



ISSN: 2230-9926

Available online at <http://www.journalijdr.com>

IJDR

International Journal of Development Research

Vol. 11, Issue, 11, pp. 51506-51511, November, 2021

<https://doi.org/10.37118/ijdr.23238.11.2021>



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE OCIMUM BASILICUM, CYMBOPOGON CITRATUS, EUCALYPTUS CAMALDULENSIS

DOUMBOUYA Mohamed^{1*}, BROU Kouassi Guy¹, ESSIS Brice Sidoine², DIBY Konan Evrard Brice², OYUROU Gita Martial¹, KONE Daouda^{3,4}

¹Département de Biologie Végétale; Unité de Formation et de Recherche des Sciences Biologiques; Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Côte d'Ivoire ; ²Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Programme Plantes à Racines et Tubercules (PRT), Station de Recherche sur les Cultures Vivrières (SRCV), Bouaké, Côte d'Ivoire ; ³Département de Physiologie Végétale; Unité de Formation et de Recherche Biosciences; Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY, 22 BP 582, Abidjan 22, Côte d'Ivoire ; ⁴Centre d'Excellence Africain sur les Changements Climatiques, la Biodiversité et l'Agriculture Durable

ARTICLE INFO

Article History:

Received 20th August, 2021

Received in revised form

11th September, 2021

Accepted 14th October, 2021

Published online 23rd November, 2021

Key Words:

Patate douce, Champignons pathogènes, Huile essentielle, Activité antifongique, Pourriture.

*Corresponding author:

DOUMBOUYA Mohamed

ABSTRACT

Le but de cette étude est d'évaluer l'efficacité des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Ocimum basilicum* et *Lippia multiflora* contre trois pathogènes fongiques isolés des tubercules de patate douce. Ces huiles essentielles ont totalement inhibé la croissance de *Ceratocystis fimbriata* à 2000 ppm. Sur *Macrophomina phaseolina* le Banko plus à 250 ppm et *Cymbopogon citratus* à 4000 ppm ont totalement inhibé la croissance du champignon. L'inhibition de *Pythium ultimum* a été induite par *Ocimum basilicum* à 2000 ppm. Le test de pathogénicité révèle que la période d'incubation est de 19 jours pour *Ceratocystis fimbriata*, 13 jours pour *Macrophomina phaseolina* et 12 jours pour *Pythium ultimum*. Des plants de patate douce traités avec l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*, à 4000 ppm, les souches fongiques *Ceratocystis fimbriata* et *Macrophomina phaseolina*, réisolées aux taux respectifs de 68,89 % et 91,11 % des plants inoculés et non traités n'ont pas été réisolées. Le taux de réisolement de *Pythium ultimum* est passé de 75,55 % à 11,11 % au niveau des racines des plants inoculés et traités. L'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* pourraient ainsi constituer une solution alternative contre des agents en cause dans les pourritures racinaires et de tubercules de patate douce.

Copyright © 2021, DOUMBOUYA Mohamed et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: DOUMBOUYA Mohamed, BROU Kouassi Guy, ESSIS Brice Sidoine, DIBY Konan Evrard Brice, OYUROU Gita Martial, KONE Daouda. "Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de ocimum basilicum, cymbopogon citratus, eucalyptus camaldulensis", *International Journal of Development Research*, 11, (11), 51506-51511.

INTRODUCTION

La patate douce (*Ipomoea batatas* L.) est une plante qui présente une grande importance économique dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées (Sihachar et al., 1997). Elle est la septième culture la plus importante dans le monde. Dans les pays tropicaux, elle occupe la seconde place parmi les plantes à racines et tubercules après le manioc (Faostat, 2018). En Côte d'Ivoire, la patate douce constitue une source de revenu additionnel pour de nombreuses populations. Elle a une production annuelle, autoconsommée, d'environ 50 000 tonnes (Brou et al., 2005). Il s'agit d'une des denrées les plus consommées dans la zone nord ivoirienne. Durant la période de disette qui a suivi la crise politico-militaire ivoirienne de 2002, elle a assuré en majeure partie l'alimentation des populations du centre et du nord. La patate douce présente des capacités d'adaptation climatique et édaphique remarquable. Plusieurs variétés ont des propriétés nutritionnelles intéressantes aussi bien de leurs feuilles que de leurs racines tubéreuses.

Cette plante a ainsi, des atouts majeurs pour contribuer à relever le défi de la sécurité alimentaire. Toutefois, le niveau de production demeure, faible en côte d'Ivoire. Les maladies parasitaires des racines constituent l'une des contraintes majeures de production. Plusieurs agents phytopathogènes dont essentiellement les champignons peuvent réduire les potentiels de production de la patate douce de plus de 70 % depuis les champs jusqu'au stockage (Lenteren, 2012). Pour remédier à cette contrainte, la lutte chimique semble être le moyen le plus efficace. Elle permet de contrôler les parasites fongiques au champ et en stock. Cependant, elle présente de nombreux inconvénients sur l'environnement, la santé des opérateurs et des consommateurs. L'utilisation judicieuse de pesticides naturels issus des plantes locales se présente comme une alternative intéressante pour protéger les cultures, l'environnement et les organismes vivants (Amadioha, 2000; Iftikhar et al., 2010). Ces pesticides naturels, telles que les huiles essentielles ont donné des résultats probants (Uddin et al., 2010; Katooli et al., 2011). La présente étude est une investigation sur l'activité antifongique des huiles essentielles de

certaines plantes dans une stratégie d'alternance aux produits chimiques. Il s'agira d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Ocimum basilicum* et *Lippia multiflora* contre des pathogènes fongiques associés à la pourriture de la patate douce.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal et souches fongiques: Les études ont porté sur des tubercules de patate douce (*Ipomoea batatas* (L.) Lamarck, 1793) présentant des symptômes caractéristiques d'attaque de champignons et des tubercules asymptomatiques. Il s'agit de tubercules à épiderme beige, à chair blanche et à chair jaune, obtenus en post-récolte avec des producteurs du village de Dorkaha qui constitue la plus grande zone de production patate douce dans le département de Korhogo (au nord de la Côte d'Ivoire). Les tubercules présentant des pourritures ont été utilisés pour l'isolement des champignons associés et ceux apparemment sains ont été utilisés pour le test de pathogénicité. Les espèces de champignons *Pythium ultimum*, *Macrophomina phaseolina* et *Ceratocystis fimbriata* ont ainsi été isolées des tubercules présentant des symptômes caractéristiques d'attaques de ces champignons. La variété de patate douce utilisée lors du test d'évaluation, *in vivo*, de l'activité antifongique des souches fongiques, a été la variété Irène (Dibi et al., 2020). Il s'agit d'une variété introduite à partir du Centre International pour la Pomme de terre et la patate douce (CIP). Les boutures de cette variété ont été obtenues auprès de la Station de Recherche sur les Cultures Vivrières (SRCV) du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA ; Côte d'Ivoire).

Huiles essentielles et produits de synthèse: Les huiles essentielles utilisées dans l'étude ont été extraites à partir des espèces végétales de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Ocimum basilicum* et *Lippia multiflora*. Elles ont été fournies par l'Unité de Recherche Industrielle (URI) sur les biopesticides de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY. Le fongicide de synthèse Banko Plus, association de deux matières actives dont le Chlorothalonil (550 g/l) appartenant à la famille des dérivés phtaliques, utilisé en prévention et agissant par contact et le Carbendazime (100 g/l) appartenant à la famille des Benzimidazoles, utilisé comme curatif et agissant par systémique (Doubouya et al., 2012).

MÉTHODES

Isolement, purification et identification des champignons associés aux pourritures de tubercules d'igname: Le protocole a consisté à prélever des fragments à partir du front de croissance des pourritures, après rafraîchissement des surfaces infestées (Davet et Rouxel, 1997). Les fragments prélevés après avoir été désinfectés, pendant 3 minutes, avec une solution d'hypochlorite de sodium à 12° Chl diluée à 8 %, ont été rincés trois (3) fois successivement dans de l'eau distillée stérile pendant 3 minutes. Ils ont ensuite été déposés entre deux feuilles de papier buvard stérile afin d'éliminer l'excès d'eau dans les tissus. Ces fragments ont enfin été ensemencés, en boîte de pétri, sur le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar ; 39 g : 1000 ml d'eau distillée) additionné d'un antibiotique, le chloramphénicol (50 mg : 1000 ml), afin d'éviter la prolifération de bactéries. Les boîtes de pétri ensemencées, scellées et étiquetées, ont été mises en incubation pendant 48 à 72 heures à la température ambiante du laboratoire (28 ± 2 °C). Les champignons germés à partir des explants ensemencés ont été purifiés. Pour ce faire, un fragment mycélien a été prélevé à partir du front de croissance de chaque colonie puis placés sur un nouveau milieu de culture PDA. Les champignons purifiés ont été identifiés sur la base des caractères culturels sur milieu de culture PDA, morphologique et microscopique tel que l'aspect, la couleur du thalle mycélien et des spores (Botton et al., 1990 ; Messiaen et al., 1991 ; Blancard, 2010). Les observations ont été faites au microscope optique de type "Motic". Pour chaque souche fongique étudiée, le Postulat de Koch a été vérifié.

Test *in vitro* de l'activité antifongique des huiles essentielles et du produit de synthèse: L'activité antifongique comparée des huiles essentielles et du produit de synthèse Banko plus a été effectuée sur le milieu solide gélosé PDA. Les produits ont été testés aux concentrations de 250, 500, 1000, 2000 et 4000 ppm (Oxenham et al., 2005; Doubouya et al., 2012). Les huiles essentielles ont été dispersées dans le milieu grâce au mélange avec du DMSO (rôle de tensioactif) dont l'effet a été préalablement testé afin de s'assurer de son innocuité vis-à-vis des agents pathogènes. Les concentrations d'huiles essentielles ont ainsi été préparées à partir d'une solution mère de 6 ml (1ml de DMSO dans 5 ml d'huile essentielle). Le fongicide de synthèse Banko Plus a été dilué dans de l'eau distillée stérile pour obtenir une solution mère de 10 000 ppm, à partir de laquelle les différentes concentrations ont été obtenues par dilution (Doubouya et al., 2012). Les produits ont été incorporés aseptiquement, dans l'objectif de concentration, au milieu de culture PDA maintenu en surfusion à 40 à 45 °C, puis coulés en boîte de Pétri. Après solidification, un disque mycélien de 5 mm de diamètre a été prélevé à partir du front de croissance des cultures fongiques, âgées de 7 jours, puis placé au centre du milieu de culture additionné ou non de produits. Ces boîtes ont été incubées en condition photopériodique à 27 ± 2°C. La croissance radiale mycélienne a été mesurée en centimètre suivant deux directions perpendiculaires au revers des boîtes de Pétri, afin d'évaluer l'effet antifongique des produits. Les mesures ont été prises sur 4 jours. Cinq répétitions par traitement élémentaire ont été réalisées et l'expérience entière a été répétée deux fois. La moyenne de ces mesures a permis ainsi de calculer le pourcentage d'inhibition de la croissance fongique par rapport au témoin selon la formule suivante (Boungab et al., 2014):

Ic (%) : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

D : Diamètre de croissance mycélienne dans un milieu sans l'huile essentielle (témoin).

Di : Diamètre de croissance mycélienne en présence de l'huile essentielle

Test de pathogénicité: Le test de pathogénicité a été réalisé avec les souches fongiques *Ceratocystis fimbriata*, *Macrophomina phaseolina* et *Pythium ultimum*, inoculés à des tubercules de patate douce apparemment sains. Ces tubercules, rincés à l'eau de robinet et mis en incubation pendant une semaine, ont subi des séries d'observation afin de vérifier s'ils présenteront ou pas des signes d'infection. Ils ont ensuite été désinfectés par trois trempage de 5 min dans une solution d'hypochlorite de sodium à 4 %. Après trois (3) rinçages avec de l'eau distillée stérile, ils ont été séchés dans du papier buvard stérile. Les techniques d'inoculation brutale et douce ont été utilisées. L'inoculation brutale a porté sur un échantillon de dix (10) tubercules repartit en 2 lots de cinq (5) tubercules pour une souche donnée. Un (1) lot a été inoculé selon la technique utilisée par Kouamé et al. (2011) et le lot restant a servi de témoin. Ainsi, chaque tubercule a été divisé en 2 zones. A l'aide d'une aiguille fine stérile et en condition aseptique, 5 petites blessures de 0.66 mm de diamètre sur 5 mm d'épaisseur ont été effectuées, sur chaque tubercule, à raison de 2 par zone et une sur la ligne médiane. Des rondelles de 5 mm de mycélium de cultures fongiques de 7 jours ont été appliquées sur les blessures. Les points d'inoculation ont été couverts avec du papier buvard stérile et aspergé d'eau distillée stérile. Les blessures des tubercules témoins ont été couvertes de papier buvard stérile sans inoculum. L'inoculation douce a porté également sur un échantillon de 6 tubercules repartit en 2 lots de 3 tubercules. A l'aide d'un stylo feutre, 5 petits cercles, régulièrement espacés ont été effectués, à raison de 2 par zone et 1 sur la ligne médiane. Ensuite, des rondelles de mycélium de 5 mm ont été appliquées sur les cercles de chaque tubercule. Les points d'inoculation ont été ensuite couverts avec du papier buvard stérile. Les échantillons témoin ont subi le même traitement que les essais mais n'ont pas reçu d'inoculum. Les tubercules ont été mis en incubation dans des bacs en conditions photopériodiques de 12 h, à la température de 27 ± 2°C et une hygrométrie de 58 ± 4 %. Trois (3) jours après l'inoculation, les morceaux de papier buvard ont été ôtés et les tubercules quotidiennement observés pendant trois (3) semaines. L'expérimentation a été réalisée deux (2) fois.

La collecte de données a porté sur les dates d'apparition des premiers symptômes afin de calculer la période d'incubation (PI).

PI (jour) = date d'observation des 1er symptômes – date d'inoculation
Après trois semaines d'incubation, les tubercules ont été fendues et la caractérisation des symptômes a portée sur la couleur du tissu interne et externe ainsi que l'odeur de la partie infectée.

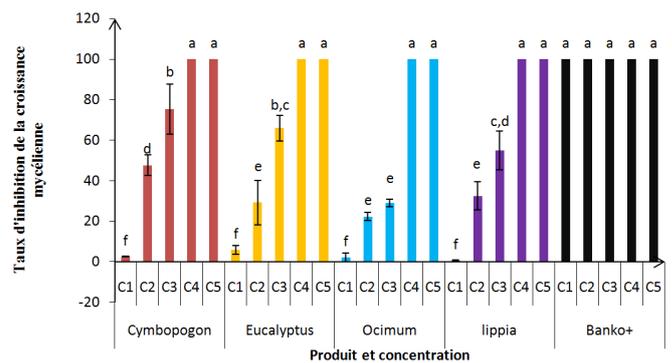
Evaluation in vivo de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*: Il s'agit d'évaluer l'effet de l'huile essentielle de *C. citratus* et du fongicide de synthèse Banko plus sur la virulence des champignons pathogènes, sous serre. Le substrat de repiquage est un mélange de sol de culture et de terreau stérilisé dans la proportion 2/1. Le substrat ainsi mélangé et stérilisé est distribué dans les pots de 1 L, percé à la base afin de permettre le drainage. Quarante-deux (42) pots ont été utilisés en raison de 6 pots par souche fongique et 6 pots témoins (positif et négatif). Les champignons ont été inoculés au substrat de culture contenus dans les pots en raison de 10 rondelles mycéliens de 5 mm par pot pour une souche donnée. Ce substrat inoculé a été arrosés avec de l'eau de puits stérilisée pendant trois jours avant la mise en terre des boutures de patate douce. Les boutures les plus vigoureuses ont été sélectionnées et sectionnées en raison de 5 nœuds par bouture. Le repiquage a lieu tôt le matin après avoir arrosé le substrat de culture. Une bouture est repiquée dans chaque pot. Pour chaque bouture, deux nœuds sur cinq ont été mis en terre. L'huile essentielle et le fongicide de synthèse ont été appliqués, à 4000 ppm, le deuxième et le quatorzième jour après repiquage. La bouillie du fongicide biologique a été obtenue en additionnant 400 µl HE dans 1 ml de DMSO pour 99 ml d'eau de puit stérilisée. Le traitement a consisté à pulvériser, de part et d'autre de l'extrémité jusqu'au niveau de la zone de repiquage, 3 ml du produit sur chaque bouture. Les témoins constitués de boutures inoculées et non traitées ont été pulvérisés avec 3 ml d'eau de puit stérilisée. L'expérience a été réalisée trois fois. Après 45 jours de conduite de la culture sous serre, l'efficacité des produits a été évaluée en vérifiant, selon le traitement, la présence ou non des différentes souches fongiques dans les tissus des plants de patate douce. Des échantillons ont été prélevés à partir des racines des plants de patate douce selon le traitement. Ces échantillons, après désinfection, ont été ensemencés sur milieu de culture PDA et mis en incubation en condition photopériodique à la température ambiante du laboratoire. Les boîtes de pétri, ensemencées, ont été observées chaque jour durant une (1) semaine afin d'observer et repiquer, sur du nouveaux milieu PDA, d'éventuelles proliférations fongiques.

Traitement et analyse des données: Toutes les données relevées ont été traitées avec le logiciel « Statistica7.0 » en tenant compte des traitements et des caractères étudiés. Le test de Newman et Keuls au seuil de probabilité de 5 % a été utilisé pour classer les différentes moyennes après les analyses de variances.

RESULTATS

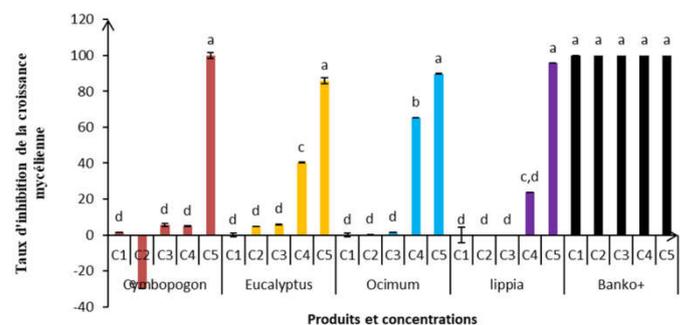
Activité antifongique des huiles essentielles: La Figure 1 illustre le taux d'inhibition des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Ocimum basilicum*, *Lippia multiflora* et le fongicide de synthèse (Banko plus) sur la croissance mycélienne de *Ceratocystis fimbriata*. Les résultats de l'analyse des données des taux d'inhibition indiquent que les quatre huiles essentielles inhibent totalement (100 %) la croissance du champignon *Ceratocystis fimbriata* à 2000 et 4000 ppm. Tandis que le fongicide de synthèse (Banko plus) a induit une inhibition totale à la plus faible concentration testée (250 ppm) sur ce champignon. Aux concentrations de 250, 500 et 1000 ppm, les huiles essentielles ont induit une inhibition partielle de la croissance mycélienne du champignon. Des huiles essentielles, celle de *C. citratus* a induit la meilleure efficacité avec presque 50 % (47,65 %) d'inhibition de la croissance mycélienne du champignon à 500 ppm. Les résultats des activités antifongiques des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Ocimum basilicum*, *Lippia multiflora* et le fongicide de synthèse (Banko plus) sur *Macrophomina phaseolina* sont illustrés à la figure 2. Le fongicide de

synthèse a inhibé la croissance mycélienne de *M. phaseolina* à la plus faible concentration testées (250 ppm).



Les histogrammes affectés de la même lettre alphabétique ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% (test de Newman-Keuls). C1 :250 ppm ; C2 : 500 ppm ; C3 : 1000 ppm ; C4 : 2000 ppm ; C5 : 4000 ppm.

Figure 1. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Ceratocystis fimbriata* en fonction du produit et de la concentration



Les histogrammes affectés de la même lettre alphabétique ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% (test de Newman-Keuls). C1 :250 ppm ; C2 : 500 ppm ; C3 : 1000 ppm ; C4 : 2000 ppm ; C5 : 4000 ppm.

Figure 2. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Macrophomina phaseolina* en fonction du produit et de la concentration

L'huile essentielle de *C. citratus* a totalement inhibé la croissance mycélienne du champignon à la concentration de 4000 ppm. Les huiles essentielles de *E. camaldulensis*, *O. basilicum* et *L. multiflora* ont relativement inhibé cette croissance mycélienne avec des taux d'inhibition respectives de 85, 90 et 95 % à 4000 ppm. La Figure 3 traduit l'activité des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Pythium ultimum*. Sur ce champignon, l'huile essentielle de *O. basilicum* a présenté une activité inhibitrice totale (100 %) de la croissance mycélienne à la concentration de 2000 ppm. Le fongicide de synthèse (Banko plus) et l'huile essentielle de *E. camaldulensis* ont induit cette inhibition totale à la concentration de 4000 ppm. A cette même concentration, l'huile essentielle de *Lippia multiflora* a réduit de 95 % la croissance mycélienne du champignon. La plus forte activité inhibitrice de l'huile essentielle de *C. citratus* sur la croissance mycélienne de *Pythium ultimum* s'est traduit par une réduction de 85 % à 4000 ppm.

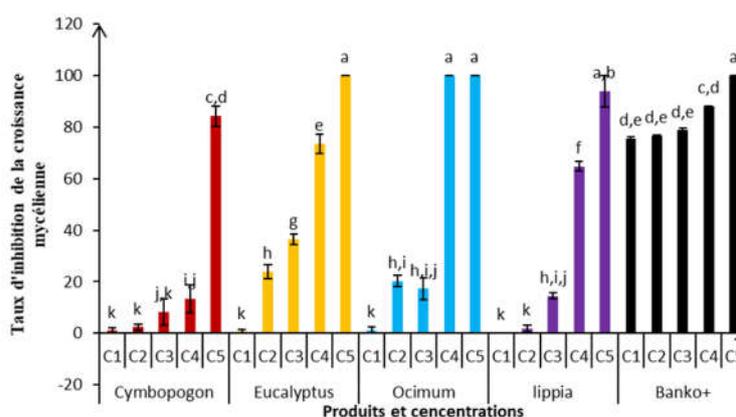
Test de pathogénicité: Deux paramètres ont été pris en compte dans ce test, à savoir la période d'incubation et la caractérisation des symptômes. La période d'incubation de *C. fimbriata* a été de 19 jours sur les tubercules de patate douce. La souche de *M. phaseolina* a présenté une période d'incubation de 13 jours et celle de *P. ultimum*, a été de 12 jours, qu'il s'agisse de la variété à chair blanche ou jaune (Tableau 1). Quel que soit la souche fongique, l'inoculation par la méthode douce n'a induit aucun symptôme durant la période d'expérimentation. Les symptômes de *C. fimbriata* se caractérisent par une couleur verdâtre des tissus internes, avec présence de zones noires brillantes (Figure 4a).

Tableau 1. Période d'incubation des souches *C. fimbriata*, *M. phaseolina* et *P. ultimum* sur deux variétés de patate douce suivant les méthodes d'inoculation brutale et d'inoculation douce

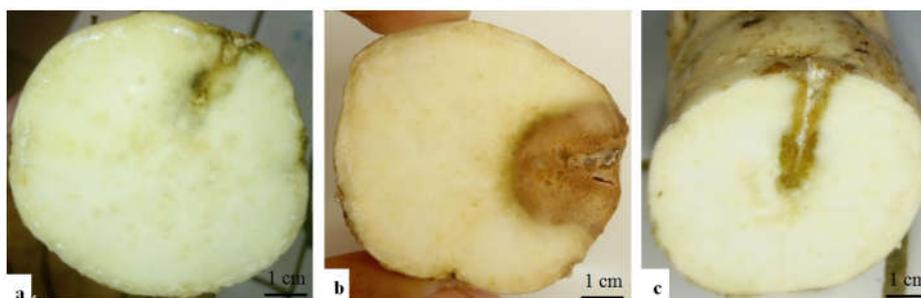
Souche fongique	Méthode d'inoculation	Période d'incubation (jour) /variété de patate	
		Chair jaune	Chair blanche
<i>C. fimbriata</i>	Brutale (IB)	19	19
	Douce (ID)	--	--
<i>M. phaseolina</i>	Brutale (IB)	13	13
	Douce (ID)	--	--
<i>P. ultimum</i>	Brutale (IB)	12	12
	Douce (ID)	--	--

Tableau 2. Taux de réisolement des souches *C. fimbriata*, *M. phaseolina* et *P. ultimum* à partir des explants racinaires de la variété Irène de patate douce inoculée en serre

Souche fongique	Plants inoculés et traités		Taux de réisolement (%)
	Banko plus	<i>Cymbopogon citratus</i>	Plants inoculés et non traités
<i>C. fimbriata</i>	00	00,00 a	68,89 a
<i>M. phaseolina</i>	00	00,00 a	91,11 b
<i>P. ultimum</i>	00	11,11 b	75,55 a



Les histogrammes affectés de la même lettre alphabétique ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% (test de Newman-Keuls). C1 :250 ppm ; C2 : 500 ppm ; C3 : 1000 ppm ; C4 : 2000 ppm ; C5 : 4000 ppm

Figure 3. Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Pythium ultimum* en fonction du produit et de la concentrationFigure 4. Symptôme de pourriture causée par *Ceratocystis fimbriata* (a), *Macrophomina phaseolina* (b) et *Pythium ultimum* (c) au niveau du tissu interne de tubercule de patate douce

L'observation des symptômes d'attaque de *M. phaseolina* indique la présence de pourriture de couleur brune à brun noirâtre (Figure 4b) avec une odeur forte des tissus externe et interne des tubercules. L'activité pathogénique de *P. ultimum* est caractérisés par la présence de nécrose de couleur brun-rouille qui évolue progressivement dans les tissus interne du tubercule (Figure 4c).

Activité antifongique in vivo de l'huiles essentielle de *Cymbopogon citratus* : L'analyse au laboratoire des explants racinaires issue des plants de patate douce, traités et non traité, après 45 jours de culture sous serre issu du substrat inoculé a permis d'évaluer l'effet de l'huile essentielle de *C. citratus* sur le pouvoir pathogène de *P. ultimum*, *C. fimbriata* et *M. phaseolina*. Le tableau 2 présente les taux de réisolement des souches fongiques à partir des explants racinaires de plant de patate douce inoculée. L'espèce *C. fimbriata* a seulement été

réisolée des plants inoculés et non traités (68,89 %) et non de ceux inoculés et traité à l'huile essentielle de *C. citratus*. L'espèce *M. phaseolina* réisolé à 91,11 % des racines des plants inoculés et non traités, n'a pas été réisolé des plants inoculés et traités à l'huile essentielle. Le taux de réisolement de *P. ultimum*, à partir des racines des plants inoculés et non traités, est passé de 75,55 % à 11,11 % au niveau des racines des plants inoculés et traités à l'huile essentielle de *C. citratus*. L'application du fongicide de synthèse Banko plus a inhibé la prolifération de toutes les souches fongiques au niveau des racines des plants inoculés.

DISCUSSION

Les huiles essentielles étudiées ont présenté une action inhibitrice sur la croissance mycélienne de *Pythium ultimum*, *Ceratocystis fimbriata*

et *Macrophomina phaseolina*. L'efficacité des huiles essentielles sur le développement de ces microorganismes varie en fonction des concentrations. La concentration minimale ayant totalement inhibée la croissance mycélienne de *Ceratocystis fimbriata* a été de 2000 ppm pour les huiles essentielles de *Ocimum basilicum*, *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis* et *Lippia multiflora*. Sur *Macrophomina phaseolina*, l'huile essentielle la plus efficace est celle de *Cymbopogon citratus*, avec une concentration minimale inhibitrice de 4000 ppm. Nos résultats corroborent d'autres travaux sur le pouvoir antifongique des huiles essentielles de *C. citratus* et *L. multiflora*. En effet, Paranagama *et al.* (2003) ont montré que le riz traité avec l'huile essentielle de citronnelle est protégé contre les champignons et les insectes destructeurs en stockage. Tiendrebeogo *et al.* (2017) estime que l'huile essentielle de *L. multiflora* inhibe totalement la croissance mycélienne de *Fusarium moniliforme* même à 100 ppm et réduit totalement la croissance de *Bipolaris oryzae* et de *Pyricularia oryzae* à 400 et 600 ppm. Abdellah *et al.* (2001) a également montré l'efficacité de l'huile essentielles de *E. camaldulensis* sur la croissance des bactéries *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. A 2000 ppm, L'huile essentielle de *Ocimum basilicum* a induit une inhibition totale de la croissance mycélienne de *Pythium ultimum*. Ces résultats se rapprochent de ceux de Edris et Farrag (2003) qui ont constaté que la vapeur de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* et de son composé majoritaire, le linalol, peuvent inhiber la croissance de *Mucor* sp. et *Rhizopus stolonifer* en fonction des doses. Aussi Awuah et Ellis (2001) ont montré l'efficacité de la poudre de feuilles de *Ocimum basilicum* dans la protection des stocks d'arachide contre *Aspergillus parasiticus* et les contaminants des stocks.

Selon Dabire (2004), l'huile essentielle de *Eucalyptus* sp. a un effet moyen sur la réduction des indices d'infection des champignons *Phoma sorghina* et *Curvularia* spp. ; par contre, l'huile essentielle de Citronnelle a des effets très significatifs sur la réduction des indices d'infection des semences par ces champignons. De plus, Kaboré *et al.* (2007) ont constaté que les huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus* et *Ocimum basilicum* pouvaient inhiber à 100 % la croissance mycélienne de *Bipolaris oryzae*, et *Fusarium moniliforme*. Les différents taux d'inhibition observés permettent de suggérer que les différentes huiles essentielles présentent des activités antifongiques intéressantes sur les souches fongiques associées aux pourritures des tubercules de patate douce. De façon générale, les souches fongiques ont présenté une sensibilité à une augmentation des doses testées, se traduisant par une augmentation progressive du pourcentage d'inhibition. Cette action inhibitrice serait donc « dose dépendante ». L'efficacité de ces huiles pourrait s'expliquer par leur propriété antifongique qui leur permettrait d'arrêter ou de ralentir la production mycélienne des champignons. Selon Kalemba et Kunicka (2003), les constituants des huiles essentielles tels que les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes confèrent aux huiles essentielles des propriétés antibactériennes et antifongiques.

Les résultats du test de pathogénicité montrent que le temps nécessaire à l'apparition des premiers symptômes sur les tubercules après inoculation par la méthode brutale varie en fonction des champignons pathogènes. Ainsi pour *Ceratocystis fimbriata* la période d'incubation est de 19 jours. Elle est de 13 jours pour *Macrophomina phaseolina* et de 12 jours pour *Pythium ultimum*. Ces résultats sont proches de ceux de Kaboré *et al.* (2007) qui ont évalué la période d'incubation de *Macrophomina phaseolina* à 11 jours dans ses travaux portant sur l'effet de microdosage de la fumure organominérale sur la dynamique de la pourriture charbonneuse du niébé. Par contre, nos résultats sont distincts de ceux de Saumon *et al.* (1984). En effet, dans leurs travaux sur le dessèchement précoce des tournesols et le dynamisme de la colonisation des plantes par les champignons du sol, ils évaluent la période d'incubation de *Macrophomina phaseolina* à trois semaines (21 jours) et celle de *Pythium* sp. à environ 80 jours. Aussi, Seassau (2010) dans ses recherches sur l'étiologie du syndrome de dessèchement précoce du tournesol, estime que la période d'incubation de *M. phaseolina* est de 31 jours sur les collets des plants. Besnard et Davet (1993) ont évalué la période d'incubation de *Pythium ultimum* à 9 jours dans leurs

recherches sur la mise en évidence de souches de *Trichoderma* spp. à la fois antagonistes de *Pythium ultimum* et stimulatrices de la croissance des plantes. Les symptômes présentés par la souche de *C. fimbriata* sur les tubercules de la patate douce par la méthode brutale concordent avec la description faite par Panconesi (2007). Les symptômes d'attaques de *M. phaseolina* sont semblables à la pourriture charbonneuse de la pomme de terre décrit par Harahagazwe *et al.* (2007) dans leurs travaux sur les ravageurs et maladies de certaines cultures de racines et tubercules cultivées au Burundi. La pourriture à *Pythium ultimum* observée est identique aux descriptions faites par Blancard et Hugot (2021) dans leurs travaux de recherche portant sur les symptômes de maladies de la patate douce. Koudahe (2012) a également fait une description identique sur les symptômes d'attaque de *P. ultimum* dans son article sur l'incidence des insectes ravageurs et maladies sur les variétés locales et importées de patate douce au Bénin.

L'inoculation par la méthode douce des tubercules n'a présenté aucun symptôme durant la période expérimentale. Ces résultats montrent que les agents pathogènes ne peuvent pas infecter les tubercules dont les tissus externes ne présentent aucune blessure. La comparaison des résultats des deux méthodes d'inoculation (douce et brutale) traduit le mode d'infection des pathogènes testés tel que décrit par Stevenson *et al.* (2001) qui estiment que les agents pathogènes étudiés pénètrent dans les tissus interne des tubercules à travers les blessures. Les différents résultats mettent en évidence le pouvoir pathogène et la virulence des isolats fongiques de *Ceratocystis fimbriata*, *Macrophomina phaseolina* et *Pythium ultimum* sur les tubercules de la patate douce. Le taux de réisolement de *P. ultimum* des plants de patate douce inoculés et traités avec l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* a été de 11,11 %. A partir des explants racinaires issus des plants inoculés avec *C. fimbriata* ou *M. phaseolina* et traités avec l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* et Banko plus, aucune croissance mycélienne n'a été observé sur milieu de culture PDA, en boîte de pétri. Cela traduit l'absence des champignons pathogènes dans les tissus des organes des plantes traitées. Les résultats montrent que tout comme le Banko plus, l'huile essentielle de *C. citratus* a induit une activité inhibitrice totale sur le dynamisme de *C. fimbriata* et *M. phaseolina* et modérée sur *P. ultimum* dans les organes des plants de patate douce. L'huile essentielle de *C. citratus* a donc une activité antifongique comparable à celle du fongicide de synthèse selon la souche fongique. Ces résultats sont conformes aux travaux de Koffi *et al.* (2006) qui ont montré l'efficacité de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur des micromycètes influençant la germination du Maïs et du Niébé. De même, Tiendrebeogo *et al.* (2017) ont mis en évidence l'activité antifongique d'extraits de *C. citratus* sur les champignons pathogènes du riz. Selon cet auteur, l'extrait de *C. citratus* réduirait la population de *Bipolaris oryzae* et celle de *Pyricularia oryzae* à 4000 ppm.

Conclusion et Perspectives

Cette étude a permis de montrer que les champignons pathogènes, *Ceratocystis fimbriata*, *Macrophomina phaseolina* et *Pythium ultimum*, isolés et inoculés permettent d'induire en condition expérimentale les pourritures des tubercules de la patate. Les tests antifongiques effectués avec les huiles essentielles de *Ocimum basilicum*, *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis* et *Lippia multiflora* montrent qu'elles ont une activité inhibitrice significative vis-à-vis de la croissance radiale mycélienne de *C. fimbriata*, *M. phaseolina* et *P. ultimum*. Sur l'ensemble des huiles étudiées, *C. citratus* s'est montré la plus efficace sur *M. phaseolina* à 4000 ppm. Sur *C. fimbriata*, les quatre huiles se sont montrées efficace avec 2000 ppm comme concentration minimale d'inhibition. Seule l'huile essentielle de *O. basilicum* a totalement inhibé *Pythium ultimum* à 2000 ppm. En sommes l'huile essentielle de *C. citratus* a été la plus efficace sur les trois souches testées. Les tests *in vivo* ont montré que si l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* a induit une certaine efficacité contre *Pythium ultimum*, elle a par contre totalement inhibé la virulence de *M. phaseolina* et *C. fimbriata* au niveau des racines des plants de patate douce. Son utilisation présente donc l'avantage d'atteindre à la fois les trois pathogènes fongiques. Cette huile

essentielle pourrait ainsi être une alternative à l'utilisation des fongicides de synthèse dans la stratégie de lutte contre les agents pathogènes qui induisent les pourritures des tubercules de patate douce.

REFERENCES

- Abdellah, F., Badr, S., Mohamed, F., Abdelaziz, C. et Mohamed, T. (2001). Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* et de son hybride naturel (clone 583), *Acta Botanica Gallica*, 148 (3) : 183-190.
- Amadioha, A.C. (2000). Controlling rice blast *in vitro* and *in vivo* with extracts of *Azadirachta indica*. *Journal of Crop Protection* 19: 287-290.
- Awuah, R.T. and Ellis, W.O. (2001). Effects of some groundnuts packaging methods and protection with *Ocimum* and *Syzygium* powders on kernel infection by fungi. *Mycopathologia*, 154, 29-36.
- Besnard, O. et Davet, P. (1993). Mise en évidence de souches de *Trichoderma* spp. à la fois antagonistes de *Pythium ultimum* et stimulatrices de la croissance des plantes. *Agronomie, EDP Sciences*, 13 (5) : 413-421. hal-00885561
- Blancard, D. (2010). Identifier les maladies, Diagnostique, Guide, Anomalies, Altération des fruits. Ed. INRA. Paris. pp 45-56
- Blancard D. et Hugot N. (2021). Symptômes sur patate douce. Ephytia. <http://ephytia.inra.fr/fr/C/25114/Tropileg-Symptomes-Patate-douce>. Visité le 24/10/2021
- Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y., Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Ed. Masson, Paris
- Boungab, K., Tadjeddine, A., Belabid, L. (2014). Efficacité de l'huile essentielle de la cannelle (*Cinnamomum cassia*) sur des champignons phytopathogènes. *PhytoChem & BioSub Journal*. 8(4) : 2170-1768
- Brou, Y.T., Akindès, F. et Bigot, S. (2005). La variabilité climatique en Côte d'Ivoire : entre perceptions sociales et réponses agricoles. *Cahier Agriculture*, 14(6) : 533- 540.
- Dabire T. G. (2004). Etude de l'efficacité d'extraits végétaux contre les agents pathogènes fongiques transmis par les semences de mil et de sorgho. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur du développement rural. Institut du Développement Rural, département d'Agronomie. Bobodioulasso, 62 p.
- Dibi, K.E.B., Ayolie, K., Soumahin, E.F., Ouattara, F., Essis, B.S., N'Zue, B. et Kouakou, A.M. (2020). Détermination de la période de récolte de huit variétés de patate douce (*Ipomoea batatas* L Convolvulaceae) à Bouaké au centre de la Côte d'Ivoire. *Tropicalia* [En ligne], volume 38 (2020), Numéro 1, URL : <https://popups.uliege.be/2295-8010/index.php?id=1472>.
- Harahagazwe, D., Ndayiragije, P. et Ntimpirangeza, M. (2007). Séminaire de formation à l'intention des Conseillers pédagogiques de l'atelier Agri-Elevage du Bureau d'Etudes de l'Enseignement Technique (BEET) du 20 au 21 juin 2007 Bujumbura, Burundi. 95 p.
- Doumbouya, M., Abo, K., Lepengue, A. N., Camara, B., Kanko, K., Aidara, D. & Koné, D. (2012). Activités comparées *in vitro* de deux fongicide de synthèse et deux huiles essentielles, sur des champignons telluriques des cultures maraîchères en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Bioscience* 50: 3520-3532.
- Edris, A.E. et Farrag, E.S. (2003). Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. *Nahrung*, 47 (2): 117-21. Gonzalez H.H.L., S.L. Resnik & A.M. Pacin, 200. Mycoflora of freshly harvested flint corn from northwestern provinces in Argentina. 155 : 207-211.
- Faostat. (2018). <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>, consulté le 13 juin 2021.
- Iftikhar, T., Babar, L.K., Zahoor, S. et Khan, N.G. (2010). Best irrigation management practices in cotton. *Pak. J. Bot.* 42(5): 3023-3028.
- Kabore, B., Koita, E., Ouedraogo, I. et Nebie, R. (2007). Efficacité d'extraits de plantes locales en traitement de semence contre la mycologie du riz. *Science et Technique*, 1(1): 49-57.
- Kalemba, D. and Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10: 813-829.
- Katooli, N., Maghsodlo, R. et Razavi, E.S. (2011). Evaluation of *Eucalyptus* essential oil against some plant pathogenic fungi. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 3(2): 41-43.
- Koffi, A. G., Komlan, B., Kouassi, A., Mireille, P.D., Messanvi, G., Philippe, B. et Koffi A. (2006). Activité antifongique des huiles essentielles de *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) et *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. (Poaceae) sur des micromycètes influençant la germination du Maïs et du Niébé, *Acta Botanica Gallica*, 153:1, 115-124.
- Koudahe, K. (2012). Inventaire des insectes ravageurs et maladies de la patate douce (*Ipomoea batatas* Lam.) au Bénin: Cas de la station expérimentale de l'IITA-Bénin. Diplôme d'Ingénieur Agronome, Université de Lomé, Togo. 76 p.
- Kouame, G. K., Sorho, F., Kone, D., Bomisso, L. E., Ake, S. et Yatty, J. (2011). Activité pathologique comparée de deux isolats de *colletotrichum gloeosporioides* (penz.) sur deux variétés de mangues (*Mangifera indica* L.). *Agronomie Africaine* 23 (1) : 33 - 41p.
- Lenteren, J.C. van. (ed.). 2012. Internet Book of Biological Control, version 6. www.iobc-wprs.org, Wageningen, The Netherlands. 182 p.
- Messiaen, C.M., Blancard, D., Rouxel, F. et Lafon, R. (1991). Les maladies des plantes maraîchères, 3e édition, INRA, Paris, pp. 183-194.
- Oxenham, S. K., Svoboda, K. P. and Walters, D. R. (2005). Antifungal activity of essential oil Basil (*Ocimum basilicum*). *Phytopathology*. 153 : 174 - 180
- Panconesi A. (2007). *Ceratocystis fimbriata* des platanes en Italie : aspects biologiques et possibilité de contrôle. *Pathologie forestière* 11 (7) : 385-395.
- Paranagama, P.A., Abeysekera, K.H., Abeywickrama, K. et Nugaliyadde, L. (2003). Fungicidal and anti-aflatoxigenic effects of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (lemongrass) against *Aspergillus flavus* Link. isolated from stored rice. *Lett. Appl. Microbiol.*, 37 (1) : 86-90.
- Saumon, E., Herbach, M., Goore, B. K., Davet, P. (1984). Le dessèchement précoce des tournesols. Dynamique de la colonisation des plantes par les champignons du sol et envahissement tardif par *Macrophomina phaseolina*. *Agronomie, EDP Sciences*, 4 (9), pp.805-812. hal-00884700
- Seassau C. (2010). Etiologie du syndrome de dessèchement précoce du tournesol : implication de *Phoma macdonaldii* et interaction avec la conduite de culture. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse, Institut National Polytechnique de Toulouse. 209 p.
- Sihachakr, D., Haïcour, R., Cavalcante, A. J.M., Umboh, I., Nzoghé, D., Servaes, A. et Ducreux, G. (1997). Plant regeneration in sweet potato (*Ipomoea batatas* L., Convolvulaceae). *Euphytica*, 96, 143-152.
- Stevenson, W. R., Loria, R., Franc, G. D. et Weingartner, D. P. (Eds). (2001). Leak. Dans *Compendium of Potato Diseases*. 2^e éd. APS Press. The American Phytopathological Society Press, St-Paul, Minnesota. pp 30-31.
- Tiendrebeogo, A., Ouedraogo, I., Bonzi, S. et Kassankogno, A.I. (2017). Etude de l'activité antifongique d'extraits de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, *Eclipta alba* L., *Lippia multiflora* M. et *Agave sisalana* P. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 11(3): 1202-1211.
- Uddin, N., Rahman, A., Ahmed, N.U., Rana, S., Akter, R. et Chowdhury, A.M.M.A. (2010). Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial properties of *Eclipta alba* ethanol extract, *International Journal of Biological & Medical Research*, 1(4): 341-346.