 essential oils efficacy on *Phytophthora infestans*. XVIII. International Plant Protection Congress 24–27 August 2015, Berlin. Communication affichée

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL)