



Activités comparées in vitro de deux fongicides de synthèse et de deux huiles essentielles, sur des champignons telluriques des cultures maraîchères en Côte d'Ivoire

DOUMBOUYA Mohamed¹, ABO Kouabenan², LEPENGUE A. Nicaise³, CAMARA Brahim⁴, KANKO Koffi⁵, AIDARA Daouda¹, KONE Daouda⁴

¹ Université d'Abobo-Adjamé, UFR Sciences de la Nature et de l'Environnement, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

² Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny, DFR Agriculture et Ressources Animales, Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Végétale, BP 1313, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

³ Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM); Unité de Recherche Agrobiologie, Laboratoire de Phytopathologie, B.P. 901; Franceville, Gabon.

⁴ Université d'Abidjan-Cocody, UFR Biosciences, Laboratoire de Physiologie Végétale, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

⁵ Université d'Abidjan-Cocody, UFR Sciences des Structures et de la Matière, Laboratoire de Chimie Organique, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

Correspondence: camara_ib@yahoo.fr

Originally Submitted on 8th August 2011. Published online at www.melewa.org on February 27, 2012.

RESUME

Objectif : L'efficacité de deux fongicides de synthèse (Callicuivre et Banko Plus) et de deux huiles essentielles issues de *Melaleuca quinquenervia* et d'*Ocimum gratissimum* a été étudiée *in vitro* sur trois stades de vie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* et sur la croissance mycélienne de *Pythium* sp.

Méthodologie : Ces produits ont été additionnés au milieu de culture du champignon (PDA) à différentes concentrations. Le Banko Plus et l'huile essentielle d'*O. gratissimum* offrent les meilleurs résultats sur les différents stades de vie de *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* avec une efficacité plus marquée du Banko Plus. L'inhibition de la croissance mycélienne de *Pythium* sp. est plus effective avec le Callicuivre (CI₅₀ : 40 ppm; CI₉₀ : 395 ppm) et l'huile d'*O. gratissimum* (CI₅₀ : 80 ppm; CI₉₀ : 100 ppm). L'activité de l'huile essentielle de *M. quinquenervia* est faible sur les deux champignons. Elle présente cependant une relative efficacité sur la croissance mycélienne et sur la germination des spores de *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* que sur la croissance mycélienne de *Pythium* sp. L'application, *in vivo*, du Banko Plus et de l'huile d'*Ocimum gratissimum*, à leur concentration inhibitrice de 90 % de la croissance mycélienne, avant et après inoculation du pathogène *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* assure la protection des plants de tomate.

Conclusions: L'huile d'*Ocimum gratissimum* et le produit de synthèse Callicuivre offrent un bon contrôle de *Pythium* sp. respectivement en traitement curatif et préventif.

Application actuelle et potentiel des résultats: L'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum* pourrait être utilisée dans le cadre d'une méthode de lutte respectueuse de l'environnement.

Mots clés : Fongicides, Huiles essentielles, efficacité, champignons telluriques, Côte d'Ivoire.

Comparing in vitro activities of two synthetic fungicides and two essential oils on soil fungi of vegetable crops in Côte d'Ivoire

Objective: The efficacy of two synthetic fungicides (Callicuire and Banko plus) and two essential oils from *Melaleuca quinquenervia* and *Ocimum gratissimum* were investigated in vitro on three life stages of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* and mycelial growth of *Pythium* sp.

Methodology: These products were added to the culture medium of the fungus (PDA) at different concentrations. The Banko plus and essential oil of *O. gratissimum* offered the best results on the different life stages of *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* with a greater efficiency of Banko Plus. The inhibition of mycelial growth of *Pythium* sp. was more effective with Callicuire (IC50: 40 ppm, IC90: 395 ppm) and *O. gratissimum* oil (IC50: 80 ppm, IC90: 100 ppm). The activity of the essential oil of *M. quinquenervia* was low on both fungi. However, it has a relative efficiency of mycelial growth and spore germination of *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* on mycelial growth of *Pythium* sp. The application, in vivo, the Banko plus and oil from *Ocimum gratissimum*, to their inhibitory concentration 90% of mycelial growth, before and after inoculation of the pathogen *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* protects tomato plants.

Conclusions: The oil of *Ocimum gratissimum* and the synthetic product Callicuire offer good control of *Pythium* sp. respectively in treatment and prevention.

Current application and potential outcomes: The essential oil of *Ocimum gratissimum* could be used as part of a method of biocontrol which is environmental friendly.

Keywords: Fungicides, Essential oils, efficiency, soil fungi, Ivory Coast.

INTRODUCTION

Originaire des Andes en Amérique du Sud, la tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) aurait été domestiquée et cultivée pour la consommation au Mexique (Robert, 1979). Elle représente aujourd'hui l'une des cultures maraîchères les plus rentables. En Afrique de l'Ouest, quelques rares pays tels que le Sénégal (Hélène et Joël, 1999) et la Côte d'Ivoire l'ont adoptée comme culture industrielle. Cette filière est aujourd'hui tenue, en Côte d'Ivoire, par les producteurs eux-mêmes et surtout par les femmes qui sont majoritaires dans la commercialisation de la production. Celle-ci demeure faible pour couvrir la demande du pays en tomate. Pour satisfaire ces besoins nationaux, diverses contraintes doivent être levées pour améliorer le rendement de la tomate. Parmi ces contraintes, il y a la faiblesse du rendement de la tomate dans les différentes zones de production liée à la forte pression des pathogènes, notamment, les parasites nuisibles des racines. L'activité de ces micro-organismes sur les racines des plants peut induire des pertes d'environ 15 % (Agrios, 1988) voir 60 % (Sippell *et al.*, 1985) de la production. Il a été rapporté que les genres

Pythium sp. et *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* agissant par la pourriture des racines et du collet sont respectivement responsables de la fonte des semis et du flétrissement des pieds de tomate (Khanna *et al.*, 1991). Les producteurs, par manque de méthodes efficaces de lutte contre ces maladies, essaient de contrôler ces pathogènes par l'utilisation d'une panoplie de pesticides (De Waard *et al.*, 1993). Malgré ces traitements, l'état sanitaire des parcelles ne s'améliore guère et les producteurs sont parfois obligés d'abandonner la tomate au profit d'autres légumes moins sensibles aux maladies. La difficulté de lutte contre les maladies racinaires par les pesticides de synthèse expliquerait l'usage abusif de ces produits phytosanitaires par les producteurs (Caron et Laverdière, 2003). En conséquence, cet usage abusif des pesticides pose un problème de rentabilité de culture la tomate, de risque de résidus de produits de synthèse dans les fruits pour les consommateurs et de pollution de l'environnement (Harman, 1992).

Face à l'inquiétude du nombre sans cesse croissant de consommateurs vis-à-vis du niveau

de résidus des produits de synthèse (Bye et al., 1991; Jenny, 2000), les recherches se sont orientées vers des méthodes alternatives de lutte. Les investigations ont porté sur les plantes aromatiques qui ont longtemps été utilisées traditionnellement aussi bien en thérapie (Adilson et al., 2004; Nostro A et al., 2000) que dans la conservation des aliments (Adilson et al., 2004). En matière de phytothérapie, les extraits et les huiles essentielles de divers espèces de plantes ont donné des résultats probants sur des mycoses (Adam et al., 1998; Camara et al., 2007; Guede-Guina et al., 1995; Mandango et al., 2003; Zirih et al., 2003). Les extraits de ces plantes auraient ainsi des propriétés antifongiques et antibactériennes (Oxenham et al., 2005). Des chercheurs ont montré que les huiles essentielles issues de *Monarda citrodora* et *Melaleuca*

alternifolia présentent des activités antifongiques contre divers pathogènes fréquemment rencontrée sur les produits de récolte (Jenny, 2000). Letessier et al. (2001) ont montré que l'huile essentielle issue d'*Hyssopus officinalis* réduit, *in vitro*, la croissance mycélienne des champignons de même que l'infection des plantes. Selon certains auteurs, 40 % des Labiales produisent des huiles essentielles aromatiques (Lawrence, 1992).

Dans cette étude, l'efficacité des huiles issues de *Melaleuca quinquenervia* et d'*Ocimum gratissimum* est testée *in vitro* et *in vivo* sur deux champignons pathogènes des cultures maraîchères en Côte d'Ivoire. Les tests portent également sur deux fongicides récents de synthèses conseillés en culture maraîchère en Côte d'Ivoire (Banko Plus et Callicuire).

MATERIEL ET METHODES

Activité *in vitro* des huiles essentielles et des fongicides de synthèses

Matériel fongique et produits utilisés : Une souche de *Pythium* sp. et une de *Fusarium oxysporum* ont été isolées à partir d'échantillons de tige de tomate de la variété Caraïbo en provenance de la zone de production maraîchère de Songon-Agban (à 8 m d'altitude, de longitude 004° 15'04.7" et latitude 05° 18'44.4"). Les produits utilisés dans cette étude concernent deux fongicides de synthèse et deux huiles essentielles. Les deux fongicides testés sont commercialisés par la Société Callicuire. Ce sont :

- le Banko Plus, une association de deux matières actives : Chlorothalonil (550 g/l) appartenant à la famille des dérivés phthaliques, 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 systémie ;
- le Callicuire dont la matière active est l'Oxychlorure de cuivre à 56 %, appartenant à la famille des composés minéraux, utilisé en prévention et agissant par contact.

Les deux huiles essentielles utilisées ont été extraites des feuilles de *Melaleuca quinquenervia* (Lamiaceae) et d'*Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae). Ces plantes ont été récoltées à Abidjan (Côte d'Ivoire). Contrairement aux feuilles de *Melaleuca quinquenervia* distillées fraîches, celles d'*Ocimum gratissimum* ont été préalablement séchées à la température ambiante du

laboratoire (25° C) pendant cinq jours suivis de l'extraction des huiles essentielles. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation réalisée avec le dispositif de Clevenger pendant 3 heures. Cette méthode consiste en une distillation classique dans laquelle la matière végétale est plongée dans de l'eau, et l'ensemble est porté à ébullition. La vapeur d'eau chargée de substances volatiles se condense à l'intérieur d'un réfrigérant. Les essences, moins denses que l'eau, sont recueillies dans des flacons par simple décantation à la surface de celle-ci. Ces flacons d'huiles sont recouverts de papier aluminium afin de les préserver de tout effet négatif de la lumière. Les huiles ont été par la suite conservées au réfrigérateur à la température de 12 °C.

Matériel végétal : Le matériel végétal est constitué de plantules de tomate de la variété Mongal. Les semences ont été obtenues auprès de la société semencière Semivoire. Les grains ont été mis à germer sur du sol préalablement stérilisé à l'autoclave contenu dans un bac stérile et placé sous abri plastique transparent. Après 10 jours de pépinière, les plantules ont été transplantées, au stade 3 vraies feuilles, dans des pots de 50 cl remplis de terre stérile. La terre ayant servi pour la pépinière et le remplissage des pots de transplantation provient de la zone de production maraîchère de Songon-Agban.

Activité des produits sur la croissance mycélienne : Les différentes doses utilisées ont été

retenues après plusieurs essais préliminaires et répondent à l'objectif de définition de la CI_{50} (concentration inhibitrice de 50 %), de la CI_{90} (concentration inhibitrice de 90 %) et la CMI (concentration minimum d'inhibition). Les huiles essentielles ont été testées en même temps que les deux fongicides de synthèse.

Préparation des cultures fongiques : Les huiles essentielles ou les fongicides de synthèse utilisés, ont été incorporés dans le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) après autoclavage à 121° C, 1 bar pendant 30 min, puis coulé à raison de 17 ml dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre. Pour chaque concentration d'huile essentielle ou de fongicide de synthèse, cinq boîtes de Pétri ont été ensemencées avec une rondelle de 6 mm de diamètre issue de la marge d'une culture âgée de 7 jours de *Pythium* sp. et de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* et prélevée avec un emporte pièce. La période

d'incubation après l'ensemencement a été de 72 h pour *Pythium* sp., et de 192 h pour *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. Ces périodes ont été retenues car elles correspondent à la date à laquelle le témoin rempli très nettement la boîte de Pétri. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 28° C à une photopériode 12/12. Le témoin est réalisé dans les mêmes conditions sans huiles essentielles ni fongicides de synthèse.

Préparation des différentes doses pour les essais : Les huiles essentielles ont été au préalable dissoutes dans du Tween 20 (solution intermédiaire), avant d'être ajoutées au milieu de culture sous agitation magnétique aux doses consignées dans le tableau 1. De même, les fongicides de synthèse (le Callicuivre et le Banko Plus) ont été dilués dans de l'eau distillée stérile pour obtenir des solutions mères de 10000 ppm. A partir de ces solutions mères, les concentrations consignées dans le tableau 1 ont été obtenues.

Tableau 1 : Différentes doses (en ppm) de produits testés sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et *Pythium* sp.

Produits	Champignons	Doses de produits testés (ppm)						
		50	100	200	400	500	600	8000
Banko Plus	<i>F. oxysporum</i>	50	100	200	400	500	600	
	<i>Pythium</i> sp.	250	500	1000	2000	4000	8000	9000
Callicuivre	<i>F. oxysporum</i>	125	250	500	1500	2500	3500	
	<i>Pythium</i> sp.	25	50	100	200	300	500	
<i>M. quinquenervia</i>	<i>F. oxysporum</i>	500	1000	2000	3000	5000	7000	8500
	<i>Pythium</i> sp.	2500	3000	3500	4000	4500	5000	
<i>O. gratissimum</i>	<i>F. oxysporum</i>	75	80	90	100	150		
	<i>Pythium</i> sp.	75	80	90	100	150		

Evaluation de la croissance mycélienne : La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de 2 diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle. Cinq répétitions ont été effectuées pour chaque concentration. Les taux d'inhibition de la croissance (TIC) par rapport au témoin, sont ensuite calculés selon la formule suivante :

$$TIC = \frac{T - E}{T} \times 100$$

T = croissance moyenne du champignon (mm) dans le milieu témoin. E = croissance moyenne du champignon (mm) dans le milieu de culture à la concentration (c) de l'huile essentielle ou du fongicide de synthèse.

De l'équation de régression linéaire entre le logarithme népérien des concentrations et les taux d'inhibition de

la croissance, on détermine les concentrations réduisant de 50 % (CI_{50}), de 90 % (CI_{90}) la croissance mycélienne de même que la CMI (concentration minimum d'inhibition).

Activité des produits sur la production de spores : Dans chacune des boîtes de Pétri ayant servi pour la mesure de la croissance mycélienne, 3 explants de 6 mm de diamètre ont été prélevés et mis dans un tube à essai contenant 3 ml d'eau distillée stérile. Les tubes ont été agités par séquence de 3 secondes pendant 15 secondes afin de détacher les spores des conidiospores. Les suspensions obtenues ont été filtrées sur de la mousseline afin d'éliminer les fragments mycéliens. Le comptage du nombre de spores a été effectué à l'aide d'une lame de Malassez à raison de dix comptages par suspension pour obtenir un total d'au moins 100 spores. Le nombre de spores par unité de surface (mm²) a été compté suivi du nombre de particules dans 1 ml. Le pourcentage

d'inhibition de la sporulation a été ainsi déterminé par la formule :

$$\text{TIS} = \frac{\text{NSo} - \text{NSt}}{\text{NSo}} \times 100$$

NSo : Nombre moyen de spores chez le témoin,

NSt : Nombre moyen de spores dans les tubes traités.

Les concentrations inhibitrices de 50 % (CI₅₀) et de 90 % (CI₉₀) de la sporulation, ont été déterminées comme précédemment indiqué.

Activité des produits sur la germination des spores : A partir d'une jeune culture de 7 jours, 3 explants ont été prélevés et mis dans un tube contenant 3 ml d'eau distillée stérile. Les spores libérées après agitation, ont été comptées à l'hématimètre de Malassez en vue de définir la densité initiale, qui sera ensuite ajustée à 10⁵ spores/ml après dilution. Des suspensions de 0,1 ml ont été étalées dans des boîtes de pétri contenant un milieu PDA additionné des différentes concentrations de fongicides et d'huiles essentielles. Trois répétitions par concentration ont été réalisées. Des boîtes témoins ont été également réalisées sans fongicides et sans huiles. Après 48 h, les spores ayant germé sur un total de 500 spores ont été comptées. Le pourcentage d'inhibition de la germination par rapport au témoin a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{TIG} = \frac{\text{NSGo} - \text{NSGt}}{\text{NSGo}} \times 100$$

NSGo : Nombre de spores ayant germé dans le milieu sans fongicides ni huiles,

NSGt : Nombre de spores ayant germé dans les boîtes de pétri traitées.

La CI₅₀ et la CI₉₀ ont été déterminées comme précédemment indiqué.

Test d'efficacité in vivo des produits testés

Préparation de l'inoculum : L'inoculum de la souche de *Pythium* sp. est constitué de mycélium prélevé avec le milieu de culture. Une concentration de 1/4 de calotte mycélienne issue d'une boîte de pétri de 90 mm de diamètre a été utilisée. Cette calotte a été mélangée à la surface du sol des pots de transplantation de 100 ml, à 1 cm de la tige des plantules. L'inoculum de *F.*

oxysporum f. sp. *radicis lycopersici* est une suspension de spores de 10⁵ spores/ml. Cette suspension de spore est obtenue en raclant, dans 1 ml d'eau distillée stérile, la surface de la culture fongique âgée de 7 jours, à l'aide d'une pipette pasteur stérile incurvée. La suspension obtenue a été filtrée sur de la mousseline. Après comptage avec une lame de Malassez, la suspension a été calibrée à 10⁵ spores/ml. L'inoculation des plantules a consisté à un dépôt de 1 ml de suspension de spores autour des plantules transplantées dans les pots de 100 ml, à l'aide d'une micropipette.

Applications des huiles essentielles et fongicides de synthèses sur les plants : Le traitement a été effectué avec les deux fongicides de synthèse et les deux huiles essentielles testés *in vitro*. Les différents produits ont été utilisés à leur concentration inhibitrice de 90 % de la croissance mycélienne des deux champignons. Deux types de traitement ont été réalisés. Un traitement préventif, a été effectué 1 jour avant l'inoculation, par le trempage du système racinaire des plantules jusqu'à 1 cm au-dessus du collet ; le trempage a lieu dans les différents produits. Un traitement curatif a également été effectué ; il a lieu un jour après l'inoculation. Ce traitement a consisté à pulvériser verticalement, de la tige aux feuilles, sur chaque plantule concernée, 5 ml des différents produits. Pour réaliser les traitements, les solutions fongicides obtenues à partir des produits de synthèse, ont été dilués dans de l'eau distillée stérile. Le traitement réalisé avec les huiles essentielles a été effectué, en les solubilisant dans une solution aqueuse à 1 % d'alcool 90°. Deux types de témoin ont été réalisés. Les racines des plants du premier type de témoin ont été trempées dans une solution aqueuse à 1 % d'alcool 90° ; tandis que celles des plants du second type l'ont été uniquement dans de l'eau distillée stérile. Les plantules ont été placées dans une serre à la température de 27 ± 2 °C et sous une humidité proche de la saturation (90 - 100 %).

Evaluation de la sévérité des attaques parasitaires et de la sensibilité des plants : Les paramètres d'évaluation de la maladie ont été adoptés en fonction du parasite. Avec *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, la sévérité de la maladie a été évaluée en s'inspirant de la technique d'indice après une coupe longitudinale de la tige (Salmond, 2003). En fonction du degré de brunissement des tissus corticaux du collet, les plants sont classés selon les cotes suivantes :

Cote 0 = absence de coloration des vaisseaux du collet ;

Cote 1 = 1 / 4 des coupes transversales présentent un brunissement des vaisseaux du collet ;

Cote 2 = 1 / 2 des coupes transversales présentent un brunissement des vaisseaux du collet ;

Cote 3 = 3 / 4 des coupes transversales présentent un brunissement des vaisseaux du collet ;

Cote 4 = plus de 3 / 4 des coupes transversales présentent un brunissement des vaisseaux du collet.

Dans le cas du *Pythium* sp., l'état des racines superficielles et du collet des plants a été évalué et classifié suivant les cotes allant de 0 à 7 afin de déterminer la sévérité de la maladie sur les plants. L'échelle des cotes est le suivant :

Cote 0 = absence de racines superficielles brunies et de nécrose du collet ;

Cote 1 = 1 / 4 des racines superficielles présentent un brunissement ;

Cote 2 = 1 / 4 des racines superficielles présentent un brunissement + nécrose du collet ;

Cote 3 = 1 / 2 des racines superficielles présentent un brunissement ;

Cote 4 = 1 / 2 des racines superficielles présentent un brunissement + nécrose du collet ;

Cote 5 = 3 / 4 des racines superficielles présentent un brunissement ;

Cote 6 = 3 / 4 des racines superficielles présentent un brunissement + nécrose du collet ;

Cote 7 = Système racinaire totalement nécrosé + chute du plant.

Dans chaque cas, des prélèvements de racines ont été faits lors des évaluations afin de confirmer la présence du pathogène dans les tissus symptomatiques. La sévérité de la maladie est exprimée suivant la formule de sévérité de Hezhong et al.(2005) :

$$ISM = \frac{\sum N_{Cn} \times VC_n}{NT \times VC_z}$$

in vitro sur les différents stades de vie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* et sur la croissance mycélienne de *Pythium* sp.:

Quel que soit le produit et les concentrations utilisées, il existe globalement une différence significative entre les valeurs du taux d'inhibition des différents stades de vie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. La croissance mycélienne, *in vitro*, de *F. oxysporum* et de *Pythium* sp. a été réduite par tous les produits utilisés aux concentrations respectives. Après six jours

ISM : indice de sévérité de la maladie

∑ : somme

N_{Cn} : nombre de plants présentant une cote donnée de maladie

VC_n : la valeur de cette cote

NT : nombre total de plants

VC_z : la plus grande valeur de cote

et par la détermination du pourcentage de sensibilité des plants donné par la formule :

$$PS = \frac{ISP_x}{IST} \times 100$$

PS : pourcentage de sensibilité des plants

ISP_x : indice de sévérité avec un produit x donné

IST : indice de sévérité du témoin

Analyse statistique : Les données obtenues ont été soumises à l'analyse de la variance et le test de L.S.D. au seuil de 5 % (test de la plus petite différence significative) avec quel logiciel Statistica 6.0. Ce test a permis de comparer les valeurs moyennes des CI₅₀ et CI₉₀ du stade croissance mycélienne de *Pythium* sp. et de chaque stade du cycle de vie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* pour chaque produit. Dans le cas des études *in vivo*, les données obtenues ont été soumises à l'analyse de la variance (ANOVA). En cas de différences significatives, les moyennes ont été comparées selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %.

d'incubation, la croissance de *Fusarium oxysporum* a été totalement inhibée à 8500 ppm en présence de l'huile de *Melaleuca quinquenervia*. Cette huile a eu une action marquée sur la croissance mycélienne et la germination des spores de *F. oxysporum*; elle a présenté par contre, à certaines concentrations, une corrélation négative avec la sporulation. Avec une concentration de 1000 ppm, l'huile tend à induire une stimulation de presque 50 % de la sporulation (Fig. 1). A la concentration maximale de 600 ppm de Banko Plus (Fig. 2) et de 3500 ppm de Callicuire (Fig. 3), la

croissance mycélienne et la sporulation de *F. oxysporum* ont été totalement inhibées. A 150 ppm,

l'huile d'*Ocimum gratissimum* a inhibé totalement les différents stades de vie de ce champignon. (Fig. 4).

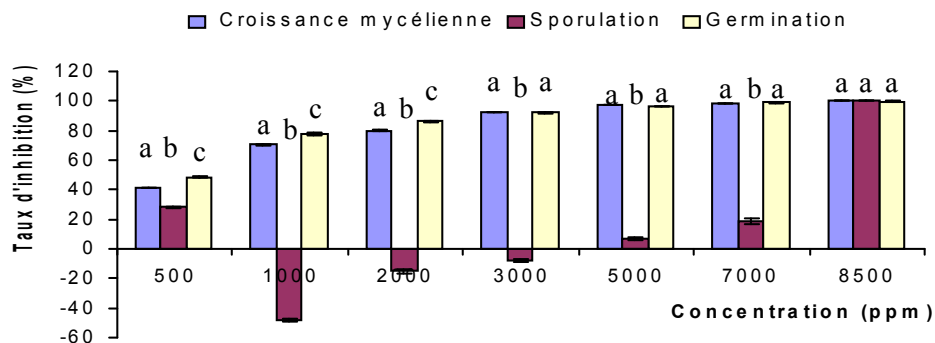


Fig. 1 : Effet de l'huile essentielle de *Melaleuca quinquenervia* sur la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des spores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Les barres d'erreurs indiquent l'erreur standard sur la moyenne. Pour chaque concentration les valeurs affectées d'une même lettre ne diffèrent pas

significativement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

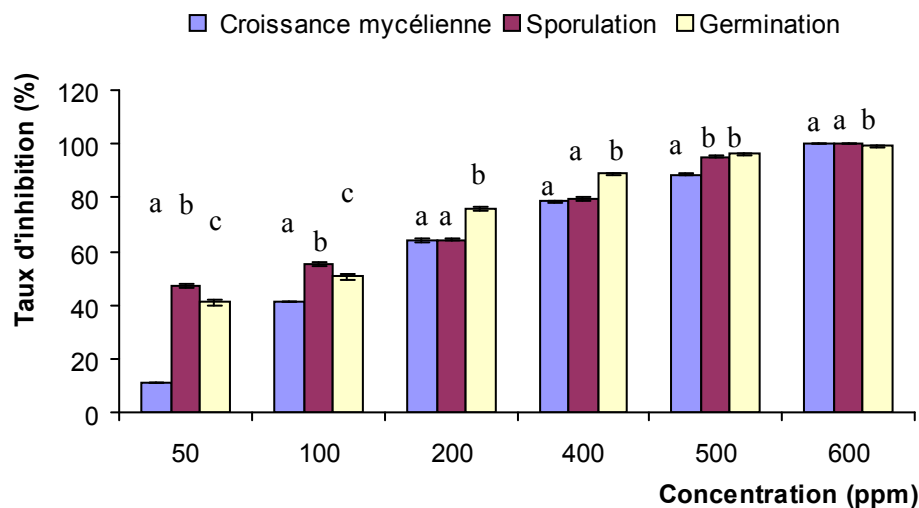


Fig. 2 : Effet du fongicide de synthèse Banko Plus sur la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des spores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Les barres d'erreurs indiquent l'erreur standard sur la moyenne. Pour chaque concentration les valeurs affectées d'une même lettre ne diffèrent pas

significativement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

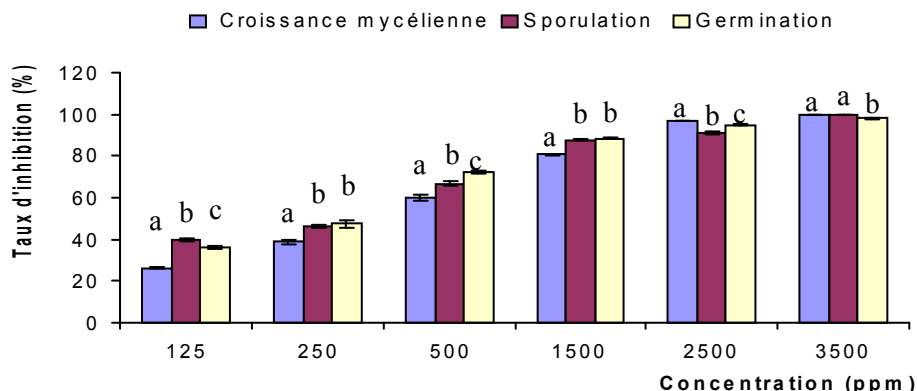


Fig. 3 : Effet du fongicide de synthèse Callicuire sur la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des spores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Les barres d'erreurs indiquent l'erreur standard sur la moyenne. Pour chaque concentration les valeurs affectées d'une même lettre ne diffèrent pas

significativement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %.

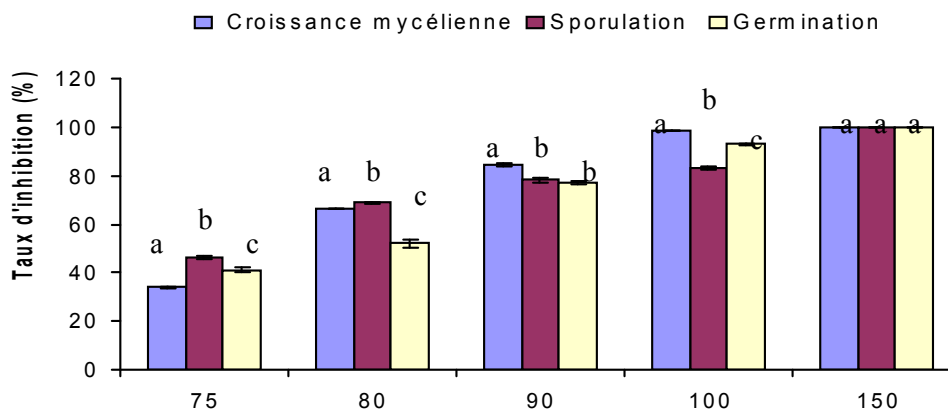


Fig. 4 : Effet de l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum* sur la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des spores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Les barres d'erreurs indiquent l'erreur standard sur la moyenne. Pour chaque concentration les valeurs surmontées d'une même lettre ne sont pas statistiquement différentes suivant le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. En présence de l'huile de *M.*

quinquenervia, les valeurs de la CI_{50} et de la CI_{90} , déterminées pour les deux champignons, sont élevées (Tableau 2); toutefois, cette huile a un effet plus marqué sur *Fusarium oxysporum*. Les résultats montrent que le Callicuire et le Banko Plus ont une

fongitoxicité relativement faible respectivement sur la croissance mycélienne de *F. oxysporum* (Cl₅₀ = 340 ppm ; Cl₉₀ = 2015 ppm) et celle de *Pythium* sp. (Cl₅₀ = 700 ppm ; Cl₉₀ = 5175 ppm). *F. oxysporum* présente une sensibilité marquée au Banko Plus (Cl₅₀ = 120,7 ppm ; Cl₉₀ = 510,2 ppm) ; la souche de *Pythium* sp. étudiée est plutôt sensible au Callicuire (Cl₅₀ = 40 ppm ; Cl₉₀ = 395 ppm). L'huile essentielle d'O.

gratissimum réduit très significativement la croissance des deux champignons avec des valeurs de la Cl₅₀ et de la Cl₉₀ qui sont faibles et proches. Ainsi, 77,4 ppm et 92,5 ppm de cette huile réduisent respectivement 50 % et 90 % de la croissance mycélienne de *F. oxysporum* tandis qu'avec *Pythium* sp., ces réductions sont légèrement élevées (80 ppm ; 100 ppm), (Tableau 2).

Tableau 2 : Comparaison des Cl₅₀ et des Cl₉₀ (en ppm) de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* et de *Pythium* sp. en présence de deux fongicides de synthèse et de 2 huiles essentielles

Produits	<i>M. quinquenervia</i>		Callicuire		Banko Plus		<i>O. gratissimum</i>	
	Cl ₅₀	Cl ₉₀	Cl ₅₀	Cl ₉₀	Cl ₅₀	Cl ₉₀	Cl ₅₀	Cl ₉₀
Champignons								
<i>F. oxysporum</i>	600 ^a	2700 ^a	340 ^a	2015 ^a	120,7 ^a	510,2 ^a	77,4 ^a	92,5 ^a
<i>Pythium</i> sp.	3700 ^b	4675 ^b	40 ^b	395 ^b	700 ^b	5175 ^b	80 ^b	100 ^b

Les valeurs de Cl₅₀ et Cl₉₀ dans chaque colonne affectées d'une même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 % selon le test de Student Newman-Keuls

Les résultats du Tableau 3, montrent que le Banko Plus présente une efficacité sur la sporulation avec des valeurs relativement faibles de la Cl₅₀ (70 ppm) et de la Cl₉₀ (460,3 ppm). Le stade de sporulation est également sensible à l'huile d'O. *gratissimum* (Cl₅₀ = 75,7 ppm ; Cl₉₀ = 122 ppm). Le Banko Plus et l'huile d'O. *gratissimum* sont également les plus efficace sur l'inhibition de la germination des spores de *F.*

oxysporum. Cette étape est relativement moins sensible au produit de synthèse Banko Plus (Cl₅₀ = 100 ppm) qu'à l'extrait d'O. *gratissimum* (Cl₅₀ = 77,5 ppm). Les concentrations de Callicuire inhibant respectivement 50 % de la germination et 50 % de la sporulation sont statistiquement identiques au seuil de 5 %.

Tableau 3 : Cl₅₀ (en ppm) et des Cl₉₀ (en ppm) de la croissance mycélienne, de la germination et de la sporulation de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* en présence de deux fongicides de synthèse et des huiles essentielles de *M. quinquenervia* et *O. gratissimum*

Produits	<i>M. quinquenervia</i>		Callicuire		Banko Plus		<i>O. gratissimum</i>	
	Cl ₅₀	Cl ₉₀	Cl ₅₀	Cl ₉₀	Cl ₅₀	Cl ₉₀	Cl ₅₀	Cl ₉₀
Champignons								
TIC (%)	600 ^a	2700 ^a	340 ^a	2015 ^a	120,7 ^a	510,2 ^a	77,4 ^a	92,5 ^a
TIC (%)	535 ^b	2520 ^b	265 ^b	1630 ^b	100 ^b	400,2 ^b	77,5 ^a	96,4 ^b
TIS(%)	7680 ^c	8370 ^c	290 ^b	2055 ^a	70 ^c	460,3 ^c	75,7 ^b	122 ^c

*Les valeurs de Cl₅₀ et Cl₉₀ dans chaque colonne affectées d'une même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 % selon le test de Student Newman-Keuls.

Action in vivo des produits : Suite à l'inoculation de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, aucune différence significative (P < 0,05) n'est observée entre les traitements préventifs et curatifs des produits utilisés (Tableau 4). Les faibles indices de

sévérité sont toutefois obtenus en traitement curatif avec l'huile de *Ocimum gratissimum* (0,15 ; avec une réduction de la sensibilité des plants à 26,91 %) et en traitement préventif avec le fongicide de synthèse

Banko Plus (0,1 ; avec une réduction de la sensibilité des plants à 26,67 %).

Tableau 4 : Indice de sévérité et taux de sensibilité en fonction des traitements des plants inoculés avec *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*.

Traitements	Indice de sévérité	Sensibilité (%)
Témoin non traité	0,6	-
Témoin préventif	0,5	80,56d*
Banko Plus en préventif	0,1	26,67a
Banko Plus en curatif	0,2	29,35a
Callicuivre en préventif	0,3	56,07b
Callicuivre en curatif	0,3	56,71b
<i>O. gratissimum</i> en préventif	0,2	29,63a
<i>O. gratissimum</i> en curatif	0,1	26,91a
<i>M. quinquenervia</i> en préventif	0,4	70,80c
<i>M. quinquenervia</i> en curatif	0,4	70,60cd

*Les taux de sensibilité dans chaque colonne affectés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 % selon le test de Student Newman-Keuls.

Quel que soit le type de traitement, le Banko Plus et l'huile de *Melaleuca quinquenervia* utilisés dans le traitement des plants, inoculés avec *Pythium* sp., présentent une activité relativement faible sur la sévérité de la maladie (Tableau 5). Le maximum de réduction de la sensibilité est obtenu en traitement

curatif avec l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* (37,97 % de sensibilité). Aucune différence significative ($P < 0,05$) n'est observée entre le traitement curatif à l'aide du produit de synthèse Banko Plus et le traitement préventif et curatif avec l'huile de *Melaleuca quinquenervia*.

Tableau 5 : Indice de sévérité et pourcentage de sensibilité en fonction des traitements des plants inoculés avec *Pythium* sp.

Traitements	Indice de sévérité	Sensibilité (%)
Témoin curatif	0,6	-
Témoin préventif	0,6	91,65f*
Banko Plus en préventif	0,4	60,79e
Banko Plus en curatif	0,4	68,64de
Callicuivre en préventif	0,2	38,17ab
Callicuivre en curatif	0,3	49,37bc
<i>O. gratissimum</i> en préventif	0,3	55,03cd
<i>O. gratissimum</i> en curatif	0,2	37,97a
<i>M. quinquenervia</i> en préventif	0,4	67,30de
<i>M. quinquenervia</i> en curatif	0,4	64,81de

*Les taux de sensibilité dans chaque colonne affectés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 % selon le test de Student Newman-Keuls.

DISCUSSION

Les résultats obtenus ont montré une variabilité dans la réaction des champignons aux différents produits utilisés. Les valeurs des CI_{50} et CI_{90} des produits de synthèse sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* et de celle de *Pythium* sp. montrent que le Banko Plus (Chlorothalonil + Carbendazime) est plus

efficace sur *F. oxysporum*, tandis que *Pythium* sp., est plus sensible au Callicuivre (Oxychlorure de cuivre). En effet, les Carbendazimes interférant avec la formation et/ou le fonctionnement des microtubules, bloquent les divisions cellulaires et l'élongation des hyphes mycéliens (Pierre, 2003). L'action du Callicuivre sur

Pythium sp., est surtout due à son activité inhibitrice de la fonction respiratoire. Même si les extraits du genre *Melaleuca* semblent avoir donné des résultats intéressants avec l'espèce *M. alternifolia* sur *Botrytis cinerea* (Agnios, 1988), son action est relativement faible sur *F. oxysporum* voire très faible sur sa sporulation et sur la croissance mycélienne de *Pythium* sp.

L'huile de *O. gratissimum* a une efficacité marquée sur *Pythium* sp., et les différents stades de vie de *F. oxysporum*. Ces résultats corroborent ceux de nombreux chercheurs (Khanna *et al.*, 1991) qui ont montré que l'huile de *O. gratissimum* inhibe complètement la croissance de *Colletotrichum capsici* et de *Sclerotium rolfsii* aux concentrations de 50 à 500 ppm. Ces résultats sont également en accord avec d'autres auteurs (Tewari et Najak, 1991), dont il ressort que l'huile extraite de l'espèce *Ocimum sanctum* inhibe, *in vitro*, la croissance de trois pathogènes du riz. De plus, il a été démontré que les différentes composantes de l'huile de l'espèce *O. basilicum* possèdent une activité *in vitro* contre un grand nombre champignons pathogènes (Reuveni *et al.*, 1984). La souche de *F. oxysporum* étudiée présente une sensibilité relativement différente d'un produit à l'autre et suivant son stade de vie. Ainsi, la germination et la sporulation sont relativement plus sensibles au Callicuire que ne l'est la croissance mycélienne. Cela s'expliquerait par les caractéristiques des substances minérales à base de cuivre, inhibiteurs respiratoires, qui ont en commun la propriété d'inhiber la germination des spores des champignons (Pierre, 2003). La bonne efficacité du Banko Plus aux différents cycles de vie de *F. oxysporum* serait inhérente aux propriétés de ses

molécules constitutives : Carbendazime et Chlorotalonil ont une efficacité connue sur un grand nombre de champignons pathogènes dont des Deutéromycètes et des Ascomycètes.

L'huile essentielle de *O. gratissimum* offre une efficacité beaucoup plus grande sur les différents stades de vie de *F. oxysporum* par rapport aux produits de synthèse Callicuire et Banko Plus avec une légère sensibilité de la phase de sporulation. Les constituants de l'huile de *O. gratissimum* agiraient ainsi individuellement ou en association sur ces stades. Il a été montré que certains constituants de l'huile de l'espèce *O. basilicum* agissent indépendamment et différemment sur la croissance mycélienne de *Botrytis fabae* (Oxenham *et al.*, 2005). Cette étude montre que l'huile essentielle extraite de *Ocimum gratissimum* est fongitoxique sur la croissance mycélienne de *Pythium* sp., de même que sur les différents stades de vie de *Fusarium oxysporum*. Elle pourrait remplacer efficacement certains produits de synthèse comme le Callicuire et le Banko Plus. Cette huile semble ainsi avoir un large spectre d'action. L'huile essentielle de *Melaleuca quinquenervia* peut être raisonnablement utilisée sur *F. oxysporum* soit en complément d'un inhibiteur de la sporulation, soit en curatif en raison de son activité relative sur la croissance mycélienne (CI₅₀ = 600 ppm) et/ou en préventif en raison également de son activité sur la germination des spores (CI₅₀ = 535 ppm). La grande sensibilité de la souche de *Pythium* sp., au Callicuire d'une part, et celle de *F. oxysporum* au Banko Plus d'autre part, met en évidence l'intérêt d'un traitement raisonné à travers l'association de produits à des doses bien apprises.

CONCLUSION

Les traitements, effectués *in vivo*, des plants inoculés avec du *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* et du *Pythium* sp. permettent d'avoir globalement une réduction de l'indice de sévérité des deux maladies. Cette activité d'inhibition est toute fois liée au type de traitement utilisé. La relative efficacité des huiles de *Melaleuca quinquenervia* et de *Ocimum gratissimum* sur la réduction de la sensibilité en traitement curatif qu'en traitement préventif confirme leur activité, *in vitro*, sur la croissance mycélienne des deux champignons. Le traitement préventif des plants, avec le Callicuire et

le Banko Plus, s'avère généralement efficace sur ces champignons avec une action plus marquée sur *F. oxysporum*. L'activité des huiles essentielles est plus marquée en traitement curatif qu'en traitement préventif, lié à leur propriété volatile. Par ailleurs, l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum* pourrait donner des résultats probants en plein champ si les propriétés liées à sa fixation sur les organes sont élucidées. Ce travail indique des possibilités d'utiliser les différents fongicides de synthèse et naturel en alternance.

BIBLIOGRAPHIE

- Adam K., Sivropoulou A., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M. (1998) Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential oils against Human pathogenic Fungi. J. Agric. Food Chem., 46:1739-1745.
- Adilson S., Ana Lúcia M., Camila D., Glyn M.F., Marta C.T.D (2004) Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brasil. Brazilian Journal of Microbiology 35:275-280.
- Agrios, G.N. (1988) Plant Pathology, 3rd. ed. Academic Press, Inc.: New York. 803pp.
- Bishop, C. D. et Reagan, J. (1998) Control of the storage pathogen *Botrytis cinerea* on Dutch white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) by the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. Journal of Essential Oil Research 10: 57-60.
- Bye P., Descoins C., Deshayes A. (1991) Phytosanitaire. Protection des Plantes. Biopesticides. 53 p.
- Camara B, Koné D, Kanko C, Anno A P, Aké S (2007) Activité antifongique des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum* L., de *Monodora myristica* (Gaaertn) Dunal et de deux produits de synthèses (Impulse et Folicur), sur la croissance mycélienne et la production de spore *in vitro* de *Deightoniella torulosa* (Syd.) Ellis. Rev. Ivoir. Sci. Technol 09: 187-201
- Caron J. et Laverdière L. (2003) Test d'efficacité de RootShield contre *Pythium* de la tomate de serre du Québec. Rapport final de recherche. 43 p.
- De Waard F, Ramlau R, Mulders Y, De Vries T, Van Waveren S (1993) A feasibility study on weight reduction in obese postmenopausal breast cancer patients. Eur J Cancer Prev. 1993 2 (3) : 233-8.
- Guede-Guina F., Vangah-Manda M., Bonga G.M., De Souza C. (1995) Activité antimicrobienne d'un extrait végétal contre les germes opportunistes au cours du SIDA. Revue méd. et pharm., Afric. 9,(1), 13-19
- Harman, G.E. (1992) Development and benefits of rhizosphere competent fungi for biological control of plant pathogens. J. Plant Nutr. 15 : 835-843.
- Hélène, D. et Joël, H., (1999) Tomate industrielle au Sénégal : Performance de la production et enjeux pour la filière. Com. Sémin. PSI, Dakar. Afr. Agr. 280: 45
- Hezhong, D., Xuekun, Z., Yigal, C., Yu, Z., Xeijiang, L. et Zhenhuai, L. (2005) Dry mycélium of *Penicillium chrysogenum* protects cotton plants against diseases and increases yield under field conditions. Crop Protection. 7 p.
- Jenny, J. (2000) Essential Oil: A new idea for postharvest disease control. Sydney Postharvest Laboratory Sheet. Good Fruit and Vegetables magazine 11(3): 50.
- Khanna R, Johri JK, Srivastava KM, Khanna S. (1991) Screening for alternative biocides amongst plant-based essential oil. Natural Academic Science Lett. 14: 3-6
- Lawrence, G. (1992) Chemical components of Labiatae oils and their exploitation. In: harley RMM, Reynolds T (eds), *Advances in Labiatae-Science*. Kew, UK, Royal Botanic Gardens pp. 399-436.
- Letessier M.P., Svoboda K.P., Walters D.R. (2001) Antifungal activity of the essential oil of hyssop (*Hyssopus officinalis*). J Phytopathol 149:673-678.
- Mandango M.A., Idrissa A., Cakupewa M.M., Mungiele N. (2003) Activité antifongique de quelques plantes traitant des dermatoses à Kinshasa. Revue Méd. Pharm. Afri., Vol. 17
- Maurin G., Patemelle M. C. et Cluzeau S. (1996) Guide pratique de défense des cultures. Reconnaissance des ennemis-Notions de protection des plantes. 5^e édition. Doc. ACTA 431 : 18-31
- Nostro A, Germano M.P., D'Angelo V., Marino A. et Cannatelli M.A. (2000) Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity.
- Oxenham S.K, Svoboda K.P, Walters D. R. (2005) Antifungal Activity of the Essential Oil of Basil (*Ocimum basilicum*). J. Phytopathology 153: 174-180
- Pierre L. (2003) Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes. Biologie et pathologie végétales. C. R. Biologies 326 : 9-21

- Reuveni R, Fleischer A, Putievsky E. (1984) Fungistatic activity of essential oils from *Ocimum basilicum* chemotypes. *Phytopathology* 110: 20-22
- Robert, L. (1979) Cultures légumières et maraîchères. III^e édition. Encyclopédie agricole. Editions J B Baillière.
- Salmond, G. (2003) Diseases ratings: another management tool for cotton growers. <http://www.greenmountpress.com.au/cottongrower/issues/244ascot03/244ascodisease.htm>
- Sippell, D.W., J.G.N. Davidson et R.S. Sada-sivaiah. (1985) *Rhizoctonia* root rot of raspberry in the peace region of Alberta. *Can. J. Plant Pathol.* 7: 184-186.
- Tewari S. N, Najak M. (1991) Activity of four plant leaf extracts against three fungal pathogens of rice. *Trop. Agric.* 68: 373-375
- Zirhi G. N., Kra A. K. M., Guede-Guina F. (2003) Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O. Kuntze (Asteraceae) "Pymi" sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Revue Méd. Pam. Afr.* Vol. 17