

Évaluation des activités antifongiques des extraits de plantes contre *Phytophthora colocasiae*, agent causal du mildiou du taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott)

Tsopmbeng Numbo Gaston^{1,2*}, Megatche christien Jean Pitagor¹, Lienou Jules Appolinaire¹, Yaouba Aoudou¹, Djeugap Fovo Joseph¹ and Fontem Dominic Ajong¹

¹Phytopathology Laboratory, University of Dschang, Box 222 Dschang, Cameroon

²Applied Botany Laboratory, University of Dschang, Box 67 Dschang, Cameroon

*Auteur correspondant Email : grnoumbo@gmail.com

Original submitted in on 30th July 2014. Published online at www.m.elewa.org on 30th September 2014. <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v81i1.2>

RESUME

Objectif : Le mildiou du taro dû à *Phytophthora colocasiae* est l'affection la plus importante de la culture du taro au Cameroun depuis 2010. Cette étude a été réalisée pour évaluer l'activité antifongique des extraits de quatre plantes; (*Laggera pterodonta*), le cyprès (*Cupressus lusitanica*), l'eucalyptus (*Eucalyptus saligna*) et le rince-bouteille (*Callistemon viminalis*) sur la croissance *in vitro* de ce champignon ainsi que sur les fragments des feuilles du taro infectées artificiellement.

Méthodologie et résultats : les plantes ont été utilisées sous forme d'extraits aqueux et méthanoliques aux concentrations respectives de 0,31 ; 0,62 ; 1,25 ; 2,5 et 5,0 mg/ml et de 0,93 ; 1,87 ; 3,75 ; 7,5 et 15 mg/ml. *P. colocasiae*, isolé des feuilles infectées de taro du cultivar « *Macumba ou Ibo coco* » à partir du milieu V8-Agar, a été maintenu en culture pure et une suspension de 5×10^4 sporanges/ml préparée. Des explants de *P. colocasiae* d'environ 4 cm de diamètre ont été déposés dans des boîtes de Pétri stériles contenant le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) supplémenté avec les différentes concentrations d'extraits, et mises en incubation à $23 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant sept jours pour l'évaluation de la croissance radiale. La sensibilité *in vivo* du pathogène aux extraits s'est faite par application de 25 μl de suspension sporangiale de *P. colocasiae* suivie de 25 μl d'extrait. Les résultats obtenus ont montré que les extraits méthanoliques de *C. viminalis* et d'*E. saligna* ont totalement inhibé la croissance de l'agent pathogène à 5 mg/ml tandis que l'extrait aqueux de *C. lusitanica* l'a fait à 15 mg/ml. Les fragments de feuilles inoculés au champignon et ayant reçu l'extrait méthanolique de *C. viminalis* et de *E. saligna* n'ont pas développé les symptômes du mildiou après cinq jours d'inoculation.

Conclusion et application potentielle : Les extraits méthanoliques de *C. lusitanica* et de *C. viminalis* à la dose de 5mg/ml et celui d'*E. saligna* à la concentration de 15mg/ml ont inhibé totalement la croissance radiale de *P. colocasiae* *in vitro*. Ces extraits se sont révélés actifs sur *P. colocasiae* et peuvent donc constituer une alternative pour la lutte contre le mildiou du taro. L'activité de ces extraits était comparable à celle des deux fongicides de référence utilisés ; le Mancozan et le Callomil Plus. Il n'en demeure pas moins que ces extraits bruts renfermeraient un grand nombre de composés différents, qui, une fois purifiés, pourraient présenter une activité même supérieure à celle des fongicides. Ces extraits pourraient donc constituer une alternative dans la lutte contre le mildiou du taro. Cette étude préliminaire constitue une base pour des essais futurs dans les conditions naturelles en serre et sur le terrain.

Mots clés : extraits de plantes, activités antifongiques, *Phytophthora colocasiae*, mildiou du taro.

ABSTRACT

Evaluation of antifungal activities of plant extracts against *Phytophthora colocasiae*, causal agent of late blight of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott)

Objective: Taro leaf blight caused by *Phytophthora colocasiae* is the most devastating disease in taro production in Cameroon since 2010. This study was conducted to evaluate the antifungal activities of extracts from four plants; (*Laggera pterodonta*), cypress (*Cupressus lusitanica*), eucalyptus (*Eucalyptus saligna*) and bottlebrush (*Callistemon viminalis*) on the *in vitro* growth of the fungus as well as on detached taro leaf fragments infected artificially.

Methodology and Results: Aqueous and methanolic extracts of different plant species were prepared and used at concentrations of 0.31, 0.62, 1.25, 2.5 and 5.0 mg / ml and 0.93, 1.87, 3.75, 7.5 and 15 mg/ml respectively. *P. colocasiae* was isolated from infected taro leaf cultivar "Macumba or lbo coco" in V8 agar medium and maintained in pure culture from which a suspension of 5×10^4 sporangia/ml was prepared. Mycelial fragments of *P. colocasiae* of about 4 cm in diameter were cut and placed in sterile Petri dishes containing Potato Dextrose Agar (PDA) medium supplemented with different concentrations of plant extracts and incubated at $23 \pm 1^\circ\text{C}$ for seven days for the evaluation of the radial growth. *In vivo* sensitivity of the pathogen to plant extracts was done by application of 25 μl of sporangial suspension followed by 25 μl of each extract. The results obtained showed that the methanolic extract of *C. viminalis* and *E. saligna* completely inhibited the growth of the pathogen at 5 mg/ml while total inhibition of the pathogen was obtained with aqueous extract of *C. lusitanica* at 15 mg/ml. No symptoms were observed on leaf fragments that received a drop of the fungus and of methanolic extract of *C. viminalis* and *E. saligna* after five days.

Conclusion and potential application: The methanolic extracts of *C. lusitanica* and *C. viminalis* at the concentration of 5mg/ml and that of *E. saligna* at the concentration of 15mg/ml totally inhibited the *in vitro* radial growth of *P. colocasiae* and significantly delayed the development of the disease on leaf fragments. These extracts, active against *P. colocasiae* could be used as alternative to fungicides for the control of taro leaf blight. This activity was comparable to that of the two reference fungicides used; Mancozan and Callomil Plus. These extracts could be used as alternative to fungicides for the control of taro leaf blight. These extracts are still crude and may contain a large number of different compounds, which after purification could present even a better activity than the fungicides used. This preliminary study provides a base line for future trials in natural conditions in greenhouse and in the field.

Keywords: plant extracts, antifungal activities, *Phytophthora colocasiae*, Taro leaf blight

INTRODUCTION

Le taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) (Figure 1a) est un important aliment de base ou de subsistance pour de millions d'habitants dans les pays d'Afrique, d'Asie et d'Amérique Centrale (Irwin *et al.*, 1998; Mishra *et al.*, 2008). Sa production mondiale est estimée à 12 millions de tonnes sur une surface cultivée de 2 millions d'hectares (FAOSTAT, 2011; Scot *et al.* 2011). D'après IITA (2009), 77 % de la production mondiale de taro proviennent de l'Afrique subsaharienne. C'est le quatorzième légume le plus consommé dans le monde (Rao *et al.*, 2010). En 2012, sa production mondiale était estimée à

10 millions de tonnes. Le Cameroun était le quatrième producteur mondial de taro, et le troisième plus grand producteur en Afrique après le Nigéria et la Chine avec une production de 1,6 millions sur les 7 millions de tonnes pour toute l'Afrique (AGRISTAT, 2009; CTA, 2010; FAOSTAT, 2011 ; FAO, 2014). Le taro est cultivé dans toutes les régions du Cameroun pour ses feuilles et tubercules qui possèdent de bonnes qualités nutritives (amidons très digestes, vitamine C). Il occupe une place importante lors des cérémonies traditionnelles chez certaines populations africaines et asiatiques (Lyonga et

Tsompbeng et al. J. Appl. Biosci. 2014. Évaluation des activités antifongiques des extraits de plantes contre *Phytophthora colocasiae*, agent causal du mildiou du taro (*C. esculenta* (L) Schott)

Nzietchueng, 1991; Onwueme, 1999; Caillon, 2005). Les tubercules et les feuilles de taro ont aussi des vertus médicinales contre la tuberculose, les ulcères, les congestions pulmonaires et les infections fongiques (Misra et Sriram, 2002; Binoy et al., 2010). L'amidon très digeste des tubercules fait du taro un excellent aliment pour les diabétiques (Wang, 1983).

Malgré son importance économique, alimentaire et socioculturelle, la culture du taro au Cameroun souffre depuis 2010 d'une maladie épidémique; le mildiou causé par *Phytophthora colocasiae* (Garino, 2010). La maladie affecte principalement

les feuilles du taro (Figure 1b), mais peut détruire complètement les cultivars sensibles en moins de 10 jours et occasionner des pertes de rendements de l'ordre de 50% (Jackson, 1999, Gadre et Joshi, 2003, Fullerton et Tyson, 2004; Brooks, 2005). Le pH 7 et la température de 27°C sont les conditions optimales de croissance de l'agent pathogène (Tsompbeng et al., 2014). Bien que l'impact de cette maladie sur la population reste à évaluer, l'expérience a montré qu'elle pourra affecter de manière remarquable les revenus des paysans et la sécurité alimentaire au Cameroun.

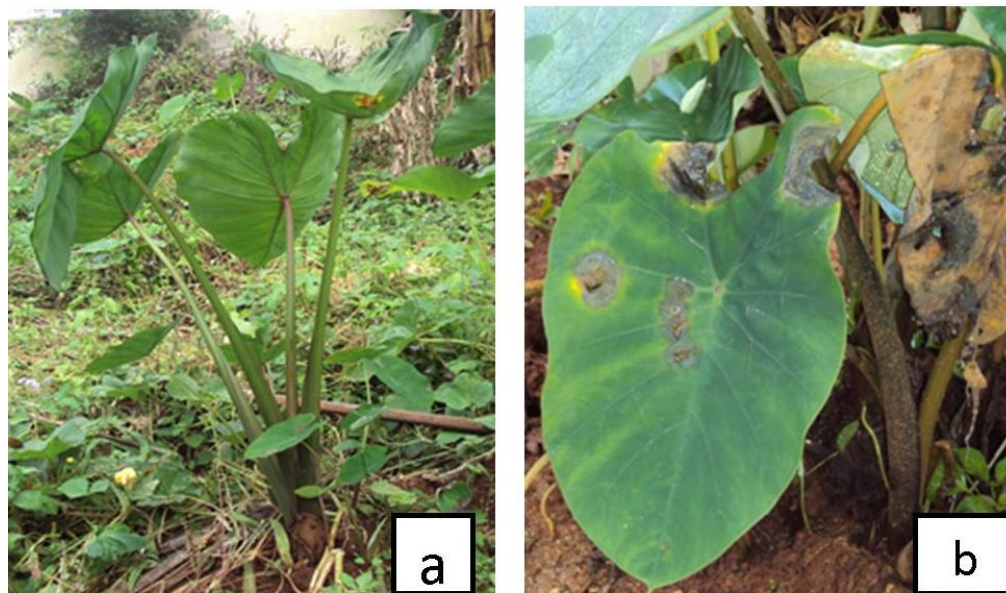


Figure 1 : (a): plant de *Colocasia esculenta*. (b) : plant attaqué présentant les symptômes du mildiou du taro à la surface supérieure de la feuille.

L'utilisation des fongicides chimiques à base de metalaxyl a été préconisée par certains auteurs (Ashok et al., 1996 ; Carmichael et al., 2008) dans la lutte contre les *Phytophthora* spp., mais en raison des problèmes de résidus, de phytotoxicité, du développement des résistances dans l'organisme cible, du coût élevé, de la non disponibilité et du danger pour l'homme et pour l'environnement, les méthodes de lutte alternatives sont de plus en plus envisagées. Actuellement, des efforts considérables sont orientés vers l'exploration des extraits de plantes comme sources alternatives ou complémentaires aux fongicides synthétiques. Les

extraits de plantes ont l'avantage d'être non seulement disponibles à moindre coût pour les paysans, mais aussi non toxiques et facilement biodégradables et donc sains pour l'environnement (Okigbo et Nmeke, 2005 ; Okigbo et Omdamiro, 2006). Plusieurs travaux antérieurs ont montré les effets antifongiques des extraits de plantes sur *Phytophthora infestans*, agent causal du mildiou de la pomme de terre, de la tomate et de la morelle noire (Fontem et al., 2005 ; Goufo et al., 2010; Djeugap et al., 2011), mais aucune information n'est disponible sur l'effet des extraits de plantes sur *P. colocasiae* au Cameroun. C'est

ainsi que le présent travail se propose d'évaluer l'efficacité *in vitro* des extraits aqueux et méthanoliques de quelques plantes sur la

croissance de *P. colocasiae* et de tester la sensibilité de cet agent pathogène aux différents extraits sur les fragments de feuilles de taro.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal et extraction organique et minérale : Les extractions ont été faites à partir des feuilles et fleurs de *Callistemon viminalis*, des feuilles de *Cupressus lusitanica* et *Eucalyptus saligna* et des feuilles et tiges de *Laggera pterodonta*. Les clés de systématique botanique ont été utilisées pour l'identification des espèces (Spichiger *et al.*, 2002) en se référant à la version récente du code international de nomenclature botanique (Greuter *et al.*, 2003). Les différents organes (feuilles, fleurs et tiges) ont été préalablement séchés individuellement dans une étuve à 30°C pendant 10 jours puis broyés de manière à obtenir des poudres. Pour chacune des espèces, 300 g de poudre ont été introduites dans un bocal d'une capacité de 2 litres contenant 1 litre de solvant organique (méthanol) ou minéral (eau). Le mélange obtenu a été régulièrement agité pendant quatre jours puis filtré ; le solvant a été évaporé dans un évaporateur rotatif et l'extrait brut, récupéré au fond du bocal (Ciulei, 1980).

Isolement et purification de *P. colocasiae* : Les feuilles infectées du mildiou du taro du cultivar « *Macumba ou Ibo coco* » ont été collectées dans une parcelle de taro à la ferme d'application et de recherche de l'Université de Dschang, Cameroun et emportées au laboratoire de Phytopathologie. Elles ont été découpées en fragments d'environ 2 mm² au niveau du front de croissance de l'agent pathogène avant d'être désinfectées superficiellement dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5 % pendant 2 min. Après trois rinçages à l'eau distillée stérilisée (EDS), les fragments ont été séchés sur du papier hydrophile puis déposés à raison de quatre fragments par boîte de Pétri sur milieu de culture V₈ gélatinisé supplémenté d'une solution d'antibiotiques composés de pénicilline (250 mg/l), d'ampicilline (250 mg/l) et de nystatine (20 mg/l) (Djeugap *et al.*, 2009, Tsopmbeng *et al.*, 2012). Après trois jours d'incubation au laboratoire à une température de 23±1°C, des colonies du pathogène, visibles autour des fragments ont été prélevées et repiquées dans de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PDA. Ce processus a été répété plusieurs fois jusqu'à l'obtention de cultures pures de *P. colocasiae*, puis identifiées au microscope ordinaire sur la base des caractéristiques morphologiques du mycélium (non septé) et des fructifications (sporangies)

telles que décrites par Brooks (2005) et Scot *et al.* (2011)

Préparation de l'inoculum de *P. colocasiae* : Des cultures pures et fructifères de *P. colocasiae* âgées de 21 jours ont été prudemment broyées à l'aide d'un pinceau fin dans 20 ml d'eau distillée stérile. La suspension sporangiale obtenue a été filtrée à la mousseline pour éliminer les fragments mycéliens. Une goutte de Tween 20 y a été ajoutée pour homogénéiser la suspension des spores qui a par la suite été quantifiée à 5 x 10⁴ sporanges/ml à l'aide d'un hemacytomètre puis conservée à 4°C pendant 30 minutes dans un réfrigérateur pour stimuler la libération des zoospores (Xu et Kho, 1998, Zhu *et al.*, 2001).

Évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des extraits bruts : L'évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des extraits s'est faite aux concentrations de 0,31 ; 0,62 ; 1,25 ; 2,5 et 5 mg/ml pour les extraits méthanoliques et de 0,93 ; 1,87 ; 3,75 ; 7,5 et 15 mg/ml pour les extraits aqueux à partir des solutions mères respectives de 200 et 600 mg/ml. Deux fongicides de synthèse; le Mancozan 80 WP (80% de mancozèbe comme matière active) et le Callomil Plus 72 WP (12 % de métalaxyl et 60% d'oxyde de cuivre comme matières actives) couramment utilisés dans la lutte contre le mildiou ont été utilisés comme témoins positifs. Des explants mycéliens de *P. colocasiae* d'environ 4 mm de diamètre ont été prélevés à l'emporte-pièce sur une culture pure et fructifère âgée de sept jours et placés au centre de la boîte de Pétri. Quatre boîtes ont étéensemencées constituants chacune une répétition. L'incubation a été réalisée à 23±1°C pendant une semaine. Une mesure journalière du diamètre de la croissance radiale de chaque explant mis en culture a été prise et s'est poursuivie jusqu'à ce que le mycélium remplisse les boîtes témoins. La croissance radiale (C) de l'agent pathogène a été exprimée en pourcentage d'inhibition et calculée selon la formule de Dohou *et al.* (2004)

$PI = \frac{(A-B)}{A} \times 100$ où A est le diamètre moyen du mycélium du témoin ; B le diamètre moyen du mycélium en présence de l'extrait ou du fongicide.

Évaluation de l'activité antifongique des extraits sur les fragments de feuilles de taro :

Sur la base des résultats du test *in vitro* des activités antifongiques des différents extraits la concentration de 5mg/ml pour les extraits méthanoliques de *C. viminalis*, de *E. saligna* et de 15 mg/ml pour l'extrait aqueux de *C. lusitanica* ont été sélectionnées pour les tests *in vitro* sur les fragments de feuille. Les feuilles saines récoltées sur des plants âgés de 3 mois ont été lavées, désinfectées dans une solution d'eau de Javel à 5% pendant 2 min, puis rincées deux fois à l'eau distillée stérilisée. Elles ont été découpées en fragments d'environ 8 cm de diamètre et déposées dans des boîtes de Pétri en plastique de 9 cm de diamètre. Un volume de 25 µl d'extrait de concentration 5 mg/ml pour les extraits méthanoliques et 15 mg/ml pour les extraits aqueux a été déposée au préalable sur la face inférieure des fragments foliaires suivie de 25 µl de suspension sporangiale de *P. colocasiae* quantifiée à 5 x10⁴ sporanges/ml. Du coton imbibé d'eau distillée stérilisée a été placée à la base de ces fragments de feuilles pour maintenir l'humidité dans la boîte pendant l'expérience. Les fragments témoins ont reçu 25 µl d'inoculum et 25 µl d'eau distillée stérile

(témoins négatifs) et 25 µl d'inoculum et 25 µl de bouillie fongicide de concentration 0,025 mg/ml (dose recommandée) comme témoins positifs. Après 5 jours d'incubation à 23 ±1°C, la surface des lésions développées sur les fragments a été mesurée en comptant le nombre de carrés couverts par la lésion formée à l'aide du papier millimétré. L'expérience a été rangée dans un dispositif factoriel 4 x 4 (4 extraits x 4 doses) complètement randomisé avec quatre répétitions.

Analyse statistique : Les pourcentages d'inhibition de la croissance radiale du pathogène ont été transformés en probits et les valeurs obtenues ont été régressées sur le logarithme de la concentration des extraits végétaux. L'efficacité des extraits a été évaluée sur la base de la valeur de concentration équivalente de 50% (CE₅₀) et 90% (CE₉₀) déterminées après 8 jours de croissance selon la formule élaborée par Finney (1971). Les données de pourcentages d'inhibition, des CE₅₀, CE₉₀ et de la surface des lésions ont été soumises à une analyse de variance en utilisant le logiciel d'analyse SAS, version 7 et les moyennes séparées par le test multiple de Duncan au seuil de probabilité 5%.

RÉSULTATS

Rendement des extractions : Les extraits à eau ont présenté des rendements plus élevés par rapport aux extraits méthanoliques. Les rendements des extraits aqueux de *C. lusitanica* et *L. pterodonta* ont été respectivement de 21,20 et 18,84 % ; puis de 9,29 % et 8,10% pour les extraits méthanoliques de *C. viminalis*

et d'*E. saligna*. L'extrait méthanolique *E. saligna* a présenté un aspect physique onctueux alors que les trois autres ont été poudreux. Les extraits *C. lusitanica* et *C. viminalis* ont été de couleur verte tandis que de *E. saligna* et *L. pterodonta* ont été respectivement de couleur noir et brun (Tableau 1).

Tableau 1. Rendements et caractéristiques des extraits bruts

Matériel végétal	Organe utilisé	Solvant d'extraction	Rendement (%)	Aspect physique	Couleur
<i>C. viminalis</i>	Feuille et Fleurs	Méthanol	8,10	Poudreux	Verdâtre
<i>C. lusitanica</i>	Feuilles	Eau	21,20	Poudreux	Verdâtre
<i>E. saligna</i>	Feuilles	Méthanol	9,29	Onctueux	Noirâtre
<i>L. pterodonta</i>	Feuilles et Tiges	Eau	18,84	Poudreux	Brunâtre

Effet des extraits végétaux sur la croissance *in vitro* de *P. colocasiae* :

Les extraits de plante testés ont réduit de manière variable la croissance radiale de *P. colocasiae*. Le diamètre de la colonie fongique a diminué avec l'augmentation de la concentration des extraits pour devenir nul aux concentrations les plus élevées. Les extraits méthanoliques de *C. viminalis* et de *E. saligna* ont totalement inhibé la croissance du

pathogène à 5 mg/ml tandis que l'inhibition totale a été obtenue à la concentration de 15 mg/ml pour l'extrait aqueux de *C. lusitanica*. Aucune concentration de *L. pterodonta* n'a inhibé la croissance du champignon. Par contre, dans les boîtes témoins, la croissance de *P. colocasiae* était significativement plus importante par rapport aux différentes concentrations des extraits testés (Figure 2).

Tsopmbeng et al. J. Appl. Biosci. 2014. Évaluation des activités antifongiques des extraits de plantes contre *Phytophthora colocasiae*, agent causal du mildiou du taro (*C. esculenta* (L) Schott)

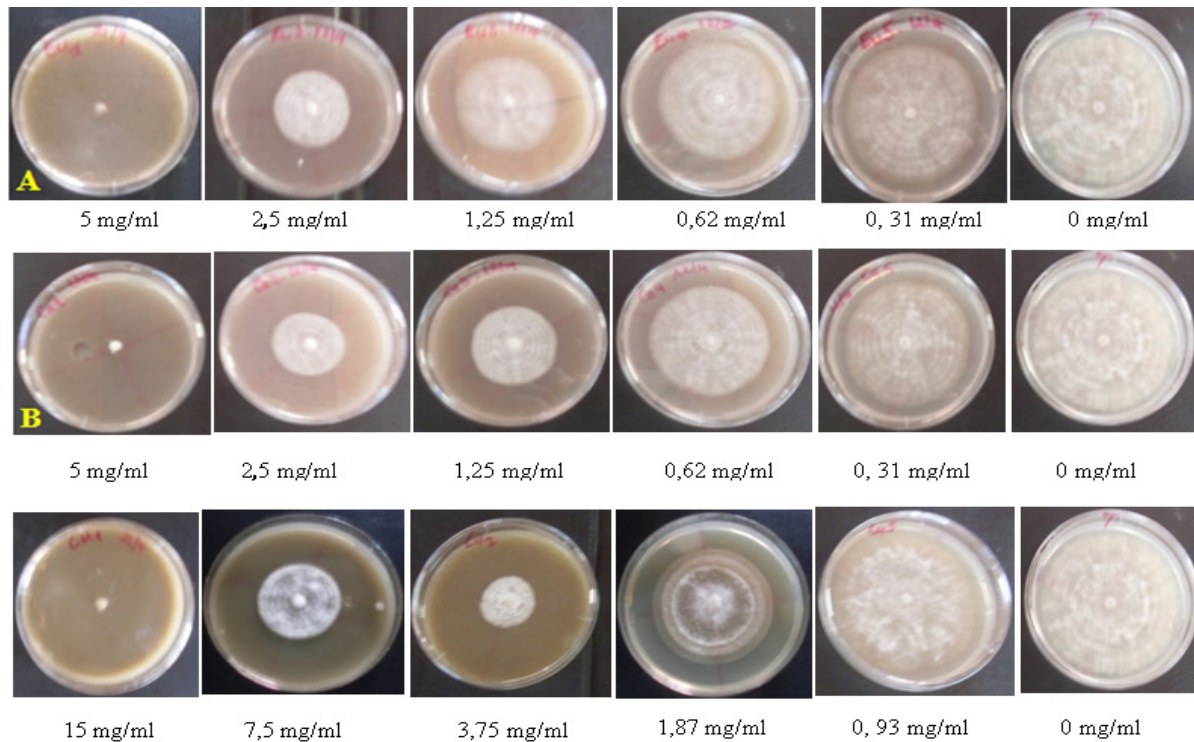


Figure 2. Activité inhibitrice *in vitro* des extraits méthanoliques de *E. saligna* (A) et *C. viminalis* (B) et de l'extrait aqueux de *C. lusitanica* (C) sur la croissance radiale de *P. colocasiae* après 8 jours d'incubation sur milieu PDA.

Pourcentage d'inhibition des extraits : Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de *P. colocasiae* a varié avec l'augmentation de la concentration des extraits aqueux et méthanoliques. Les extraits aqueux de *C. lusitanica* et *L. pterodonta* ont présenté à la plus grande concentration de 15 mg/ml des pourcentages d'inhibition respectifs de 100 et 55,45 %, puis de 12,48 et 9,01 % à la plus petite concentration de 0,93 mg/ml (Tableau 2). Les extraits méthanoliques de *C. viminalis* et d'*E. saligna* ont quant à enregistre un pourcentage d'inhibition de 100% à la

concentration la plus élevée (5 mg/ml) et respectivement de 13,83 et 17,92 % à la plus petite concentration (0,31 mg/ml) (Tableau 3). Il est important de noter que l'inhibition totale de la croissance du pathogène observée à la concentration de 5 mg/ml pour les extraits méthanoliques (*C. viminalis* et *E. saligna*) et de 15 mg/ml pour l'extrait aqueux de *C. lusitanica* a été semblable à celle obtenue avec les fongicides de synthèse à base du Mancozan et du Callomil Plus (Tableau 2 et 3).

Tableau 2 : Pourcentage d'inhibition (%) des extraits aqueux (*Cupressus lusitanica* et *Laggera pterodonta*) et des fongicides de synthèse (Mancozan et Callomil Plus) sur la croissance mycélienne de *P. colocasiae*

Concentration (mg/ml)	Pourcentage d'inhibition (%)	
	<i>Cupressus lusitanica</i>	<i>Laggera pterodonta</i>
0,93	12,48f*	9,01f
1,87	24,01e	18,01e
3,75	52,50c	28,82d
7,50	64,50b	47,76bc
15,00	100a	55,45b
Mancozan 0,02	100a	100a
Callomil Plus 0,02	100a	100a

*Les moyennes sur la même colonne suivies de lettres identiques ne présentent pas de différences significatives selon le Test de Duncan au seuil de probabilité de 5%.

Tsopmbeng et al. J. Appl. Biosci. 2014. Évaluation des activités antifongiques des extraits de plantes contre *Phytophthora colocasiae*, agent causal du mildiou du taro (*C. esculenta* (L) Schott)

Tableau 3 : Pourcentage d'inhibition (%) des extraits méthanoliques (*Callistemon viminalis* et *Eucalyptus saligna*) et fongicides de synthèse (Mancozan et Callomil Plus) sur la croissance mycélienne de *P. colocasiae*

Concentration (mg/ml)	Pourcentage d'inhibition (%)	
	<i>Callistemon viminalis</i>	<i>Eucalyptus saligna</i>
0,31	13,83 ^{e*}	17,92 ^{de}
0,62	25,60 ^d	25,20 ^d
1,25	44,22 ^c	35,84 ^c
2,50	71,44 ^b	44,53 ^b
5,00	100 ^a	100 ^a
Mancozan 0,02	100 ^a	100 ^a
Callomil Plus 0,02	100 ^a	100 ^a

*Les moyennes sur la même colonne suivies de lettres identiques ne présentent pas de différences significatives selon le Test de Duncan au seuil de probabilité de 5%.

Concentrations équivalentes CE₅₀ et CE₉₀ des extraits : Les concentrations équivalentes CE₅₀ et CE₉₀ ont été plus élevées chez les extraits aqueux de *L. pterodonta*, suivi de l'extrait de *C. lusitanica* et faibles

pour les extraits méthanoliques d'*E. saligna* et de *C. viminalis*. Les valeurs les plus faibles ont été obtenues avec les deux fongicides ; le Mancozan et le Callomil Plus (Tableau 4).

Tableau 4. Les valeurs de CE₅₀ et CE₉₀ (µg/ml) sur la croissance mycélienne de *P. colocasiae* en fonction des extraits végétaux et des fongicides de synthèse

Extraits/fongicides de synthèse	CE ₅₀	CE ₉₀
<i>L. pterodonta</i>	54,9 ^{a*}	149,7 ^a
<i>C. lusitanica</i>	31,4 ^b	44,9 ^b
<i>E. saligna</i>	19,8 ^c	29,7 ^c
<i>C. viminalis</i>	18,9 ^c	26,7 ^c
Mancozan	2,7 ^d	3,6 ^d
Callomil Plus	2,6 ^d	3,4 ^d

*Les moyennes dans la colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Duncan à 5%.

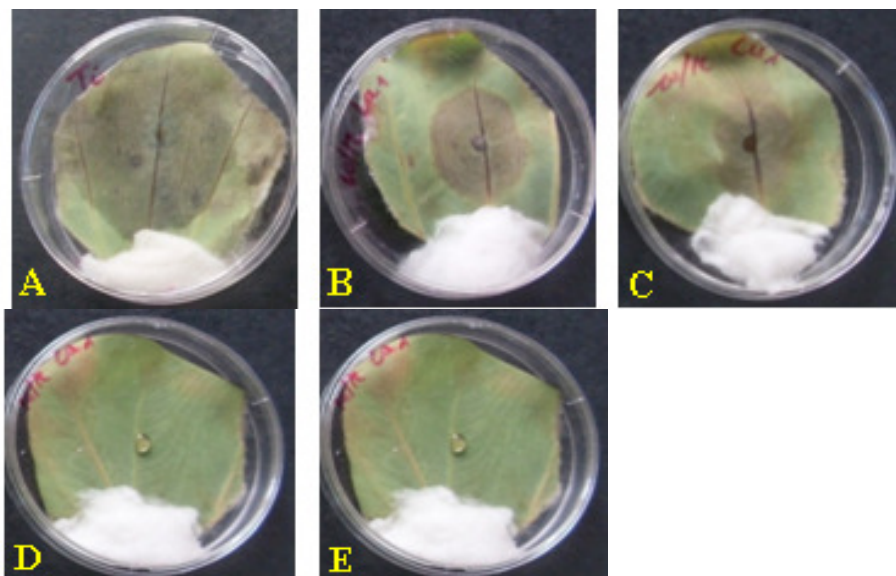


Figure 3 : Effet des extraits aqueux ou méthanoliques sur le développement du mildiou du taro, 5 jours après inoculation des fragments de feuilles ; A : Témoin, B : *L. pterodonta*, C : *C. lusitanica*, D : *C. viminalis* et F : *E. saligna*

Effet des extraits végétaux sur le développement du mildiou sur les fragments de feuilles de taro : Les symptômes du mildiou se sont développés quatre jours après inoculation sur les fragments de feuilles de taro inoculés au *P. colocasiae* et aux extraits de *L. pterodonta* ou de *C. lusitanica*; et deux jours après sur les fragments inoculés et sans aucun extrait. Aucun symptôme n'a été observé sur les fragments de feuilles ayant reçu les fongicides ou les extraits méthanoliques de *C. viminalis* et de *E. saligna* 5 jours après inoculation (Figure 3). Les extraits

méthanoliques (*C. viminalis* et *E. saligna*) ont significativement inhibé le développement du mildiou sur les fragments de feuilles de taro au même titre que les fongicides de synthèse à base du Métalaxyl+Oxyde de Cuivre et de Mancozèbe. Par contre, les fragments de feuilles traités aux extraits aqueux de *C. lusitanica* et de *L. pterodonta* ont présenté des lésions de surface respectives 8,1 et 8,8 cm², lesquelles ont été significativement inférieures ($P < 0,05$) à celles obtenues sur les fragments de feuilles sans extraits et fongicides (19,7 cm²) (Tableau 5).

Tableau 5: Surface des lésions (cm²) formées sur les fragments de feuilles de taro, 5 jours après application de l'inoculum, des extraits végétaux et des fongicides de synthèse

Extraits/fongicides de synthèse	Surface des lésions (cm ²)
Témoin	19,7 ^a
<i>L. pterodonta</i>	8,8 ^b
<i>C. lusitanica</i>	8,1 ^b
<i>E. saligna</i>	0,0 ^c
<i>C. viminalis</i>	0,0 ^c
Mancozan	0,0 ^c
Callomil Plus	0,0 ^c

*Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Duncan à 5%

DISCUSSION

Rendement des extractions : Les rendements d'extraction ont varié d'une espèce végétale à une autre et en fonction des solvants. Cette variation peut être attribuée d'une part aux facteurs extrinsèques de la plante et d'autre part à l'espèce végétale et/ou à l'organe considérée. En effet, Svoboda et Hampson (1999) et Smallfield (2001) rapportent que les conditions environnementales, la période de récolte et l'âge du matériel végétal peuvent influencer sur les rendements d'extraction. De plus, les espèces végétales n'ont pas toutes le même potentiel; certaines familles botaniques offrant des rendements plus élevés que d'autres (Valnet, 1980). La différence de rendement observée entre les extraits aqueux et les extraits méthanoliques pourrait s'expliquer par le fait que le méthanol est un solvant organique qui fixerait plus de composés par rapport à l'eau et augmenterait par conséquent le rendement d'extraction (Ciulei, 1980). En outre, la forte polarité du méthanol permet qu'il soit plus efficace dans l'extraction de nombreux composés (Muhammad et al., 2013).

Effet des extraits végétaux sur la croissance *in vitro* de *P. colocasiae* : Les différents extraits testés ont réduit de manière significative le diamètre des

colonies de *P. colocasiae* par rapport au témoin. Cette réduction a été plus prononcée avec les extraits méthanoliques qu'avec les extraits aqueux. Ces extraits contiendraient des substances qui inhiberaient ou retarderaient la croissance du champignon. En effet, Lhoste et al. (1993), Pamo et al. (2003) et Ling et al. (2003) ont rapporté que les extraits végétaux d'un certain nombre de plantes contiennent des composés tels que les tanins, les flavonoïdes et les alcaloïdes qui sont dotés de propriétés fongicides. Les différentes concentrations d'extraits ont influencé de façon significative la croissance radiale du champignon; les concentrations élevées étant plus inhibitrices. Des résultats semblables sur l'activité antifongique de certains de ces extraits avaient été rapportés par Djeugap et al. (2011) en utilisant les extraits à l'acétone de *C. viminalis* et au méthanol d'*E. saligna* sur *P. infestans*, agent causal du mildiou chez la morelle noire et chez la pomme de terre.

Pourcentage d'inhibition des extraits : Les pourcentages d'inhibition des extraits végétaux sur la croissance du pathogène ont également varié avec l'augmentation des concentrations et de l'espèce végétale utilisée. A des fortes concentrations, les

extraits méthanoliques de *C. viminalis* et d'*E. saligna* et l'extrait aqueux de *C. lusitanica* ont présenté une suppression totale du développement du champignon comme celle obtenue avec l'utilisation des fongicides de synthèse à base du métalaxyl+Oxyde de Cuivre et du mancozèbe. Des résultats semblables sur l'activité antifongique de certains de ces extraits ont été rapportés par Djeugap et al. (2011) sur *P. infestans*, agent causal du mildiou de la morelle noire. Par ailleurs, les extraits méthanoliques ont été plus actifs à de faibles concentrations que les extraits aqueux. Cette différence pourrait être attribuée à une différence de la concentration des composés chimiques lors du processus d'extraction. Selon Bougandoura et Bendimerad (2012), le méthanol permet une meilleure extraction des composés tels que les flavonoïdes et les terpénoïdes qui sont des molécules reconnues pour leur activité antifongique. En outre, l'eau agirait beaucoup plus sur des substances inactives qu'actives, alors que le méthanol plus sélectif agirait plus sur des substances actives contre le pathogène. Cette hypothèse corrobore avec les travaux d'Akhilesh et al. (2010) qui ont rapporté que l'extraction au méthanol était plus efficace sur l'activité antimicrobienne que celle à l'eau. En effet, ces deux extraits *C. viminalis* et d'*E. saligna* ont été rapportés par Srivastava et al. (2003), Enyiukwu et al. (2014) de contenir de l'eucalyptol (1,8-cinéole), dans leur molécule qui est une substance antifongique. En termes des concentrations équivalentes de CE₅₀ et CE₉₀, il ressort

CONCLUSION

L'étude a montré que les extraits de *L. pterodonta*, *C. lusitanica*, *C. viminalis* et d'*E. saligna* ont inhibé la croissance radiale de *P. colocasiae* *in vitro* et retardé de façon significative le développement du mildiou sur les fragments de feuilles après cinq jours. Ces extraits se sont révélés actifs sur *P. colocasiae* et peuvent donc constituer une alternative dans la lutte contre le mildiou du taro. Bien que leur activité ait été comparable à

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les responsables des laboratoires de Phytopathologie et d'Entomologie de l'Université de Dschang qui ont bien voulu mettre à leur

RÉFÉRENCES

Abd-El-Khair H. & Wafaa M.H. 2007. Application of some Egyptian Medicinal Plant Extracts Against Potato Late and early Blights, *Res. J. Agric. Biol. Sci.*, 3(3): 166-175.

également que les extraits méthanoliques sont plus efficaces que les extraits aqueux suggérant ainsi qu'ils sont plus fongitoxiques.

Effet des extraits végétaux sur le développement du mildiou sur les fragments de feuilles de taro :

Les tests sur les fragments de feuilles de taro ont davantage confirmé l'efficacité des extraits méthanoliques sur les extraits aqueux. Aucune lésion n'a été observée 5 jours après inoculation sur des feuilles traitées aux extraits de *C. viminalis* et d'*Eucalyptus*. Ces extraits auraient des propriétés antifongiques similaires aux fongicides de synthèse testés. Quant aux fragments de feuilles traitées aux extraits aqueux, ils ont présenté les lésions quatre jours après inoculation contrairement au témoin où elles ont apparu au deuxième jour. Ceci suggère que les extraits aqueux pourraient réduire la vitesse de développement de la maladie mais sans toutefois l'inhiber complètement. Des résultats similaires sur la période d'incubation du mildiou de la pomme de terre causé par *P. infestans* avaient été obtenus par Goufo et al. (2010), et par Djeugap et al. (2011) sur le mildiou de la morelle noire avec les extraits de ces deux plantes respectivement sur la pomme de terre et la morelle noire en serre. Par contre, les extraits méthanoliques auraient inhibé le développement de la maladie en supprimant totalement la germination des spores du pathogène d'où l'absence totale des symptômes plusieurs jours après inoculation.

celle des deux fongicides de référence ; le Mancozan 80 WP et le Callomil Plus 72 WP, il n'en demeure pas moins que ces extraits bruts refermeraient un grand nombre de composés différents qui, une fois purifiés, présenteraient une activité supérieure à celle des fongicides. Cette étude préliminaire constitue une base pour des essais futurs dans les conditions naturelles en serre et en champ.

disposition les équipements nécessaires pour la réalisation de ce travail.

AGRISTAT. 2009. Annuaire des statistiques sur secteur agricole, Campagnes 2006 à 2007. Ministère de l'agriculture et du développement rural. Yaoundé, Cameroun. 100 p.

Tsopmbeng et al. J. Appl. Biosci. 2014. Évaluation des activités antifongiques des extraits de plantes contre *Phytophthora colocasiae*, agent causal du mildiou du taro (*C. esculenta* (L) Schott)

- Akhilesh D., Neeraj M. & Neha S. 2010. Antimicrobial Activity of Some Selected Vegetables. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*1(3): 994-999.
- Ashok B. & Saikia U.N. 1996. Fungicidal management of leaf blight of *Colocasia*. *International Journal of Tropical Agriculture*14(4): 231-233.
- Binoy B., Vinayaka H., Makesh Kumar T. & Jeeva M.L. 2010. Rapid Detection and Identification of Potyvirus Infecting *Colocasia esculenta* (L.) Schott by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction. *Journal of Root Crops* 36 (1): 88-94.
- Bougandoura N., Bendimerad N. 2012. Effet antifongiques des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp (Nepeta) briq. *Revue des Bio Ressources* 2 : 1-7
- Brooks F.E. 2005. Taro leaf blight. The Plant Health Instructor. <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Oomycetes/Pages/TaroLeafBlight.aspx> Site visité le 15 novembre 2011.
- Caillon S. 2005. Les taros du Vanuatu: que conserver et comment? *Natures Sciences Sociétés* 13: 306-310.
- Carmichael A., Harding R., Jackson G., Kumar S., Lal S.N., Masamdu R., Wright J. & Clarke A.R. 2008. *Taro Pest: an illustrated guide to pests and diseases of taro in the South Pacific*. ACIAR Monograph No. 132, 76 p.
- Ciulei I. 1980. *Methodology for Analysis of Vegetable Drugs*. Practical Manuals on the industrial utilization of medicinal and aromatic plants. Arta Grafica, Bucharest, Romania. 420 p.
- CTA (Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale) 2010. Guide d'exportation pour les plantes à racines et tubercules en Afrique de l'Ouest et du Centre. Dakar, Sénégal. 32 p.
- Djeugap J.F., Fontem D.A. & Tapondjou A.L. 2009. Évaluation des milieux de culture pour la croissance de *Phytophthora infestans*, agent causal du mildiou chez la morelle noire. *Biosciences Proceedings* 15: 85-92.
- Djeugap J.F., Fontem D.A. & Tapondjou A.L. 2011. Efficacité *in vitro* et *in vivo* des extraits de plantes contre le mildiou (*Phytophthora infestans*) de la morelle noire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(6) : 2205-2213.
- Dohou N., Yamani K., Badoc, A & Douira, A., 2004. Activité antifongique d'extraits de *Thymelea lythroides* sur trois champignons du riz. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 143: 31-38.
- Enyiukwu D. N., Awurum A. N., Ononuju C. C. & Nwaneri J. A. 2014. Significance of characterization of secondary metabolites from extracts of higher plants in plant disease management. *Int. J. Adv. Agric. Res.* 2: 8-28
- FAOSTAT. 2011. FAO Economic and Social Department. The Statistics Division. Major Food and Agricultural Commodities and Producers. <http://faostat.fao.org/default.aspx>, visited 23 September 2011.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2014) Production de taro, Base de données. www.fao.org, Accessed on 05 March 2014.
- Finney D.F. 1971. *Probit Analysis* (3rd ed.).University Press: Cambridge.
- Fontem D.A., Tamokou J.D.D., Teugwa M.C., Tapondjou A.L. & Gumezoe M.Y.D. 2005. Évaluation de la bioefficacité des extraits végétaux sur la croissance *in vitro* de *Phytophthora infestans*, agent causal du mildiou des Solanacées. Pp. 123-125. In: *Recueil des Communications Orales de la IX^e Journée Scientifique du Réseau Biotechnologies Végétales*, 4-7 octobre 2005. Lomé, Togo.
- Fullerton R.A. & Tyson J.L. 2004. The biology of *Phytophthora colocasiae* and implications for its management and control. Pp. 107-111. In: Secretariat of the Pacific Community (Ed.). *Third Taro Symposium*, 2003. Nadi, Fiji Islands.
- Gadre U.A. & Joshi M.S. 2003. Influence of weather factors on the incidence of leaf blight of *Colocasia*. *Plant Protection Science*11: 168-170.
- Goufo P., Fontem D.A. & Ngnokam D. 2010. Evaluation of plant extracts for tomato late blight control in Cameroon. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 38: 171-176.
- Greuter W., McNeill J., Barrie F.R., Burdet H.M., Demoulin V., Filgueiras T.S., Nicolson D.H., Silva P.C., Skog J.E., Trehane P., Turland N.J. & Hawksworth D.L. 2003. *International Code of Botanical Nomenclature (St. Louis Code)*. Adopted by the XVth International Botanical Congress St Louis. Koeltz Scientific Books: Königstein.

- Irwin S.V., Kaufusi P., Banks K., De la Penã R. & Cho J.J. 1998. Molecular characterization of taro (*Colocasia esculenta*) using RAPD markers. *Euphytica* 99:183–189.
- IITA 2009. Root and Tuber systems. <http://www.iita.org/cms/articlefiles/2009>, visited 15 November 2011.
- Jackson G.V.H. 1999. Taro leaf blight. Pest Advisory Leaflet 3. Plant Protection Service of the Secretariat of the Pacific Community. 2 p.
- Lhoste P., Dolle V., Rousseau J. & Soltner D. 1993. *Manuel de Zootechnie des régions chaudes. Les systèmes d'élevage. Collection précis d'élevage.* Ministère de la Coopération, Paris, France. 288 p.
- Ling B., Zhang M., Kong C., Pang X. & Liang G. 2003. Chemical composition of volatile oil from *Chromolaena odorata* and its effect on plant, fungi and insect growth. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao.* 14(5): 744-6.
- Lyonga S. N. & Nzietchueng S. 1991. Les taros et la crise alimentaire en Afrique. In: racines tropicales: Les plantes-racines et la crise alimentaire en Afrique. Compte rendu du troisième symposium triennal sur les plantes-racines de la société internationale pour les plantes-racines tropicales-Direction Afrique, du 17 au 23 aout 1986. E. R. Terry, M. O. Akoroda et O. B. Arene(Eds), Oweri, Nigeria, pp. 104-110.
- Misra R.S. & Sriram S. 2002. Medicinal value and export potential of tropical tuber crops. Pp. 376-386. In: Govil J.N., Pandey J., Shivkumar B.G. & Singh V.K. (Eds.). *Series Recent Progress in Medicinal Plants, Crop Improvement, Production Technology and Commerce.* USA.
- Mishra A.K., Sharma K. & Misra R.S. 2008. Effect of benzyl amino purine on the pathogen growth and disease development of taro leaf blight caused by *Phytophthora colocasiae*. *Journal of Plant Pathology* 90(2), 191-196.
- Muhammad Z., Sadia H., Komal R., Nasir R., Muhammad R., Zia-Ul-Haq M. & Vincenzo D. F. 2013. Antioxidant Potential and Oil Composition of *Callistemon viminalis* Leaves. *Scientific World Journal.* Published online 2013 February 28. doi: 10.1155/2013/489071
- Okigbo, R.N. & Nmeko I.N. 2005. Control of Yam tuber rot with leaf Extracts of *Xylopiã aethiõpica* and *Zingiber officinale*. *Afr. J. Biotechnology* 4(8): 804-807.
- Okigbo R.N. & Omodamiro O.D. 2006. Antimicrobial effect of leaf extract of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L) Mill sp) on some human pathogen. *J. Herbs, spices and Med. Plants* 12 (1/2); 117-127
- Onwueme I. 1999. Taro cultivation in Asia and the Pacific. Food and Agriculture. Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific. Bangkok, Thailand. 15 p.
- Pamo T.E., Tapondjou L., Tendonkeng F., Nzogang J.F., Djoukeng J., Ngandeu F. & Kana J.R. 2003. Effet des huiles essentielles des feuilles et des extrémités fleuries de *Cupressus lusitanica* sur la tique (*Rhipicephalus lunulatus*) à l'Ouest-Cameroun. *Revue de l'Académie des Sciences du Cameroun*3(3): 169-175.
- Scot N., Brooks F.E. & Glenn T. 2011. Taro Leaf Blight in Hawai'i. University of Hawai'i at Mānoa, *Plant Disease* 71: 1-14.
- Smallfield B. 2001. Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research* (45): 1-4.
- Spichiger R., Savolainene V., Figeat M. & Jeanmonod D. 2002. Botanique systématique des plantes à fleurs. Presses polytechniques et universitaires romandes.
- Srivastava, S. K., Ahmad, A., Syamsunder, K. V., Aggarwal, K. K. & Khanuja, S. P. S. 2003 Essential oil composition of *Callistemon viminalis* leaves from India. *Flavour and Fragrance Journal*, 18, 361 - 363.
- Svoboda K.P. & Hampson J.B. 1999. *Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities.* Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK.
- Tsopmbeng G.R., Fontem D.A. & Yamdé K.F. 2012. Evaluation of culture media for growth and sporulation of *Phytophthora colocasiae* Racib., causal agent of taro blight. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(4): 1566-1573.
- Tsopmbeng G.R., Lienou J.A., Megaptche C.J.P. & Fontem D.A. 2014. Effet of pH and temperature levels on *in vitro* growth and sporulation of *Phytophthora colocasiae*, taro leaf blight pathogen. *International Journal of*

Tsopmbeng et al. J. Appl. Biosci. 2014. Évaluation des activités antifongiques des extraits de plantes contre *Phytophthora colocasiae*, agent causal du mildiou du taro(*C. esculenta* (L) Schott)

- Agronomy and Agricultural Research* 4(4): 202-206.
- Valnet J. 1980. *Aromathérapie : Traitement des Maladies par les Essences des Plantes*. 9^e Ed. Maloine. 510 p.
- Wang J. 1983. Taro: a review of *Colocasia esculenta* and its potentials. University of Hawaii Press. Honolulu, Hawaii 400 p.
- Xu X.L. & Ko W.H. 1998. A quantitative confined inoculation method for studies of pathogenicity of fungi on plants. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 39: 187-190.
- Zhu J., Zhang Z. & Yang Z. 2001. General research methods on pathogen of potato late blight (*Phytophthora infestans*). *Journal of Agriculture Sciences* 24: 112-114.