

## Présentation du projet

**ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra**

0337115808 ; [ritinaval@yahoo.fr](mailto:ritinaval@yahoo.fr)

Université d'Antananarivo, **Ecole Doctorale** : Sciences de la vie

**Année d'inscription en thèse** : 2012-2013

**Co- Directeurs de thèse** : Prof. RATSIMIALA RAMONTA Isabelle et Dr CHILLET Marc

**Titre du projet de recherche** : « Evaluation des potentialités d'utilisation des huiles essentielles de *R. aromatica* et de girofle contre quelques pathogènes et ravageurs post- récoltes des fruits tropicaux (mangue, ananas, banane) »

### Résumé du projet de recherche :

Les pertes post-récolte des produits agricoles touchent jusqu'à 50% des stocks dans les pays tropicaux en voie de développement. Or les traitements chimiques sont souvent trop onéreux pour les paysans producteurs et présentent des risques pour le consommateur et l'environnement. L'objectif de cette thèse est d'évaluer la faisabilité d'une alternative biologique à la conservation post-récolte de fruits tropicaux. Elle se propose d'exploiter les propriétés toxiques, antimicrobiennes et antifongiques des huiles essentielles souvent disponibles sur place.

Ce travail précurseur portera sur trois pathogènes : les mouches des fruits (*Bactrocera*), l'anthracnose (*Colletotrichum*) et la fusariose (maladie de la tache noire) associés à trois fruits communs à Madagascar à La Réunion : mangue, banane, et ananas. Des résultats préliminaires ont orienté notre choix sur les différentes huiles essentielles (chénotypes) produites par deux arbres présents à Madagascar : *R. aromatica* et *E. caryophyllata* (le giroflier).

Les agents pathogènes seront isolés à partir de fruits collectées dans divers contextes écologiques différents : la Côte Est et les Hauts Plateaux pour Madagascar, les Hauts et les Bas à La Réunion. La composition des huiles essentielles sera déterminée. La toxicité de chacune sera mesurée *in vitro* sur les différents pathogènes. L'effet des huiles les plus performantes sera ensuite évaluée sur des fruits en conservation, en conditions réelles et les molécules (ou groupes de molécules) actives seront identifiées. Les modalités d'applications les plus appropriées seront alors recherchées.

Dans le cadre de cette thèse, cette demande de financement servira à établir les collections malgaches d'agents infectieux et d'huiles essentielles, ainsi qu'à réaliser les premiers tests de toxicité. Les dépenses seront notamment liées à des coûts de mission de terrain, des frais d'analyse des huiles, à la mise en culture des pathogènes, et aux premiers tests de toxicité. L'ensemble de ces actions seront réalisées à Madagascar.

**Mots clés** : girofle, ravensare, huile essentielle, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Bactrocera*

## Comité de thèse (ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra)

### Directeurs de thèse

- **Pr. RATSIMIALA RAMONTA I.**

Enseignant-chercheur en Physiologie Végétale du Département de Biologie et Ecologie Végétales, Université d'Antananarivo, spécialisée en Physiologie végétale

- **Dr CHILLET M.**

Chercheur au sein de l'UMR Qualisud MRST, CIRAD La Réunion, spécialisé en Phytopathologie des fruitiers tropicaux

### Encadreurs

- ✓ **Dr DANTHU P.**

Chercheur CIRAD du DP « Forêts et biodiversité », promoteur du Projet, Directeur Régional du CIRAD Madagascar

- ✓ **Dr ANDRIANOELISOA H.S.**

Chercheur FOFIFA du DP « Forêts et biodiversité », spécialisée en chimie des HE

- ✓ **Dr JAHIEL M.**

Chercheur du CIRAD Madagascar, spécialiste du Girofle et le conditionnement des fruits

- ✓ **Dr FAWBUSH F.**

Enseignant-chercheur à l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Département Industries Agricoles et Alimentaires, Université d'Antananarivo, spécialisée en Biochimie, Physiologie et conservation des produits horticoles

- ✓ **Pr. RAKOTO D.**

Enseignant-chercheur en Physiologie Végétale du Département de Biochimie fondamentale et appliquée, Université d'Antananarivo, spécialisée en Microbiologie

- ✓ **Pr. JEANNODA V.**

Enseignant-chercheur en Physiologie Végétale du Département de Biochimie fondamentale et appliquée, Université d'Antananarivo, spécialisé en Toxicologie

### Dates :

- 11 Mars 2013 (déjà fait)
- 11 Mars 2014
- 11 Mars 2015

## Liste des publications (de la doctorante et de l'équipe encadrante) de 2009-2013

1. **Andrianjafinandrasana SN, Andrianoelisoa HS, Jeanson ML, Ratsimiala Ramonta I and Danthu P.** (2013). Allelopathic effects of volatile compounds of essential oil from *Ravensara aromatica* Sonnerat chemotypes. *Allelopathy Journal* (IF: 0.846); 31:333–44.
2. Lassois L, Jijakli MH, **Chillet M** and de Lapeyre de Bellaire L. (2010). Crown rot of bananas: Preharvest factors involved in postharvest disease development and integrated control methods. *Plant Disease* (IF=2.449); 94:648–58.
3. Lassois L, Bastiaanse H, **Chillet M**, Jullien A, Jijakli M H and De Lapeyre de Bellaire L. (2010). Hand position on the bunch and source–sink ratio influence the banana fruit susceptibility to crown rot disease. *Annals of Applied Biology* (IF: 2.179); 156: 221-229.
4. **Andrianoelisoa H, Menut C and Danthu P.** (2012). *Ravensara aromatica* vs. Ravintsara: une confusion qui perdure parmi les distributeurs d'huiles essentielles en Europe et en Amérique du Nord. *Aromathérapie* ; 10:161–9.
5. **Andrianoelisoa HS, Menut C, Ramanoelina P, Raobelison F, De Chatelperron PC and Danthu P.** (2010). Chemical Composition of Essential Oils from Bark and Leaves of Individual Trees of *Ravensara aromatica* Sonnerat. *Journal of Essential Oil Research* (IF: 0.412); 22:66–70.
6. **Andrianoelisoa HS, Menut C, Chatelperron PC De, Ramanoelina P and Danthu P.** (2006). Intraspecific chemical variability and highlighting of chemotypes of leaf essential oils from *Ravensara aromatica* Sonnerat, a tree endemic to Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal* (IF: 1.424); 21:833–8.
7. Behra O, **Danthu P**, Sarter S, Radaniela R, Fourcade C, Randrianarivelo R, Ranaivosoa B and Arnal-Schnebel B. (2009). Saro (*Cinnamosma fragrans* Baillon) essential oil: application in health and medicine. In: African Natural Plant Products: New discoveries and challenges in Chemistry and Quality. *ACS Symposium series*; 1021:485–90.
8. Randrianarivelo R, Sarter S, Odoux E, Brat P, Lebrun M, Romestand B, Menut C, **Andrianoelisoa HS, Raherimandimby M and Danthu P.** (2009). Composition and antimicrobial activity of essential oils of *Cinnamosma fragrans*. *Food Chemistry* (IF: 3.655); 114:680–4.
9. Randrianarivelo R, **Danthu P**, Benoit C, Ruez P, Raherimandimby M and Sarter S. (2010). Novel alternative to antibiotics in shrimp hatchery: effects of the essential oil of *Cinnamosma fragrans* on survival and bacterial concentration of *Penaeus monodon* larvae. *Journal of applied microbiology* (IF: 2.337); 109:642–50.
10. Sarter S, Randrianarivelo R, Ruez P, Raherimandimby M and **Danthu P.** (2011). Antimicrobial effects of essential oils of *Cinnamosma fragrans* on the bacterial communities in the rearing water of *Penaeus monodon* larvae. *Vector borne and zoonotic diseases* (IF: 2.437); 11:433–7.
11. **Fawbush F, Nock J F and Watkins CB.** (2009). Antioxidant contents and activity of 1-methylcyclopropene (1-MCP)-treated 'Empire' apples in air and controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology* (IF: 2.411); 52: 30-37.
12. Michels T, Bisson A, Ralaidovy V, Rabemananjara H, **Jahiel M** and Malézieux E.(2011). Horticultural Agroforestry Systems in the Humid Tropics: Analysis of Clove Tree-Based Systems in Madagascar. *International Symposium on Tropical Horticulture*; 894: 161–8.
13. Razafimamonjison G, **Jahiel M**, Ducloux T, Ramanoelina P, **Fawbush F and Danthu P.** (2013). Bud, leaf and stem essential oil composition of clove (*Syzygium aromaticum* L.) from Indonesia, Madagascar and Zanzibar. *Natural Product Communications* (IF: 1.242). (soumis).
14. Rakotobe L, Mambu L, Deville A, Dubost L, **Jeannoda V, Rakoto D** and Bodo B. (2010). Clerodane and 19-norclerodane diterpenoids from the tubers of *Dioscorea antalyensis*. *Phytochemistry* (IF: 3.351); 71: 1007-1013.
15. Razafintsalama V, Sarter S, Mambu L, Randrianarivo R, Petit T, Rajaonarison J F, Mertz C, **Rakoto D and Jeannoda V.** (2013). Antimicrobial activities of *Dilobeia thouarsii* Roemer and Schulte, a traditional medicinal plant from Madagascar. *South African Journal of Botany* (IF: 1.659); 87: 1-3.

## Lettre de motivation

Andrianjafinandrasana Soloniony Navalonamanitra  
 Département de biologie et écologie végétales  
 Faculté des Sciences  
 Université d'Antananarivo  
 BP 906  
 0337115808  
[ritinaival@yahoo.fr](mailto:ritinaival@yahoo.fr)

Antananarivo, le 18 Avril 2013

Objet : candidature à l'appel d'offre pour l'allocation de recherche PARRUR

Mesdames, Messieurs,

L'appel à candidature pour l'allocation de recherche PARRUR a retenu mon attention, aussi, je vous soumetts mon dossier de candidature. Je suis une étudiante malgache, inscrite en première année de thèse à l'Université d'Antananarivo (Faculté des Sciences), encadrée par Madame le Professeur Isabelle Ratsimiala-Ramonta

Le thème de ma recherche a pour objet de rechercher des méthodes de lutte biologique contre les ravageurs des fruits tropicaux par la maîtrise de propriétés allélopathiques des huiles essentielles. L'intitulé de ma thèse est : « *Evaluation des potentialités d'utilisation des huiles essentielles de *R. aromatica* et de grofle contre quelques pathogènes et ravageurs post récolte des fruits tropicaux (mangue, ananas, banane)* ».

Ce travail est réalisé dans le cadre du DP Forêts et Biodiversité qui associe l'Université d'Antananarivo, le FOFIFA et le CIRAD. Il sera co-encadré par des chercheurs malgaches et français (en particulier des chercheurs du Cirad La Réunion qui ont des compétences fortes dans le domaine de la conservation des fruits).

Ce travail, bénéficie d'un soutien financier dans le cadre d'un projet européen pour assurer les actions de recherches en milieu contrôlé qui seront réalisées pour partie à Madagascar et pour partie à La Réunion. Mais le budget alloué ne prend pas en compte la première phase de ma recherche qui consiste à rassembler l'ensemble des échantillons nécessaires (collecte et caractérisation des huiles essentielles, collecte et isolement des souches fongiques ou bactériennes) et les premiers tests de toxicité. Ce sont ces travaux de collectes et d'analyses que je souhaiterais (avec l'accord de mes encadrants) faire financer dans le cadre de cet appel à proposition.

Par ailleurs, les financements demandés serviront notamment à des déplacements locaux pour effectuer des collectes d'échantillons, à la réalisation d'analyses des huiles essentielles collectes, de mise en culture et d'isolement des souches de pathogènes, des premiers tests de toxicité, travaux qui seront réalisés dans différents laboratoires de l'Université d'Antananarivo.

En espérant que ma candidature retiendra votre attention, je reste à votre disposition pour un entretien de motivation.

Dans l'attente d'une suite favorable de votre part, je vous prie d'agréer, Mesdames et Messieurs, l'expression de mes salutations distinguées.

*ASN Manitra*

ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra

## Curriculum Vitae

ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra

Lot VS 52 BSA Avaratr'Ankatso

Antananarivo-101-

Téléphone : 0337115808

E-mail : [ritinaval@yahoo.fr](mailto:ritinaval@yahoo.fr)



### ETAT CIVIL:

- Née le 06 Avril 1986 à Befelatanana
- Célibataire
- Nationalité : Malagasy

### DIPLOMES OBTENUS :

2008: - Diplôme de DEA avec mention Très-Bien en Sciences de la vie – option **PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE (Bacc+6)** de la Faculté des Sciences – Université d'Antananarivo – Madagascar.

2002: - Baccalauréat d'enseignement général (Série D)

### PUBLICATION:

Andrianjafinandrasana, S.N.; Andrianoelisoa, H.S.; Jeanson, M.L; Ratsimiala Ramonta I and P. Danthu. 2013. Allelopathic effects of volatile compounds of essential oil from *Ravensara aromatica* Sonnerat chemotypes. *Allelopathy Journal* (IF :0.846), 31(2) : 333–344.

### FORMATIONS :

2008: « Caractérisation de l'état physiologique de la plante » animé par le CIRAD – BIOS, URP 104 – AIVA. Antananarivo. Madagascar

2007: « Standardisation et contrôle de qualité des phytomédicaments » animé par l'IMRA Avarabohitra Itaosy. Antananarivo. Madagascar

### CONNAISSANCES LINGUISTIQUES :

- Malagasy (parlée, écrite, lue)
- Français (parlée, écrite, lue)
- Anglais (parlée, écrite, lue)

Je déclare sur l'honneur que les renseignements ci-décrits sont sincères et exacts.

ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra





UNIVERSITE D'ANTANANARIVO  
FACULTE DES SCIENCES  
SERVICE DE LA SCOLARITE



N° : 5599/12-RAP/Scb.

## ATTESTATION D'INSCRIPTION

Le Doyen de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo atteste par la présente que :

Madame ANDRIANJAFINANDRASANA Solon'onny ~~Navalonamanitra~~

Née le **06 avril 1986** à **Befelatanana**

est inscrite comme étudiante préparant une **THESE** de **DOCTORAT** en **SCIENCES DE LA VIE**; Spécialité : **Physiologie Végétale**, depuis l'année universitaire 2012-2013.

Cette inscription est valable durant les années de préparation de la thèse, mais une deuxième inscription est obligatoire au début de l'année de soutenance.

Cette attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Antananarivo, le 27 décembre 2012.

Pour Le Doyen de la Faculté  
des Sciences  
Le Chef du Service de la Scolarité  
  
RAKOTOSON Albert Pierre



## Lettre d'engagement

Andrianjafinandrasana Soloniony Navalonamanitra  
 Département de biologie et écologie végétales  
 Facultés des Sciences  
 Université d'Antananarivo  
 BP 906  
 101 Antananarivo  
 Madagascar  
 03371 15808  
[ritinaval@yahoo.fr](mailto:ritinaval@yahoo.fr)

Objet : lettre d'engagement pour l'allocation de recherche PARRUR 2013

Mesdames, Messieurs,

Je soussignée, ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra, inscrite en thèse à l'Université d'Antananarivo, m'engage à :

- N'utiliser l'allocation de recherche que pourrait m'attribuer le projet PARRUR exclusivement pour mes travaux de recherche ;
- Justifier l'ensemble des dépenses à l'issue du projet ;
- Adresser au financeur un rapport intermédiaire d'activité, 6 mois après le versement de l'allocation ;
- Adresser au financeur un rapport final d'activité à l'issue de la convention ;
- Présenter au financeur un article scientifique formaté pour la revue scientifique Plant Disease (IF : 2.4) ;
- Informer le financeur par courriel de tout changement intervenant dans mon projet de thèse ;
- Présenter le résultat de mon travail lors du regroupement de tous les étudiants financés par ce programme ;
- Faire apparaître les soutiens financiers dans mes publications scientifiques et communications ;
- Faire apparaître les logos des financeurs dans les communications affichées.

Fait à Antananarivo le 23 avril 2013

ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra

## Attestation d'approbation

Prof RATSIMIALA RAMONTA Isabelle  
Département de biologie et écologie végétales  
Facultés des Sciences  
Université d' Antananarivo  
BP 906  
101 Antananarivo  
0340432069  
[ramonta@moov.mg](mailto:ramonta@moov.mg)

A Monsieur le Chef du Projet  
PARRUR

Objet : attestation d'approbation de candidature  
pour l'allocation de recherche PARRUR 2013

Je soussignée, RATSIMIALA RAMONTA Isabelle, Professeur titulaire à l'Université d'Antananarivo, atteste approuver totalement la candidature de l'étudiante en thèse ANDRIAJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra dont je suis le directeur de thèse, à l'allocation de recherche que vous proposez cette année, le sujet étant « Evaluation des potentialités d'utilisation des huiles essentielles de *R. aromatica* et de girofle contre quelques pathogènes et ravageurs post récolte des fruits tropicaux (mangue, ananas, banane) »

Je vous prie de croire, Monsieur, à l'assurance de mes salutations distinguées.

Fait à Antananarivo le 18 Avril 2013, pour servir et valoir ce que de droit.



RATSIMIALA RAMONTA Isabelle



## Projet

### 1. SUJET DE THESE

Les pertes post-récolte en produits agricoles touchent entre 5 et 25% des stocks dans les pays développés et peuvent atteindre près de 50% dans les pays en voie de développement. Les moyens de lutte pour limiter ce problème sont surtout de nature chimique. Or cette protection présente de nombreux défauts : elle est souvent au dessus des moyens financiers des paysans producteurs des pays pauvres, elle présente des risques sanitaires pour le consommateur pas toujours bien évalués, et est souvent dommageable pour l'environnement (1-3). Une solution possible pourrait être le recours à des méthodes de luttés biologiques qui combinent bénéfice agricole, services environnementaux et mise en valeur de la biodiversité (4). Dans ce contexte, l'utilisation des huiles essentielles (HE) dont les propriétés antimicrobiennes sont bien connues (5) peuvent apparaitre comme une solution conciliant efficacité de la préservation, santé des consommateurs, respect de l'environnement et valorisation des produits de biodiversité (6,7).

Ce sont les bases scientifiques de cette approche que nous nous proposons de mettre en place dans un contexte tropical. En effet, la commercialisation à l'échelle locale, au bénéfice des populations pauvres ou à l'échelle internationale pour une consommation dans les pays riches, de nombreux fruits tropicaux est limitée par les possibilités de conservation des fruits pendant le stockage, d'autant qu'ils proviennent souvent de zones chaudes et humides qui favorisent la prolifération microbienne (8).

Le projet de thèse concernera donc la région indianocéanienne, en particulier Madagascar et La Réunion. Les fruits retenus seront la mangue, la banane (qui sont deux fruits climactériques) et l'ananas (non climactérique). Les maladies cibles sont l'antracnose, la fusariose et les mouches des fruits. Les huiles essentielles candidates ont été sélectionnées après un premier screening. Il s'agit des diverses variétés d'huiles essentielles (chémotypes) issues de la distillation des feuilles de *Ravensara aromatica* (arbres endémiques des forêts sempervirentes malgaches) et du girofle (9-11).

L'intitulé de projet de thèse sera donc le suivant « Evaluation des potentialités d'utilisation des huiles essentielles de *R. aromatica* et de girofle contre quelques pathogènes et ravageurs post-récoltes des fruits tropicaux (mangue, ananas, banane) ».

Les questionnements auxquels nous tenterons de répondre dans cette thèse seront donc:

1. Quels sont les principaux pathogènes post-récoltes des fruits et quelle est leur diversité à Madagascar (en ciblant deux contextes écologiques différents : les côtes Est et les hautes terres) ?
2. Quelles sont les HE de ces deux espèces? quelle est leur composition ? quelles sont les déterminants de leur variation ?
3. Quelles sont les actions des HE sur les pathogènes en milieu contrôlés ?
4. Quelles sont les actions des HE sur les pathogènes en condition réelle, quelle est la mode d'application la plus performante ? quels effets sur les fruits ?
5. Quelles molécules ou groupes de molécules sont actives ?

Les retombés écologiques et économiques de cette étude pour Madagascar pourraient être par conséquent énormes vu que les essences que nous cherchons à valoriser sont malgaches et que la valorisation se fera en partie par rapport à des produits de consommation et d'exportation malgaches

et la technologie qui devrait en ressortir sera directement exploitable par les acteurs de la filière agricole et commerciale malgache car ce travail se fait en partenariat avec le CTHT.

### **Matériels & Méthodes**

La mise en œuvre du projet de recherche comporte 5 étapes à réaliser selon le chronogramme présenté en page 11 :

1. Mise au point d'une collection de tous les types d'HE des deux espèces cibles et des pathogènes responsables de principales maladies post-récolte des bananes, mangues et ananas malgaches et réunionnais.
2. L'évaluation de la toxicité in vitro de toutes les HE des deux espèces vis-à-vis des pathogènes de la collection ainsi mise au point. Il s'agit d'un premier screening en fonction de l'inhibition de la croissance radiale des souches fongiques et de l'éclosion des œufs en larves observées.
3. L'établissement des mécanismes d'action des HE les plus performantes (ayant montrés une inhibition >75% dans l'étape précédent). Il s'agit de déduire la comparaison des concentrations minimales toxiques avec celles de leurs composants majeurs, si les propriétés ainsi observées sont spécifiques des HE testées ou si elles peuvent être appliquées à d'autres HE (aux composants analogues).
4. La mise au point d'un traitement post-récolte des maladies identifiées dans l'étape 1 (à partir des doses minimales toxiques précédemment déterminées. Leur efficacité sera évaluée sur les fruits par le développement ou non de symptômes indiquant ces maladies.
5. Elargissement de la technologie ainsi mise aux points à d'autres produits. Il s'agit de produits artisanaux ayant requis moins de transformation que les HE (et donc plus accessibles aux producteurs malgaches), tels les feuilles fraîches ou même les sous produits de l'extraction telles les eaux florales.

### **Résultats attendus**

1. L'étape 1 de l'approche méthodologique devrait permettre d'isoler les souches malgaches et réunionnaises de l'antracnose, de la fusariose et des mouches des trois fruits choisis (mangues, ananas, bananes). Il va aussi permettre de constituer *un stock suffisant de ces pathogènes et des HE* des deux espèces pour la mise au point du produit biologique.
2. De l'étape 2 devrait sortir *les meilleures affinités HE/Pathogène pour la suite de l'étude*. En effet, en fonction de leur effet inhibiteur sur la croissance microbienne et sur l'éclosion des œufs, seules les HE qui entraînent une inhibition supérieure à 75% seront conservées pour l'étape 3.

Chronogramme des travaux ( début 2013- fin 2015)

Activité	lieu	2013				2014				2015			
		T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
(I) Finalisation du projet de thèse (II) Première comité de thèse	DP Forêts et Biodiversité Ambatoba/DR Cirad Ampanirianomby												
Collecte d'HE	Didy, Anjozorobe, Tamatave												
Analyse d'HE	CTHT/IMRA												
Collecte de fruits infectés	Arivonimamo, Majunga et Tamatave												
Isolément et multiplication des souches pathogènes malgaches	Département de Biochimie Fondamentale et Appliquée/Faculté des Sciences/Université d'Antananarivo												
(I) Isolément et multiplication des souches pathogènes réunionnaises (II) Test de toxicité des HE vis-à-vis de la croissance radiale des souches fongiques et l'éclosion des œufs des mouches des mangues (ii) Détermination des concentrations minimales inhibitrices des HE	UMR Qualireg/ CIRAD Réunion												
(II) Test de toxicité des HE vis-à-vis de la croissance radiale des souches fongiques et l'éclosion des œufs des mouches des mangues (iii) Détermination des concentrations minimales inhibitrices des HE	Département de Biochimie Fondamentale et Appliquée/Faculté des Sciences/Université d'Antananarivo												
Comité de thèse	DR Cirad Ampanirianomby												
Isolément des composants des HE et constitution d'un stock en composants majeurs de 500 ml au moins	UMR Qualisud/ Cirad Montpellier (ou université de la Réunion)												
(I) Test de toxicité des HE vis-à-vis de la croissance radiale des souches fongiques et l'éclosion des œufs des mouches des mangues réunionnaises (ii) Détermination des concentrations minimales inhibiteur des mêmes composants majeurs vis-à-vis des pathogènes (iii) Test d'efficacité de formulations inhibitrices ainsi trouvés sur des fruits réunionnais infectées en conservation	UMR Qualireg/ CIRAD Réunion												
(I) Test de toxicité des Composants majeurs des HE vis-à-vis de la croissance radiale des souches fongiques et l'éclosion des œufs des mouches des mangues réunionnaises (ii) Détermination des concentrations minimales inhibiteur des mêmes composants majeurs vis-à-vis des pathogènes (iii) Test d'efficacité de formulations inhibitrices ainsi trouvés sur des fruits réunionnais infectées en conservation	Département de Biologie et Ecologie Végétales/Faculté des Sciences/Université d'Antananarivo												
Comité de thèse	DR Cirad Ampanirianomby												
(II) Etargissement à d'autres HE (i) Etargissement à d'autres produits (eaux florales, feuilles fraîches, feuilles décomposées) (ii) Finalisation du document de thèse	Département de Biologie et Ecologie Végétales/Faculté des Sciences/Université d'Antananarivo UMR Qualireg/ CIRAD Réunion												

La cellule en jaune indique l'état d'avancement de la thèse actuellement, celles en vert sont les activités prévus pour le financement demandé à PARRUR.

3. L'étape 3 servira à établir (i) les doses minimales (d'HE) nécessaires pour inhiber *in vitro* la croissance radiale des pathogènes fongiques et l'éclosion des œufs en larves ; (ii) les différences entre la toxicité des HE et celle de leurs composants (majeurs et mineurs). Si ces doses sont comparables pour les HE et leurs composants, le type chimique des HE ne seront pas un facteur limitant dans la valorisation des HE malgaches contre les maladies post-récoltes des fruits.
4. L'étape 4 de l'approche méthodologique servira à adapter les doses précédemment déterminées en formulations antifongiques et insecticides à partir d'HE de girofle, de *R. aromatica* et d'autres HE aux compositions analogues (ou même des mélanges d'HE). Ces formulations seront utilisées en traitement post-récolte **sur les fruits** pour prévenir les maladies dues aux pathogènes choisis.
5. La dernière étape permettrait de déterminer le mode d'application approprié des HE pour une protection maximale des fruits durant leur transport ou en attendant leur consommation.

## 2. RECHERCHE -ACTION

### *Nature et description des travaux engagés dans le cadre de ce financement*

Dans le grand cadre de cette thèse, les points proposés au soutien PARRUR sont :

1. La mise au point d'une collection de tous les types d'HE des deux espèces cibles, la composition de ces HE seront ensuite confirmés par GC à l'IMRA pour *R. aromatica* et au CHTT pour le girofle :
  - A ce stade, l'HE de *R. aromatica* existe sous forme de 5 chémotypes, dont le type Methyl chavicol, le type Methyl eugénol, le type Sabinène, le type Limonène et le type  $\alpha$ -Terpinène. Dans la mesure où ce dernier est totalement indisponible, nous le remplacerons par un nouveau chémotype à mélange terpénique.
  - Le terme chémotype ne peut être appliqué aux HE de girofle mais comme la composition de son HE varie en fonction de l'organe-source (les clous, les griffes et les feuilles dont la composition varie grandement en fonction de l'âge), 5 types d'HE est aussi à collecter, i.e. HE de clou, HE de griffes, HE de jeune feuilles et HE de feuilles matures.
2. L'isolation des souches pathogènes à partir des fruits malgaches et réunionnais, qu'ils s'agissent de champignons ou de mouches parasites, ainsi que leur multiplication et conservation dans une collection :
  - Nous focaliserons surtout sur l'antracnose des mangues, des bananes, les tâches noires de l'ananas et les mouches des fruits (les mangues en l'occurrence) dont les responsables sont respectivement *Colletotrichum musae*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium ananatum*, *F. guttiforme* et *Bactrocera zonata*.

- L'échantillonnage couvrira une aire de répartition sur les côtes et une autre sur les hautes terres. En effet, les souches de pathogènes responsables de ces trois maladies post-récolte pourraient varier selon que les fruits sont stockés sur l'une ou l'autre de ces deux zones écologiques totalement différentes.
  - Les souches pathogènes seront isolées à partir de fruits infectées, puis purifiées avec l'aide d'une antibiotique (le chloramphénicol) et enfin conservées par repiquages successifs sur des milieux solides jusqu'à utilisation afin d'assurer la vigueur de chaque colonie. Nous aurons recours à la méthode de culture sur milieu solide (gélose).
3. Screening des pathogènes et des HE : le but étant d'identifier les HE les plus performantes ie celles dotée d'une toxicité à larges spectres vis-à-vis de nos pathogènes
- Ainsi les souches malgaches de *Colletotrichum musae*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium ananatum*, *F. guttiforme* et *Bactrocera zonata* seront mises en culture ou conservées dans une atmosphère confinée et chargée avec toutes nos HE. Les HE qui causeront une inhibition de la croissance radiale des champignons et une inhibition de l'éclosion des œufs en larves >75% seront retenus.

#### *Résultats attendus et calendrier prévisionnel*

Ces travaux devraient permettre d'avoir à disposition:

- un stock suffisant (500ml par type) de chaque type d'HE dont la composition sera connu
- une collection des pathogènes (champignon ou mouche parasites) post-récolte infectant les mangues, ananas et banane malgaches.

Elle va aussi permettre d'orienter le choix des HE et pathogènes à tester pour les investigations plus poussées nécessaires à la mise au point du « traitement post-récolte à larges spectre d'utilisation » recherché par ce projet de thèse.

Notre projet de thèse s'intègre parfaitement dans le cadre du concept « développement durable combiné à la valorisation de la biodiversité présente à Madagascar », elle est entreprise par des spécialistes couvrant tous les aspects de la question « valorisation des HE dans le traitement post-récolte des maladies des fruits tropicaux » (cf. publication de l'équipe encadrante et du doctorant de 2009-2013 ainsi que la composition du comité de thèse : p. 2,3). Elle devrait avoir un impact notable dans la vie économique des paysans malgache mais aussi du pays, due à sa portée économique mais aussi à son applicabilité immédiate.

Par ailleurs, notre programme d'utilisation des fonds alloué par PARRUR entre aussi parfaitement dans l'axe recherché par l'appel d'offre. Les activités prévues se feront strictement à Madagascar. Elle passera par une collaboration avec des institutions malgaches et sont réalisable pendant un an.

Nous demandons une somme de **3870000** Ariary que nous projetons d'utiliser selon le programme de dépense suivant :

**Budget de dépenses pour PARRUR 2013 (ANDRIANJAFINANDRASANA Soloniony Navalonamanitra)**

Intitulé		Prix (Ariary)	Date Prévue
<b>Matériels</b>	Consommables	100000	Jan-Juin 2013
	Produits et milieux de culture	400000	
	Verreries	60000	
<b>Collection de pathogènes et de parasites</b>	Collecte des fruits infectés (sur les côtes et les hautes terres malgaches)	1300000	Mai- Sept 2013
	Extraction et mise en culture des souches fongiques	1000000	Juin 2013- Mars 2014
	Extraction et multiplication des mouches des mangues		Nov. 2013- Mars 2014
<b>Collecte d'HE</b>	<i>Ravensara aromatica</i>	550000	Jan-Aout 2013
	<i>Eugenia caryophylla</i>	80000	
<b>Analyse des HE</b>	<i>Ravensara aromatica</i>	200000	Juin- Aout 2013
	<i>Eugenia caryophylla</i>	80000	
<b>Screening des HE et des pathogènes</b>	<i>Mesure de la toxicité des HE vis-à-vis des pathogènes</i>	100000	Déc. 2013-Juin 2014
<b>Total (Ariary)</b>		<b>3870000</b>	

Il s'agit surtout de dépenses liées à:

- des missions sur terrains pour la collecte d'HE et de fruits infectés, plus précisément, des frais de collecte, frais de déplacement, per diem, frais de conservation des échantillons.
- des analyses en laboratoires (composition des HE puis isolation, mises en culture et identification des pathogènes et les premiers tests de toxicité) à savoir, des frais de paillasse, coûts d'analyse des HE, achats de produits, verreries, milieux de cultures et consommables.



## Références bibliographiques

1. Molinillo MG, Varela RM, Galindo JCG and Mac FA. (2007). Allelopathy – a natural alternative for weed control. *Pest Management Science*; 63:327–48.
2. Dayan FE, Cantrell CL and Duke SO. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*; 17:4022–34.
3. Reigart JR, Roberts J R and USEPA. (1999). Recognition and management of pesticide poisonings. Washington DC, US Environmental Protection Agency eds. 238 p.
4. Ratnadass A, Fernandes P, Avelino J and Habib R. (2011). Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems: a review. *Agronomy for Sustainable Development*; 32: 273–303.
5. Burt SA. (2004). Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food. *International Journal of Microbiology*; 94:223–53.
6. Parolin P, Bresch C, Desneux N, Brun R, Bout A, Boll R and Poncet C. (2012). Pest Management Secondary plants used in biological control: A review. *International Journal of Pest Management*; 58:91–100.
7. Isman MB. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*; 19:603–8.
8. Asian Productivity Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations. Postharvest Management of Fruit and Vegetables in the Asia-Pacific Region. 2006. p. 312.
9. Andrianoelisoa HS, Menut C, De Chatelperron PC, Ramanoelina P and Danthu P. (2006). Intraspecific chemical variability and highlighting of chemotypes of leaf essential oils from *Ravensara aromatica* Sonnerat , a tree endemic to Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*; (May):833–8.
10. Andrianoelisoa HS, Menut C, Ramanoelina P, Raobelison F, De Chatelperron PC and Danthu P. (2010). Chemical Composition of Essential Oils From Bark and Leaves of Individual Trees of *Ravensara aromatica* Sonnerat. *Journal of Essential Oil Research*; 22:66–70.
11. Razafimamonjison G, Jahiel M, Duclos T, Ramanoelina P, Fawbush F and Danthu P. (2013). Bud, leaf and stem essential oil composition of clove ( *Syzygium aromaticum* L .) from Indonesia , Madagascar and Zanzibar. *Natural Product Communications*. (soumis).