



Formulation d'un biofongicide à partir d'extraits de *Terminalia superba* et *Terminalia ivorensis* et évaluation de son activité antifongique *in vitro* et *in vivo* sur *Phytophthora capsici* et *Fusarium oxysporum*

Original submitted in on 18th November 2019. Published online at www.m.elewa.org/journals/ on 29th February 2020
<https://doi.org/10.35759/JABs.v146.3>

RESUME

Objectif : Proposer des solutions alternatives à l'usage des fongicides de synthèses basées sur l'utilisation des produits naturels «biofongicide».

Méthode et résultats : La méthode de double dilution de suite géométrique de raison $\frac{1}{2}$ sur milieu PDA a été utilisée pour évaluer le potentiel antifongique des extraits aqueux et éthanoliques de *Terminalia ivorensis* (Framiré) et *Terminalia superba* (Fraké), sur *Phytophthora capsici* et *Fusarium oxysporum*. Les tests de sensibilités fongiques réalisés avec les extraits éthanoliques poudreux d'écorce de *Terminalia ivorensis*, des feuilles de *Terminalia superba* et celles de la fusion des deux extraits (T24) ont montré sur les souches *Phytophthora capsici* et *Fusarium oxysporum* des sensibilités différentes. Cependant, les extraits ont été fongicide à 3,12 mg/ml pour T24 et 6,25 mg/ml pour les extraits éthanoliques d'écorce de *Terminalia ivorensis* et celle des feuilles de *Terminalia superba* sur *Phytophthora capsici* et *Fusarium oxysporum*. Les extraits n'ont pas été toxiques à l'administration en une seule dose et par voie orale à 5 000 mg / kg de poids corporel sur *Rattus norvegicus* (Muridae) de la souche WISTAR. La formulation de biofongicide T24 utilisée sur trois cultivares de *Capsicum annum* L. en culture sous abri s'est montrée efficace.

Conclusion : Cette étude concourait à estimer le potentiel offert par l'intégration d'extraits végétaux aux méthodes de lutte contre les phytopathogènes.

Mots clés : antifongique, ethnobotanique, sensibilités, toxiques, biofongicide, formulation

ABSTRACT

Objective: To propose alternative solutions to the use of synthetic fungicides based on the use of natural "biofungicide" products.

Method and results: The double dilution method with a geometric sequence of $\frac{1}{2}$ on PDA medium was used to evaluate the antifungal potential of the aqueous and ethanolic extracts of *Terminalia ivorensis* (Framiré) and *Terminalia superba* (Fraké), on *Phytophthora capsici* and *Fusarium oxysporum*. The fungal susceptibility tests carried out with the ethanolic powdery extracts of *Terminalia ivorensis* bark, leaves of *Terminalia superba* and those of the fusion of the two extracts (T24) showed on the strains *Phytophthora capsici* and *Fusarium oxysporum* different sensitivities. However, the extracts were fungicidal at 3.12 mg / ml for T24 and 6.25 mg / ml for the ethanolic extracts of the bark of *Terminalia ivorensis* and that of the leaves of *Terminalia superba* on *Phytophthora capsici* and *Fusarium oxysporum*. The extracts were not toxic when administered in a single dose orally at 5,000 mg / kg body weight on *Rattus norvegicus* (Muridae) of the Wistar strain. The T24 biofungicide formulation used on three cultivars of *Capsicum annum* L under cover cultivation has been shown to be effective.

Conclusion: This study helped to estimate the potential offered by the integration of plant extracts into methods of controlling phytopathogens.

Keywords: antifungal, ethnobotany, sensitivities, toxic, biofungicide, formulation.

INTRODUCTION

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, près de 25% des denrées alimentaires sont éliminées chaque année suite à leur contamination par les mycotoxines, ce qui est équivalent à 1 milliard de tonnes d'aliments perdus, Cependant, l'emploi intensif des fongicides synthétiques peut conduire à une contamination de la biosphère et du réseau trophique ; ainsi qu'à une éradication des espèces non-ciblées et l'apparition d'espèces fongiques résistantes (Mukendi, 2010). Par conséquent, la recherche des méthodes alternatives à l'utilisation des fongicides de synthèse répondant aux exigences d'ordre économique, écologique et toxicologique s'inscrivant dans le contexte de la protection de la biosphère s'avère nécessaire. A l'heure actuelle, des nouvelles stratégies prometteuses impliquant des méthodes de biotechnologie modernes sont à l'étude

(Amézqueta *et al.*, 2009). Notamment, l'utilisation des composés organiques comme fongicides d'origine naturelle pour le contrôle des agents pathogènes des plantes (Tripathi et Dubey, 2004). Certaines plantes de la famille des Combretaceae ont des concentrations élevées en flavonoïdes, terpénoïdes, tanins ou de composés polyphénoliques. Ces composés sont connus pour leur activité antimicrobienne *in vitro* (Adigun *et al.*, 2000 ; Mann *et al.*, 2008). En conséquence, la présente étude se propose d'évaluer le potentiel fongicide de deux espèces de plantes de la famille des Combretaceae (*Terminalia superba* et *Terminalia ivorensis*) utilisées dans le Département d'Abengourou dans le traitement des maladies de la peau contre deux souches de champignons phytopathogènes (*Phytophthora capsici* et *Fusarium oxysporum*).

MATERIEL

Matériel végétal : *Terminalia ivorensis* A.Chev. (1958) et *Terminalia superba* Engl. & Diels. L'écorce de son tronc et les feuilles de ces plantes ont été récoltées dans le Département d'Abengourou en Mars 2018 et

identifier au Centre National de Floristique de l'Université Félix Houphouët Boigny de Côte d'Ivoire. (Figure 2).



Figure 1 : Rameau feuillé du Framiré *Terminalia ivorensis* A.Chev.



Figure 2 : Rameau feuillé du Fraké *Terminalia superba* Engl. & Diels.

Matériel d'étude pour les activités antifongiques

Matériel biologique : Les champignons phytopathogènes utilisés, sont représentés par deux souches (*Phytophthora capsici* et *Fusarium oxysporum*). Ces souches proviennent du Laboratoire de Phytopathologie et Biologie Végétale et du Laboratoire de Biotechnologie Végétale et Microbiologie Environnementale. Ces deux Laboratoires appartiennent à l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire).

Matériel pour les tests de toxicité orale aiguë : La matière animale est constituée de la souche WISTAR de rats *Rattus norvegicus* (Muridae). Ces rats femelles âgés de 6 à 8 semaines sont nullipares et non gravides avec un poids compris entre 140 et 160 g, utilisés pour les tests de toxicité orale aiguë. Les animaux provenant de la fabrique d'animaux de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) d'Abidjan (Côte d'Ivoire) ont été acclimatés au moins 5 jours avant le début de l'expérience.

METHODE

Etude des propriétés antifongiques

Méthode de préparation des extraits : Les organes des plantes sélectionnées ont été récoltés. Après nettoyage pour les débarrasser de toute impureté, ces organes ont été découpés et séchés séparément selon les espèces à l'ombre, à la température ambiante et à l'abri de l'humidité pendant deux semaines. Après séchage, elles ont été rendues en poudre fine grâce à un broyeur électrique de type IKA Labortechnik. La fine poudre (broyat) a subi une extraction selon la méthode de Zirihi *et al.* (2003). Ainsi, 100 g de broyat ont été macérés dans 1 L d'eau distillée à l'aide d'un mixer (Blender) pendant trois fois 3 minutes. L'homogénéat obtenu a été d'abord essoré dans un carré de tissu,

Matériel pour les tests en culture sous abri :

L'évaluation *in vivo* de l'activité antifongique des substances naturelles d'origine végétale s'est effectuée sur trois cultivars de piment. Il s'agit de variétés recommandées pour les cultures en zone tropicale. La variété BIG SUN (*Capsicum chinense*) à croissance déterminée, cultivable sans tuteur a été utilisée de même que *Capsicum annum* (variété GOLIATH) et la variété SAFI (*Capsicum chinense*). Ces différentes variétés de piments ont été achetées à Semivoire à Abidjan (Côte d'Ivoire). Les essais biologiques ont été réalisés avec trois différents extraits :

- Des extraits éthanoliques poudreux d'écorce de *Terminalia ivorensis* ;
- Des extraits éthanoliques poudreux de feuilles de *Terminalia superba* ;

Formulation (T24) : Ces extraits poudreux ont été émulsionnés dans de l'eau distillée.

puis filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre Wathman 3 mm. Le filtrat recueilli, a été évaporé à l'étuve à 50 °C. Le solvant sera évaporé et l'évaporat sera récupéré sous forme de poudre au fond du bocal (Ciulei, 1980). Cette poudre constitue l'extrait total aqueux de couleur marron foncé noté ETA. L'extrait éthanolique a été réalisé par fractionnement de l'extrait aqueux Zirihi *et al.* (2003), ainsi décrite : 10 g d'ETA ont été dissouts dans 200 ml de solution hydro-alcoolique (70 % éthanol et 30 % eau distillée). On obtient une phase supérieure liquide alcoolique et un résidu qui se dépose dans le fond de l'ampoule à décanter. La phase liquide alcoolique obtenue est recueillie, réduite et séché à

l'étuve à 50 °C ; c'est l'extrait éthanolique noté (ETE). Ils ont été conservés au réfrigérateur à 6 °C.

Formulation du T24 : La mise au point de notre biofongicide T24 s'est faite de la manière suivante : une fusion de 5g de chaque extrait aqueux ETA de *Terminalia ivorensis* et de *Terminalia superba* sélectionné sur la base de leur efficacité *in vitro* sur les

deux souches. Au total, 10g d'extraits ont été dissouts dans 200 ml de solution hydro-alcoolique (70 % éthanol et 30 % eau distillée). On obtient une phase supérieure liquide alcoolique et un résidu qui se dépose dans le fond de l'ampoule à décanter (Figure 3). La phase liquide alcoolique recueillie, réduite et séché à l'étuve à 50 °C constitue l'extrait à la base de la formulation T24.

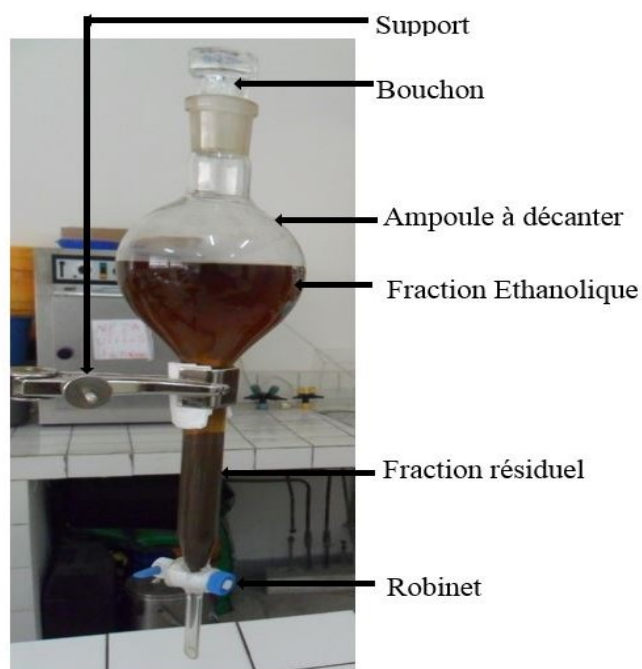


Figure : 3 Dispositif de séparation dans une ampoule à décanter

Préparation du milieu de culture

Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) pour la culture des phytopathogènes : Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) a été utilisé pour la culture des champignons. Il est composé de 20 g d'Agar, 20 g de purée de pomme de terre et de 20 g de saccharose pour 1L d'eau distillée. Les milieux ont été préparés dans huit erlenmeyers, et stérilisés à l'autoclave à 120 °C pendant 20 min. L'incorporation des différents extraits végétaux au milieu PDA avant sa solidification à (40-50 °C) a été fait selon la méthode de la double dilution de liaison géométrique de raison $\frac{1}{2}$ (Zirhi *et al.*, 2003 ; Ahon *et al.*, 2011) réalisée de la manière suivante : Deux g d'extrait végétal ont été dilués dans 40 mL de PDA de l'erlenmeyer (n° 1) . Ce mélange a été homogénéisé par un agitateur magnétique (IKAMAG-RCT). La moitié du volume de ce mélange homogène est transférée dans 20 mL de PDA de

l'erlenmeyer n° 2 et homogénéisée. Cette opération est reprise avec l'erlenmeyer n° 3, et ainsi de suite jusqu'à l'erlenmeyer n° 8. A la fin de cette opération, c'est-à-dire à l'erlenmeyer n° 8, la moitié du volume du mélange est rejetée.

Réalisation *in vitro* des tests d'activités antifongiques : Une fois la gélose solidifiée sous la hotte, les tests antifongiques ont été réalisés par la suite, un explant de 6 mm de diamètre de chaque champignon âgé de 7 jours, a été prélevé au niveau du front de croissance du champignon dans la boîte de culture. L'explant a été placé au centre géométrique de la boîte de Pétri sur le milieu PDA. Les boîtes de Pétri ensemencées, ont été scellées avec du film adhésif et mises en incubation à l'étuve à 25 ± 2 °C pendant 8 jours.

Mesure de la croissance radiale des champignons ensemencés : La mesure de la croissance radiale

moyenne du mycélium des différentes souches fongiques a été effectuée quotidiennement. Elle a été réalisée en millimètre à partir de deux axes perpendiculaires tracés au revers de la boîte de Pétri. Les diamètres du mycélium ont été mesurés jusqu'à ce que dans les lots témoins, les filaments mycéliens atteignent la périphérie de la boîte de Pétri. C'est au septième jour que la prise de mesure a été arrêtée afin de suivre l'évolution du mycélium en fonction de la concentration et comparativement au témoin.

$$T (\%) = \frac{(D - d)}{D} \times 100$$

Ces mesures ont permis de déterminer les concentrations inhibitrices de l'extrait végétal. Le taux d'inhibition de la croissance radiale mycélienne a été calculé selon la formule de Leroux et Credet (1978).

T : taux d'inhibition

D : croissance mycélienne dans les boîtes témoins

d : croissance mycélienne dans les boîtes essais

Biotest en culture de (*Capsicum annuum* L.) sous abri : Le choix des extraits de plantes utilisés dans cet essai a été basé sur leur efficacité observée *in vitro*. Ce biotest a été conduit selon la méthode d'expérimentation sous serre en blocs de Fisher. La multiplication des champignons en vue de produire l'inoculum. La préparation des plants à inoculer après avoir effectué les pépinières en faisant germer les graines des différents cultivars de (*Capsicum annuum* L.) dans des bacs contenant un substrat de culture préalablement stérilisé par autoclavage à 121 °C pendant 30 min sous une pression de 1,5 bar. Les plants obtenus en 2 semaines ont été transplantés dans des pots de 500 cm³ contenant un substrat de culture constitué de 25 p.c. de fumier de fermier bien décomposé et 75 p.c. de sol. Les extraits de plantes qui ont été émulsionnés dans de l'eau distillée. La solution (solvant + extraits) a été pulvérisée sur les parties aériennes de plants inoculés ainsi que ceux non inoculés de (*Capsicum annuum* L.) à l'aide d'un pulvérisateur manuel. Les plants âgés de 8 semaines

ont été déportés, nettoyés et la mesure du poids secs ; aériens et racinaires a été effectuée.

Mesure des paramètres de croissance : Deux paramètres de croissance (hauteur, diamètre) ont été évalués sur les plants de (*Capsicum annuum* L.) du stade 2 feuilles jusqu'à 8 semaines de croissance.

La hauteur a été mesurée avec un double décimètre depuis le collet jusqu'à la cime de la plante.

Paramètres de développement : Les paramètres de développement (indice de mortalité, biomasse) ont été mesurés simultanément avec les paramètres de croissance sur les mêmes plants de (*Capsicum annuum* L.). La matière sèche racinaire et foliaire a été mesurée 2 jours après le séchage à 45 °C à l'étuve sur une balance électrique de marque (Sauter 1000) de précision 10-1g

Méthodes statistiques d'analyse des données : Les tests de comparaisons sont utilisés pour mettre en évidence des relations entre variables explicatives et variables à expliquer (Alignier, 2011). Elles visent à décrire les caractéristiques de distribution d'une variable grâce à ses paramètres de position (moyenne, médiane) et de dispersion (écart-type, quartiles, valeur minimale et maximale, etc.).

Etude de la toxicité orale aiguë : Cette étude a été menée conformément à la directive 423 de l'OCDE (2001). Deux lots de trois rats femelles ont été formés. La veille du début du traitement, le lot 1 recevait 1 ml / 100 g de poids vif d'eau distillée. En raison de l'indication de la faible toxicité de la substance, le lot 2 a reçu la dose initiale de 5 000 mg / kg de poids corporel par voie orale à travers une sonde gastrique. Suite à la dose unique du T24, les animaux ont été placés dans des cages individuelles pour observation. Les observations ont été effectuées après 30 minutes, 4 heures, 24 heures, une semaine et deux semaines. Pendant le traitement, les animaux ont été pesés tous les deux jours à la même heure.

Le criblage phytochimique : Une analyse chimique basée sur des réactions de coloration et de précipitation. Elle est effectuée sur des échantillons d'extraits végétaux selon la méthodologie utilisée par Ackah (2009).

RESULTATS

Rendements :

Tableau 1 : Rendements des extraits aqueux et éthanoliques de feuilles et écorces de *Terminalia superba* Engl. & Diels. et *Terminalia ivorensis* A. Chev.

	<i>Terminalia ivorensis</i>				<i>Terminalia ivorensis</i>				T24
	ETA F	ETA E	ETE F	ETE E	ETA F	ETA E	ETE F	ETE E	ETE
Rendements en %	22,13%	17,81%	59,53%	53,95%	24,81%	12,04%	61,60%	57,46%	67,46%

ETA : Extrait aqueux, ETE : Extrait éthanolique, F : Feuilles, E : Ecorce.

Comparaison des paramètres des extraits les plus actifs (TS.E.f.FO et TI.E.é.PC.) avec le biofongicide (T24) et Mancozan 80 WP sur *phytophthora capsici* et *Fusarium oxysporum* : L'analyse de l'ensemble des résultats sur les souches étudiées a montré que les valeurs des paramètres antifongiques obtenues avec les différents extraits de plantes pris séparément ont été moins actifs que la formulation T24. Il ressorti des valeurs de CMF obtenues que le Mancozan 80 WP était quatre (4) fois plus actif que le T24 et huit (8) fois plus actif que TS.E.f.FO sur *Fusarium oxysporum*. Cependant, sur *phytophthora capsici* Mancozan 80 WP était huit (8) fois plus actif que le T24 et seize (16) fois plus actif que TI.E.é.PC (Tableau 2 et Figure 4).

Toxicité orale aiguë : Les effets de l'administration orale de l'extrait du T24 ont été évalués à travers le comportement et le gain de poids des animaux. Ainsi, pendant 14 jours de traitement, aucun changement de comportement n'a été observé quelle que soit la dose

d'extrait administrée. Au cours des 14 jours de traitement avec l'extrait de plante à la dose de 5000 mg/kg de poids corporel, les observations des rats immédiatement après le gavage n'ont montré aucun syndrome d'intoxication ni de mort.

Mise en évidence *in vivo* chez le piment de la pathogénicité des champignons : Avec l'analyse des paramètres de croissance évalués sur trois variétés de piment (Goliath, Big Sun et Safi), la pathogénicité des deux souches fongiques s'est exprimée selon le cultivar, l'inoculum apporté et le traitement subit par le plant de piment. La souche de *phytophthora capsici* a semblé être la plus virulente sur les paramètres évalués. Son l'inoculation aux plants des trois cultivares de piment a plus ou moins suscité la réduction de leur croissance ainsi que leur développement (Tableau 4 et 5).

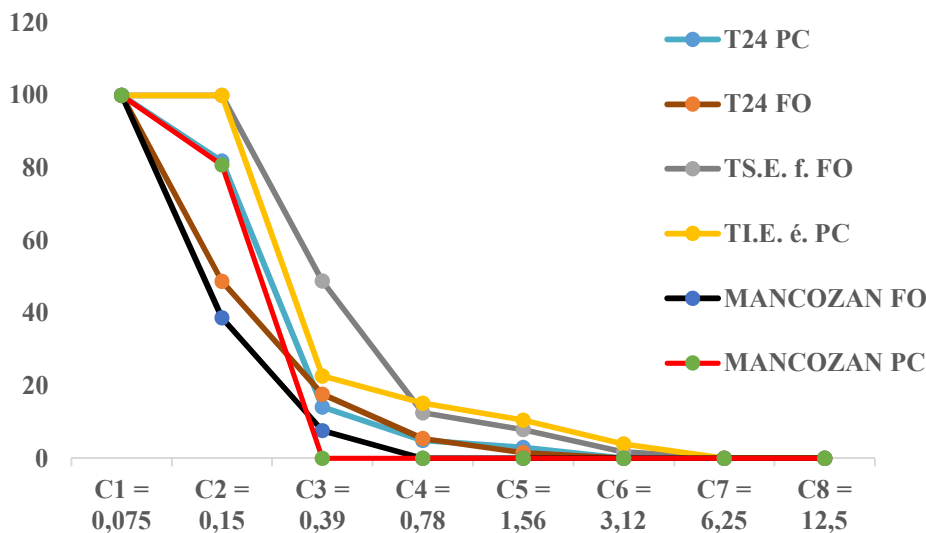


Figure 4 : Sensibilité comparée de *Phytophthora capsici* et *Fusarium oxysporum* au (T24), Mancozan 80 WP, TS.E.f.FO et TI.E.é.PC.

Tableau 2 : Recapitulatif des valeurs de CMF et de CI_{50} du (T24), Mancozan 80 WP, T.S.E.f.FO et T.I.E.é.PC. sur *Phytophthora capsici* et *Fusarium oxysporum*

Extraits	Souches fongiques	Paramètres antifongiques (mg/ml)	
		CMF	CI_{50}
T.I.E.é.PC	<i>Phytophthora capsici</i>	CMF	6,25
		CI_{50}	0,39
T.S.E.f.FO	<i>Fusarium oxysporum</i>	CMF	6,25
		CI_{50}	0,39
T24	<i>Phytophthora capsici</i>	CMF	3,12
		CI_{50}	0,27
T24	<i>Fusarium oxysporum</i>	CMF	3,12
		CI_{50}	0,27
Mancozan 80 WP	<i>Phytophthora capsici</i>	CMF	0,39
		CI_{50}	0,25
Mancozan 80 WP	<i>Fusarium oxysporum</i>	CMF	0,78
		CI_{50}	0,12

T.S.E -f- FO : extraits éthanoliques de feuilles de *Terminalia superba* sur *Fusarium oxysporum*

T.I.E -é- PC : extraits éthanoliques d'écorce de *Terminalia ivorensis* sur *Phytophthora capsici*

T24 : Biofongicide formulé à partir de fusion des extraits de plantes

Tableau 3 : Tri phytochimique d'extraits aqueux et éthanoliques de feuilles et écorce de *Terminalia superba* Engl. & Diels. et *Terminalia ivorensis* A. Chev.

Extraits	Composés chimiques	Alca	Polyph	Tanins		Flavo	Terp	Sapo	Stérols et Séroïdes	Coum
				Cat	Gal					
<i>Terminalia superba</i> Engl. & Diels.	Aqueux de feuilles	+	+	+	+	+++	+	++	-	+
	Aqueux d'écorce	-	+++	++	+	++	+++	++	+	++
	Ethanolique de feuilles	+	+++	-	++	+++	+++	+++	++	+++
	Ethanolique d'écorce	-	+++	-	++	++	++	++	+	++
<i>Terminalia ivorensis</i> A. Chev.	Aqueux de feuilles	-	++	-	+	+	++	+	++	-
	Aqueux d'écorce	-	-	-	+	++	+++	+	+	++
	Ethanolique de feuilles	+	+++	+	+	+	+	++	+	-
	Ethanoliqu d'écorce	++	+	-	+	+++	+++	+++	++	+++

Tableau 4 : Effet des extraits du (T24) sur la croissance et le développement des plants de piments inoculés avec *Fusarium oxysporum* en culture sous abri

Traitements	Diamètre du collet			Hauteur des plants			Poid sec					
	GOLIATH	BIG SUN	SAFI	GOLIATH	BIG SUN	SAFI	Tiges			Racines		
							GOLIATH	BIG SUN	SAFI	GOLIATH	BIG SUN	SAFI
Témoins sains	3,6± 0,6 ^b	3,1± 0,8 ^b	3,4 ±0,8 ^b	24,6± 1,2 ^f	21,2± 4,9 ^f	23,3±5,6 ^f	1,7± 0,4 ^f	1± 0,3 ^f	1,1 ^f	1,3± 0,3 ^b	0,4 ^a	0,2± 0,1 ^a
<i>Fusarium</i>	3,8± 0,9 ^b	4,1± 0,7 ^b	3,2 ±0,6 ^b	18,9± 5,2 ^e	21± 4,6 ^f	28,6±5,4 ^f	2,1± 0,3 ^f	0,1 ^b	1,6± 1,1 ^f	2,1 ^c	0,1 ^a	1,6 ^c
Tl.E.é	2,9± 0,2 ^b	2,4 ±0,9 ^b	3,4± 0,3 ^b	17,2± 1 ^d	13 ±6,7 ^b	22,4±4,4 ^f	0,6± 0,1 ^c	1± 0,3 ^f	1± 0,3 ^f	0,8± 0,5 ^c	0,7± 0,5 ^c	1,6± 0,5 ^c
T24	3,1± 0,8 ^b	3,4 ±1 ^b	3,1± 0,7 ^b	21,4± 2,8 ^f	17,3±4,5 ^d	20,1±4,5 ^f	0,9 ±0,5 ^d	0,8± 0,7 ^f	0,5± 0,2 ^f	0,9± 0,5 ^c	0,7± 0,3 ^c	1,1± 0,7 ^c
TS.E.f	4± 0,4 ^b	4± 0,3 ^b	3,8± 0,3 ^b	28± 1,9 ^f	22,6± 1,8 ^f	31,1±3,1 ^f	1,3 ±0,2 ^f	1,4± 0,5 ^f	1,5± 0,4 ^f	1,3± 0,4 ^c	1,3± 0,9 ^c	1,3± 0,8 ^c
Mancozan 80 WP	4,4± 0,9 ^b	4,2± 0,7 ^b	4,1± 0,6 ^b	28,3± 1,6 ^f	24,2± 2,6 ^f	30,5±1,1 ^f	2± 0,1 ^f	1,5 ±0,5 ^f	2± 0,3 ^f	1,7± 0,5 ^c	0,8± 0,6 ^c	1,6± 0,5 ^c
Tl.E.é + <i>Fusarium</i>	3,4± 0,8 ^b	3,6 ±0,2 ^b	3,6± 0,4 ^b	19,4± 1,9 ^e	17 ±2,2 ^c	20,5±0,8 ^f	0,8± 0,4 ^e	1,7± 0,4 ^f	1± 0,2 ^f	1,2± 1 ^c	1,4± 0,5 ^c	0,8± 0,3 ^c
T24+ <i>Fusarium</i>	2,5± 0,4 ^a	1,6± 1,5 ^a	3,2 ±0,5 ^b	16,9 ±3,8 ^c	7,8± 7,5 ^a	22,9± 2 ^f	0,6 ±0,1 ^c	1,1± 0,5 ^f	0,9± 0,2 ^f	0,5 ±0,1 ^b	1,6± 0,6 ^c	0,9± 0,3 ^c
TS.E.f+ <i>Fusarium</i>	3,8±0,2 ^b	4± 0,6 ^b	3,8± 0,4 ^b	21,3 ±10 ^f	25,9± 1,8 ^f	29± 5,5 ^f	1,2± 0,4 ^f	1,2 ±0,5 ^f	1,4± 0,2 ^f	1,3± 0,8 ^c	0,8± 0,4 ^c	1,1± 0,1 ^c
Mancozan+ <i>Fusarium</i>	4,5 ±0,8 ^b	3,8 ^b	3,5 ^b	26,9 ±5 ^f	19 ±3,8 ^e	31,2±4,4 ^f	2 ±0,6 ^f	1± 0,9 ^f	1,7± 0,3 ^f	1,8± 1,3 ^c	0,9± 0,6 ^c	1,1± 0,5 ^c

Tableau 5 : Effet des extraits du (T24) sur la croissance et le développement des plants de piments inoculés avec *Phytophthora capsici* en culture sous abri

Traitements	Diamètre du collet			Hauteur des plants			Poid sec					
	GOLIATH	BIG SUN	SAFI	GOLIATH	BIG SUN	SAFI	Tiges			Racines		
							GOLIATH	BIG SUN	SAFI	GOLIATH	BIG SUN	SAFI
Témoins sains	5± 0,1 ^h	4,8±0,5 ^h	3,8± 0,4 ^g	25,9± 1,5 ⁱ	27,2± 3 ⁱ	26± 3,4 ⁱ	2,8 ±2,3 ^e	1,5±0,4 ^d	1,7± 0,8 ^d	1,3± 0,3 ^d	0,4 ^c	0,2± 0,1 ^c
<i>Phytophthora</i>	3,1 ±0,3 ^b	3± 0,5 ^b	2,2± 0,8 ^a	16,4 ±3 ^f	13 ±2 ^c	9,2± 3,4 ^a	0,6 ^c	0,9±0,5 ^d	0,1 ^a	0,1 ^a	0,2 ±0,1 ^c	0 ^a
Tl.E.é.	4,1± 0,2 ^a	4,3± 0,6 ^a	3,8 ±0,2 ^a	21,4 ±0,8 ^g	17,9± 2 ^g	23,1± 2 ^g	1,5± 0,1 ^b	1,3± 0,2 ^c	0,9± 0,2 ^b	0,7± 0,4 ^a	0,4± 0,1 ^a	0,3± 0,1 ^a
T24	5,3± 0,4 ^a	4,2± 1,2 ^a	4 ±0,5 ^a	20,4± 3,4 ^g	15,6 ±5 ^c	22,7±2,8 ^g	2,6 ±0,7 ^d	1,2±0,7 ^b	1,4 ±0,3 ^b	1,3± 0,2 ^c	0,8± 0,6 ^b	0,5± 0,2 ^a
TS.E.f.	4,7 ±1,5 ^b	4,1 ±0,2 ^a	3,5 ±0,6 ^a	20,2 ±1,1 ^g	15,9±2,1 ^d	18,6±2,8 ^g	1± 0,1 ^b	1 ±0,1 ^b	1 ±0,1 ^b	0,5 ±0,1 ^a	0,4± 0,4 ^a	0,4± 0,1 ^a
Mancozan 80 WP	4± 0,4 ^a	4± 0,6 ^a	3,8± 0,4 ^a	21,3 ±10 ^g	22,9±1,8 ^h	23± 5,5 ^h	1,3± 0,3 ^b	1,2±0,5 ^b	1,4± 0,2 ^b	1,3± 0,8 ^c	0,8± 0,4 ^b	1,1± 0,1 ^c
Tl.E.é. + <i>Phytophthora</i>	3,7±0,6 ^a	3,8±0,4 ^a	3,6±0,2 ^a	18,18±4,7 ^f	17±1,9 ^e	22,9±2,1 ^h	1,2 ±0,7 ^b	1,1±0,4 ^b	1± 0,1 ^b	0,3± 0,3 ^a	0,4 ±0,2 ^a	0,3±0,2 ^a
T24+ <i>Phytophthora</i>	4,2±0,1 ^a	3,7±1,3 ^a	3,8±0,4 ^a	23,4±2,5 ^h	13,5±4,7 ^b	22±4,2 ^g	1,3±0,4 ^b	1,3± 0,8 ^c	1,4 ±0,4 ^b	0,6± 0,2 ^a	0,9± 0,7 ^b	0,4±0,3 ^a
TS.E.f. + <i>Phytophthora</i>	4,1±0,3 ^a	4,6±0,3 ^a	3,3±0,5 ^a	21,2±0,5 ^h	17,7±0,9 ^e	19,5±3,5 ^g	0,8± 0,7 ^b	1,2±0,2 ^b	1 ±0,1 ^b	0,4 ±0,3 ^a	0,4 ±0,1 ^a	0,3±0,1 ^a
Mancozan + <i>Phytophthora</i>	4,3± 0,6 ^a	3,9± 0,8 ^a	4,1± 0,4 ^a	18,3± 3,1 ^f	23,1±3,8 ^h	23,9±4,1 ^h	2 ±0,4 ^d	2,2±0,5 ^c	2,3± 0,6 ^e	2± 1,1 ^c	2,1± 1,9 ^c	1,7 ±0,5 ^c

DISCUSSION

Les rendements pour chaque plantes ainsi que pour les parties de plantes sont différents les uns des autres. En effet, Svoboda et Hampson (1999) et Smallfield (2001) rapportent que les conditions environnementales, la période de récolte et l'âge du matériel végétal à l'organe considéré peuvent influencer sur les rendements d'extraction. La modification de la couleur du mycélium a été observée sur différents concentrations. Ce constat est confirmé par les travaux De Billerbeck *et al.*, (2002) sur le mycélium d'*Aspergillus Niger*. sous l'effet des vapeurs d'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*. Selon la classification de Kra (2016), les extraits éthanoliques qui ont une CMF appartenant à la classe [6,25 mg/mL ; 50 mg/mL], elles ont un niveau d'activité qualifié de moyen. L'activité d'une substance végétale dépend de sa concentration en principes actifs Thangara *et al.*, (2000). Selon Bougandoura *et al.*, (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. La fongitoxicité de Mancozan s'est révélée à des concentrations plus élevées comparativement aux résultats de (Orsot *et al.*, 2015). Elles étaient de CMF = 0,1 mg/mL sur la croissance mycélienne de *Sclerotium rolfsii* contre CMF = 0,39 mg/mL pour *Fusarium oxysporum* et de CMF = 0,78 mg/mL pour *Fusarium oxysporum* dans cette étude. On peut penser comme Hamadache *et al.*, (2010) que l'utilisation répétée de ce fongicide est à l'origine de l'apparition de cette résistance. Cependant, ils peuvent devenir des polluants environnementaux potentiellement toxiques

CONCLUSION

Dans un contexte de justification scientifique, deux plantes (*Terminalia superba* et *Terminalia ivorensis*) ont été sélectionnées (quatre extraits aqueux et quatre extraits éthanoliques) pour les tests d'évaluation d'activités antifongiques sur la croissance mycélienne de deux souches (*Phytophthora capsici*. et *Fusarium oxysporum*). Cependant, des sensibilités plus importantes ont été notées avec les extraits éthanoliques et le biofongicide T24 sur le développement *in vivo* et *in vitro* des souches. Le tri phytochimique de nos extraits étudiés a révélé la présence de polyphénols, de flavonoïdes, de saponosides, de terpènes, et de Coumarines dans

pour les producteurs et les consommateurs par les résidus toxiques sur les fruits (Hamdache *et al.*, 2010). La pathogénicité de ces champignons a été mise en évidence chez la tomate (Rowe *et al.*, 1977), chez la luzerne et chez l'arachide (Adam, 1986). La pathogénicité des deux souches fongiques s'est exprimée selon le cultivar et l'inoculum apporté au substrat de culture. La virulence de *Phytophthora capsici* ou la résistance du cultivar GOLIATH peut trouver son explication dans le fait que, les métabolites secondaires des plantes sont des molécules de faibles poids moléculaire d'origine naturelle ayant un effet stimulant sur la croissance racinaire ou aérienne (Stapel *et al.*, 2006). Le tri phytochimique des extraits aqueux et éthanoliques *Terminalia superba* et *Terminalia ivorensis* a montré la présence de plusieurs groupes chimiques. Pamo *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. Ces composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique des extraits de plantes (Giordani *et al.*, 2008). L'incorporation de ces substances allélochimiques dans la gestion de l'agriculture peut réduire l'utilisation d'herbicides, de fongicides et d'insecticides ; aussi diminuer la pollution de l'environnement (Hablaoui et Hakkoum, 2013). Ces extraits selon l'indice de toxicité de l'échelle de (Hodge et Sterner, 1943). Selon Hobou *et al.* (2001) il est quasiment impossible d'atteindre la dose de 9000 mg/kg/v0 (administré par voie orale) dans les conditions d'utilisation traditionnelle.

l'ensemble des extraits. Il n'en demeure pas moins que ces extraits bruts une fois purifiés, présenteraient une activité supérieure à celle des fongicides. De plus, le T24 par voie orale n'a aucun effet toxique. L'essor et de la promotion de l'agriculture biologique par les principaux importateurs d'Afrique dans ce nouveau monde soucieux de la santé des consommateurs et de la préservation de l'équilibre des écosystèmes, l'idéal serait que les pesticides de l'avenir soient des produits naturels biodégradables. Il est clair que la richesse du savoir ethnobotanique apparaît à travers les résultats obtenus de cette étude préliminaire.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements au Professeur N'GUESSAN Kouakou Edouard, Professeur Titulaire au Laboratoire de Botanique de l'U.F.R. Biosciences de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody,

Directeur du Laboratoire de Botanique. Au Groupe de Recherche Chimie de l'Eau et des Substances Naturelles de l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adam, T. 1986. Contribution à la connaissance des maladies du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) au Niger avec mention spéciale au *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Université de Renne I. Thèse de doctorat. 117 p.
- Alignier A., 2011. Distribution des communautés végétales sous l'influence des lisières forestières dans des bois fragmentés. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse, Toulouse (France), 239 p.
- Amézqueta, S., González-peñas, E., Murillo-arbizu, M. and López DE Cerain, A. 2009. - Ochratoxin A decontamination : A review. *Food Control*, 20, 326-333.
- Ciulei I. 1980.- Méthodologie pour l'analyse des drogues végétales. Manuels pratiques sur l'utilisation industrielle des plantes médicinales et aromatiques. *Arta Grafica, Bucharest, Romania*. 420 p.
- De Billerbeck V.-G., Roques1 C., Vanrière P., Marquier P (2002) .Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles ; *HYGIENES - X* (3) : 248- 251
- Giordani, Hadeif, Kaloustian, 2008: Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79. P 199-203.
- Hablaoui et Hakkoum, 2013 : L'effet allélochimique des extraits aqueux de quelque mauvaise herbe sur la germination et la croissance de blé. P 1.
- Hamadache A., Lamarti A. & Badoc A. 2010.- Résistance *in vitro* de *Botrytis cinerea* à trois fongicides. Bulletin de société de la pharmacie de Bordeaux, 149 : 103-114.
- Hodge H.C. & Sterner J.H., 1943. - Determination of substances acute toxicity by LDB50B. *American Industrial Hygiene Association*, 10 : 93 p.
- Leroux P. et Credet A., 1978.- Document sur l'étude de l'activité des fongicides. INRA. Versailles, France, 12p.
- Mukendi, R. 2010. Évaluation de l'efficacité de biopesticides botaniques contre l'insecte ravageur (*Ootheca mutabilis* Sahlb. Coleoptera : Chrysomelidae) des feuilles de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Mémoire de DEA en phytotechnie, département de phytotechnie, faculté des sciences agronomiques, université de Kinshasa, Kinshasa- XI, République Démocratique du Congo, 58 p.
- OCDE, 2001. Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques – méthode 423 par classe de toxicité aiguë 14p.
- Orsot B.A.M.B., Soro S., Ouattara D., N'guessan E.K., Zirihi G.N., 2015.- Etude ethnobotanique et évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des extraits de feuilles de *Mallotus oppositifolius* sur deux souches phytopathogènes de *Sclerotium rolfsii*. *European Scientific Journal*. Edition, 11 (36) : issn : 1857 – 7881 (print) e – issn 1857- 7431. 22.
- Pamo T.E., Taponjoui 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 p.
- Rowe, R., C., J.D.1977.- New greenhouse tomato disease can be controlled. *Ohio Rep* 62, 4143 p.
- Smallfield B. 2001. Introduction à la culture des herbes pour les huiles essentielles, médicinales et culinaires. *Crop & Food Research* (45): 1-4 p.
- 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*, 27 1052–1060 p.
- Thangara J. H. S., Adjei O., Allen B. W., Portaels F. 2000.- *In vitro* activity of Ciprofloxacin, Sparfloxacin, Ofloxacin, Amikacin, and Rifampicin against Ghanaian isolates of *Mycobacterium ulcerans* ; *Journal of*

- Antimicrobial Agents chemother* : 45 (2) : 231-233 p.
- Tripathi N. N., Pandey DK, Chandra H, 1982.- Volatile fungitoxicity activity in higher Two classes of plant antibiotics : Phytoalexins versus "phytoanticipins." *Plant Cell* 6,1191-1192 p.
- Zirhi G. N., Kra A. K. M. et Guédé-Guina F., 2003. Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* Lam O. Ktze (Asteraceae) « PYMI » sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Revue Médicale et Pharm. Afric*, 17 : 1-19 p.