

Évaluation de l'activité antifongique des extraits aqueux et éthanoliques de *Terminalia ivorensis* A. Chev. sur *Fusarium oxysporum* espèces phytopathogènes de la tomate

Ruffin Kouakou ANGAMAN*, Bernadine Marie Arobia Bosson ORSOT, Djeneb CAMARA, Kouabenan ABO et Noël Guédé ZIRIHI

Université Félix HOUPHOUET BOIGNY, UFR Biosciences, Laboratoire de Botanique,
22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

* Correspondance, courriel : angamanruffin@yahoo.fr

Résumé

Dans le cadre de la recherche de substances naturelles d'origine végétale comme alternative aux pesticides chimiques en agriculture, *Terminalia ivorensis* à laquelle l'on prête des vertus antifongiques a été utilisée dans cette étude pour évaluer *in vitro* et *in vivo* la sensibilité de *Fusarium oxysporum*. L'activité antifongique *in vitro* a été évaluée par la méthode de double dilution sur milieu PDA avec des extraits aqueux et éthanoliques à 70 % de feuilles et écorce de *Terminalia ivorensis* comparativement au Mancozan 80 WP qui est un fongicide de référence très utilisé. Selon les résultats, seuls les extraits éthanoliques à 70 % possèdent des propriétés fongicides sur *Fusarium oxysporum*. L'extrait éthanolique d'écorce de *Terminalia ivorensis* a été fongicide à CMF = 6,25 mg/mL. Pour les tests *in vivo* de ces mêmes extraits, le cultivar Tropimech est celui qui a été le plus résistant avec des moyennes de diamètre et de hauteur qui ne sont pas significativement différentes de celles des témoins sains. Le Tri phytochimique des différents extraits a montré la présence des métabolites secondaires qui pourraient justifier l'activité antifongique de *Terminalia ivorensis* et son utilisation en médecine traditionnelle.

Mots-clés : *antifongiques, fongicide, métabolites, Fusarium oxysporum, Terminalia ivorensis.*

Abstract

Evaluation of the antifungal activity of aqueous and ethanolic extracts of *Terminalia ivorensis* A. Chev. on *Fusarium oxysporum* phytopathogenic species of tomato

As part of the search for natural substances of plant origin as an alternative to chemical pesticides in agriculture, *Terminalia ivorensis* to which anti-fungal properties are attributed was used in this study to assess *in vitro* and *in vivo* the sensitivity of *Fusarium oxysporum*. The antifungal activity *in vitro* was evaluated by the double dilution method on PDA medium with aqueous and ethanolic extracts at 70 % of leaves and bark of *Terminalia ivorensis* compared to Mancozan 80 WP which is a widely used reference fungicide. According to the results, only the 70 % ethanolic extracts have fungicidal properties on *Fusarium oxysporum*. The ethanolic bark extract of *Terminalia ivorensis* was fungicide at CMF = 6.25 mg / mL. For the *in vivo* tests of these same extracts, the Tropimech cultivar was the one that was the most resistant with average diameters and heights that were not significantly different from those of healthy controls. The

phytochemical sorting of the different extracts has shown the presence of secondary metabolites which could justify the antifungal activity of *Terminalia ivorensis* and its use in traditional medicine.

Keywords : *antifungals, fungicide, metabolites, Fusarium oxysporum, Terminalia ivorensis.*

1. Introduction

Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires [1]. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'environ 80 % des habitants de la planète ont recours à la médecine traditionnelle à base de plantes pour leurs soins de santé primaire [2, 3]. Des nouvelles stratégies prometteuses impliquant des méthodes de biotechnologie modernes sont à l'étude [4]. Ces nouvelles approches pourront être efficaces contre cette problématique, qui consiste en l'utilisation des agents bio-compétitifs non toxigènes sur les cultures aux champs [5]. Produits à partir de ressources renouvelables et potentiellement disponibles en quantité, les extraits végétaux constituent des solutions de lutte particulièrement durables. Ainsi, différentes substances naturelles d'origine végétale comme la laminarine issue d'une algue brune [6], et toute une gamme diversifiée d'extraits de plantes, tant dans l'espèce que dans la méthode d'extraction utilisée : extraits aqueux [7], extraits alcooliques [8, 9], et huiles essentielles [10, 11] ont été testées en vue d'être utilisées contre les phytopathogènes. Cette étude s'inscrit dans la perspective d'aider l'agriculture à trouver des solutions innovantes plus diverses, moins complexes ayant pour corollaire de permettre aux populations démunies de tirer un réel avantage des plantes médicinales de leur pharmacopée. L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'activité antifongique des extraits de cette plante sur *Fusarium oxysporum* comparativement au Mancozan 80 WP qui est un fongicide de référence très utilisé.

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel

2-1-1. Matériel végétal

Terminalia ivorensis A.Chev. Nom usuel : Framiré (**Figure 1**). L'écorce de son tronc et ses feuilles ont été récoltées dans le Département d'Abengourou et identifier au Centre National de Floristique de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY de Côte d'Ivoire.

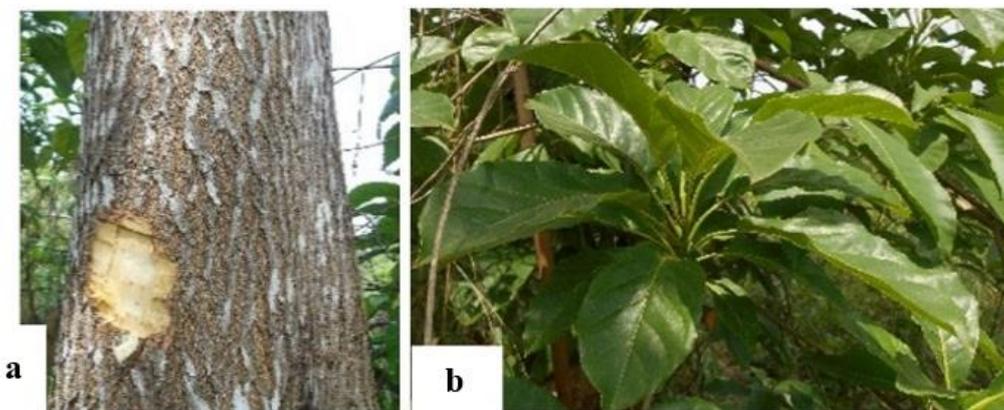


Figure 1 : *Terminalia ivorensis* A. Chev. a : Tronc ; b : Rameau feuillé

2-1-2. Matériel fongique

Le matériel fongique est représenté par une souche de *Fusarium oxysporum* (champignon phytopathogène). Il provient 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 HOUPOUËT-BOIGNY de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire). Numéro d'identification : FOV.31 CYSA. Côte d'Ivoire, Été Diana Fernandez, Laboratoire de phytopathologie Tropicale ORSTOM BP 5045 Montpellier Été.

2-2. Méthodes

2-2-1. Méthode de préparation des extraits

Les organes (feuilles et écorces) de la plante sélectionnée ont été récoltés. Après nettoyage pour les débarrasser de toute impureté, ces organes ont été découpés et séchés séparément à l'ombre, à la température ambiante et à l'abri de l'humidité pendant deux semaines. Les organes séchés ont été rendus en poudre fine grâce à un broyeur électrique de type IKA Labortechnik (type MFC). La fine poudre (broyat) a subi une extraction selon la méthode de [12]. 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'homogénat obtenu a été d'abord essoré dans un carré de tissu, puis filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre Wathman 3 mm. Le filtrat recueilli, a été séché à l'étuve à 50 °C. Le solvant évaporé, une poudre a été récupéré au fond du bocal. Elle constitue l'extrait total aqueux de couleur marron foncé noté ETA. L'extrait éthanolique a été réalisé par fractionnement de l'extrait aqueux, selon la méthode de [13], ainsi décrite : 10 g d'ETA ont été dissouts dans 200 ml de solution (70 % éthanol et 30 % eau distillée). On obtient une phase supérieure liquide alcoolique et une phase résiduelle 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). Les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles et écorces, au nombre de quatre ont été conservés au réfrigérateur à 6 °C et utilisé plus tard pour tester la croissance *in vitro* de *Fusarium oxysporum*.

2-2-2. Calcul de rendement des extraits végétaux

Le rendement de l'extrait est le rapport de la masse de l'extrait obtenu par rapport à la masse du matériel extrait. Il est déterminé par la **Formule 1** ci-dessous.

$$R (\%) = \frac{\text{Poids sec extrait (g)}}{\text{Poids sec de départ (g)}} \times 100 \quad (1)$$

2-2-3. Préparation du milieu de culture

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 a été fait selon la méthode de la double dilution de liaison géométrique de raison 1/2 [13, 14] réalisée de la manière suivante : 2 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 (IKA-MAG-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. Cette double dilution de liaison géométrique de raison 1/2, ainsi réalisée, donne la

gamme ayant les concentrations suivantes : 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL, 3,125 mg/mL, 1,562 mg/mL, 0,781 mg/mL et 0,39 mg/mL. Soit huit concentrations retenues pour les extraits aqueux (ETA). Pour les extraits éthanoliques (ETE), six concentrations ont été retenues et ce sont les suivantes : 12,50 mg/mL, 6,25 mg/mL, 3,12 mg/mL, 1,56 mg/mL, 0,78 mg/mL et 0,39 mg/mL. Ces différentes concentrations ont été utilisées pour tester la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporium*. Les témoins n'ont subi aucun amendement avec les extraits. Ces différents milieux ont été coulés à 40 °C dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre sous la hotte, autour d'une flamme. Pour chaque concentration, l'essai a été répété trois fois. Ainsi pour le fongicide Mancozan 80 WP, cinq concentrations ont été définies à partir de la concentration initiale (50 g/10 L). C'est-à-dire : 50 g du produit pour 10 L d'eau. Soit une solution applicable en champ à la concentration de 5 mg/mL. Pour ce produit, les concentrations utilisées *in vitro* ont été : 2,50 mg/mL, 1,25 mg/mL, 0,62 mg/mL, 0,31 mg/mL et 0,15 mg/mL.

2-2-4. Mesure du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Un explant de 6 mm de diamètre du champignon âgé de 7 jours, a été prélevé au niveau du front de croissance et a été placé au centre géométrique de la boîte de Pétri, sur le milieu solidifié. Les boîtes de Pétriensemencées, ont été scellées avec du film adhésif et mises en incubation à l'étuve à 25 ± 2 °C. Pour tous les essais, trois répétitions par traitement ont été faites. La croissance radiale mycélienne a été mesurée quotidiennement comparativement au témoin, pendant 8 jours. Le taux d'inhibition a été calculé selon la **Formule** de [15].

$$T (\%) = ((D-d)/D) \times 100 \quad (2)$$

T : taux d'inhibition ; *D* : croissance mycélienne dans les boîtes témoins ; *d* : croissance mycélienne dans les boîtes essais.

Les boîtes dans lesquelles aucune croissance mycélienne n'a été visible à l'œil nu, ont été ouvertes. Puis, les explants de champignon ont été prélevés etensemencés à nouveau dans de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu PDA sans extrait végétal. Ces nouvelles boîtes ont été mises en incubation pendant 8 jours à la température ambiante (25 ± 2 °C). La plus petite concentration à partir de laquelle aucune croissance mycélienne n'est observée après repiquage représente la concentration minimale fongicide (CMF). Par contre, si le mycélium se développe à nouveau, cette concentration est la minimale inhibitrice (CMI).

Le niveau d'activité des extraits a été défini selon les classes déterminées par [16].

- CMF > 50 mg/mL : activité très faible
- CMF = 50 mg/mL : activité faible
- CMF ∈ [6,25 mg/mL ; 50 mg/mL] : activité moyenne
- CMF ∈ [0,78 mg/mL ; 6,25 mg/mL] : activité forte
- CMF ∈ [0,001526 mg/mL ; 0,78 mg/mL] : activité très forte

2-2-5. Biotest en culture de tomate 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 tomates 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 tomates 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 tomates 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 tomates. 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.

2-2-6. Analyse des données

L'analyse des données a porté uniquement sur les méthodes des statistiques descriptives. Les données relatives aux caractères quantitatifs ont été saisies à l'aide d'un tableau Excel suivis des représentations graphiques. Des tests de Newman et Keuls au seuil de probabilité $P < 0,5$ ont été établies.

2-2-7. Criblage phytochimique

Une analyse chimique basée sur des réactions de coloration et de précipitation a été effectuée sur les quatre extraits végétaux (X1, X2, X3, X4) selon la méthodologie utilisée par [17].

3. Résultats

3-1. Rendement

Les rendements des extraits aqueux obtenus à partir de 100 g de poudre de feuilles et d'écorce de *Terminalia ivorensis* sont mentionnés sur la Figure 3. L'extrait aqueux des feuilles a fourni un rendement plus important (14,81 %). Les extraits aqueux des écorces ont fourni les plus faibles rendements (7,08 %). Les rendements des extraits éthanoliques issus du fractionnement de 10 g de chaque extrait aqueux des feuilles et écorces de *Terminalia ivorensis* ont été de (22,46 %) pour les écorces et (16,66 %) pour les feuilles (**Figure 3**).

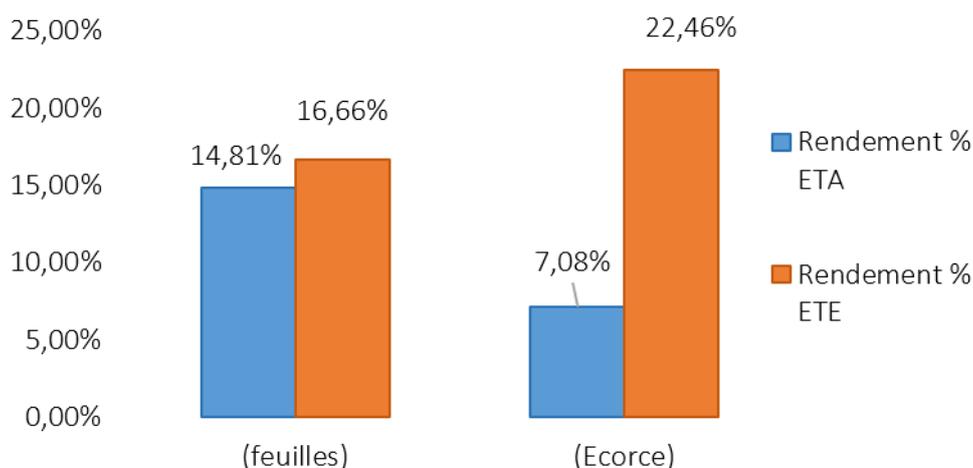


Figure 2 : Rendements des extraits aqueux (ETA) et éthanoliques (ETE) des feuilles et écorces de *Terminalia ivorensis*

3-2. Activité inhibitrice comparée de Mancozan 80 WP et des extraits aqueux et éthanoliques de feuilles et écorce de *Terminalia ivorensis* sur *Fusarium oxysporum*.

Après 8 jours d'incubation, les extraits aqueux d'écorce et de feuilles de *Terminalia ivorensis* ont manifesté une activité antifongique faible sur *Fusarium oxysporum*. Avec l'extrait aqueux de l'écorce, la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* a été inhibée à 100 % à la concentration C7 (25 mg/mL). Les concentrations inhibitrices à 50 % (CI₅₀) et à 90 % (CI₉₀) sont obtenues respectivement à C3 (1,56 mg/mL) et à C6 (12,50 mg/mL). Concernant les extraits aqueux des feuilles, (CI₅₀) et (CI₉₀) sont respectivement de C6 (12,50 mg/mL) et (100 mg/mL). Par ailleurs, les extraits éthanoliques de feuilles et écorce de *Terminalia ivorensis* ont exercé un pouvoir inhibiteur plus important sur *Fusarium oxysporum*. Il est inhibé à 100 % à la concentration C4 (3,12 mg/mL) de l'extrait éthanoliques d'écorce. L'effet fongicide de cet extrait est obtenu à la concentration C5 (CMF = 6,25 mg/mL). La (CI₅₀) est obtenu à C1 (0,39 mg/mL) et la (CI₉₀) est obtenu à C3 (1,56 mg/mL). Au niveau des extraits éthanoliques des feuilles, les (CI₅₀), (CI₉₀), (CMI) et (CMF) ont été respectivement de : C1 (0,39 mg/mL), C3 (1,56 mg/mL), C4 (3,12 mg/mL) et C6 (12,50 mg/mL). Le pouvoir fongicide du Mancozan 80 WP sur *Fusarium oxysporum*. S'est manifesté à la concentration C4 = 1,66 mg/mL (Figure 5). La (CI₅₀) est obtenus à C2 = 0,41 mg/mL et la (CI₉₀) est obtenus à C3 = 0,83 mg/mL (Figure 3 et Tableau 1).

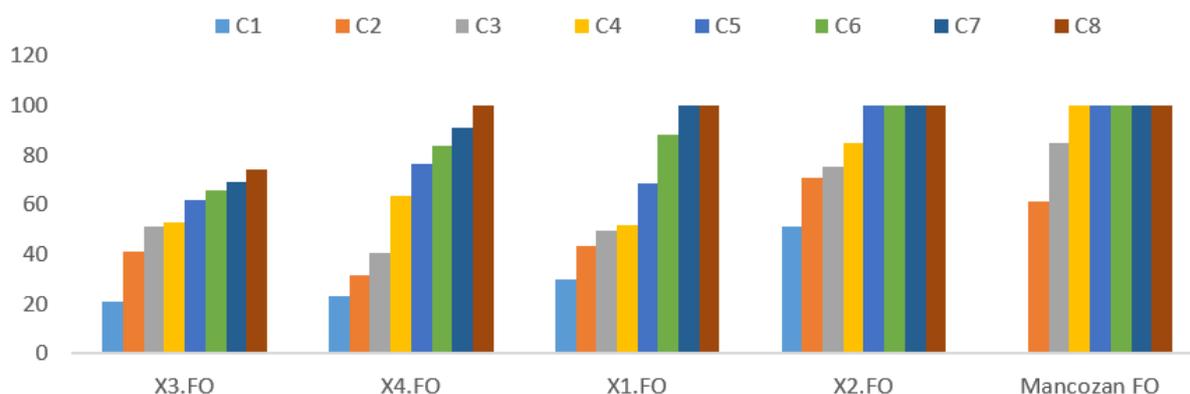


Figure 3 : Antifongigramme et sensibilités comparées de *Fusarium oxysporum* au Mancozan 80 WP et aux extraits aqueux et éthanoliques de feuilles et écorce de *Terminalia ivorensis*

C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈
0,39	0,78	1,56	3,12	6,25	12,50	25	50
mg/mL							

Tableau 1 : Activité inhibitrice de l'extrait éthanolique de feuilles et écorce de *Terminalia ivorensis* et MANCOZAN 80 WP sur *Fusarium oxysporum*

Valeurs de référence de l'activité antifongique de <i>Terminalia ivorensis</i>				
Extraits	CI ₅₀ (mg/mL)	CI ₉₀ (mg/mL)	CMI (mg/mL)	CMF (mg/mL)
MANCOZAN 80 WP	0,41	0,83	1,66	1,66
X1	0,39	1,56	6,5	12,5
X2	0,39	1,56	3,12	6,25
X3	12,5	-	-	-
X4	1,56	25	50	

- X1 extraits éthanoliques de feuilles de *Terminalia ivorensis*
- X2 extraits éthanoliques d'écorce de *Terminalia ivorensis*
- X3 extraits aqueux de feuilles de *Terminalia ivorensis*
- X4 extraits aqueux d'écorce de *Terminalia ivorensis*
- MA Mancozan 80 WP

3-3. Triphytochimique

La méthode du triphytochimique utilisée, a permis de mettre en évidence la présence des principaux groupes chimiques dans la plante. Les extraits analysés renferment les métabolites secondaires que sont les coumarines, les stérols, les polyphénols, les saponosides, les terpènes, les flavonoïdes et les alcloïdes. Le résultat des tests de caractérisation des grands groupes chimiques effectués sur les quatre extraits de *Terminalia ivorensis* a été consigné dans le (Tableau 2).

Tableau 2 : Tri phytochimique d'extraits aqueux et éthanoliques de feuilles et écorce de *Terminalia ivorensis* A. Chev.

Composés chimiques extraits	Alca		Polyph		Tanins		Flavo	Terp	Sapo	Stérols et Stér	Coum
	Alca	Polyph	Cat	Gal							
X1	+	+	+	-	+++	+	++	-	++		
X2	-	+++	+	++ +	++	+++	++	-	++		
X3	+	+	-	-	+	++	++	+	+		
X4	-	+	-	+	+	+	++	-	+		

- X1 extraits éthanoliques de feuilles de *Terminalia ivorensis*
- X2 extraits éthanoliques d'écorce de *Terminalia ivorensis*
- X3 extraits aqueux de feuilles de *Terminalia ivorensis*
- X4 extraits aqueux d'écorce de *Terminalia ivorensis*

-Absence ; + présence ; ++ Très présent ; +++ Très très présent

Alca : Alcaloïdes, Polyph : Polyphénols, Cat : Catéchiqes, Gal : Galliques, Flavo : Flavonoïdes, Sapo : Saponosides, Terp : Terpènes, Coum : Coumarines, Stér : Stéroïdes

3-4. Effets des extraits éthanoliques d'écorce de *Terminalia ivorensis* (X2) et du Mancozan sur les plants de tomates inoculés avec *Fusarium oxysporum* en culture sous abri

L'incorporation de *Fusarium oxysporum* aux plants n'a pas affecté la croissance en épaisseur du collet des cultivars Caraïbo et Tropimech de tomate. La hauteur des cultivars Caraïbo et Tropimech inoculés et traités par rapport aux témoins sains est significativement différent. Le cultivar Tropimech est celui qui a été le plus résistant avec des moyennes de diamètre et de hauteur qui ne sont pas significativement différentes de celles des témoins sains (Tableau 3).

Tableau 3 : Effet du Mancozan 80 WP, des extraits X2 sur la croissance et le développement des plants de tomates inoculés avec *Fusarium oxysporum* en culture sous abri

Traitements	Diamètre du collet		Hauteur des plants		Poids secs			
	Caraiïbo	Tropimech	Caraiïbo	Tropimech	Tiges		Racines	
	Caraiïbo	Tropimech	Caraiïbo	Tropimech	Caraiïbo	Tropimech	Caraiïbo	Tropimech
Témoins sains	3,6 ± 0,6 ^b	3,1 ± 0,8 ^b	24,6 ± 1,2 ^f	21,2 ± 4,9 ^f	1,7 ± 0,4 ^f	1 ± 0,3 ^f	1,3 ± 0,3 ^b	0,4 ^a
<i>Fusarium</i>	3,8 ± 0,9 ^b	4,1 ± 0,7 ^b	18,9 ± 5,2 ^e	21 ± 4,6 ^f	2,1 ± 0,3 ^f	0,1 ^b	2,1 ^c	0,1 ^a
X2	2,9 ± 0,2 ^b	2,4 ± 0,9 ^b	17,2 ± 1 ^d	13 ± 6,7 ^b	0,6 ± 0,1 ^c	1 ± 0,3 ^f	0,8 ± 0,5 ^c	0,7 ± 0,5 ^c
Mancozan 80 WP	4,4 ± 0,9 ^b	4,2 ± 0,7 ^b	28,3 ± 1,6 ^f	24,2 ± 2,6 ^f	2 ± 0,1 ^f	1,5 ± 0,5 ^f	1,7 ± 0,5 ^c	0,8 ± 0,6 ^c
X2 + <i>Fusarium</i>	3,4 ± 0,8 ^b	3,6 ± 0,2 ^b	19,4 ± 1,9 ^e	17 ± 2,2 ^c	0,8 ± 0,4 ^e	1,7 ± 0,4 ^f	1,2 ± 1 ^c	1,4 ± 0,5 ^c
Mancozan + <i>Fusarium</i>	4,5 ± 0,8 ^b	3,8 ^b	26,9 ± 5 ^f	19 ± 3,8 ^e	2 ± 0,6 ^f	1 ± 0,9 ^f	1,8 ± 1,3 ^c	0,9 ± 0,6 ^c

NB : Les chiffres affectés des mêmes lettres ne sont pas significativement différents au seuil de probabilité de $P < 0,5$ à l'aide du test de Newman et Keuls pour un même paramètre.

X2 extraits éthanologiques d'écorce de *Terminalia ivorensis*

4. Discussion

Terminalia ivorensis est une plante médicinale à potentialité antifongique qui a déjà été rapportée par d'autres auteurs comme [18] ainsi que [19]. Cette convergence des résultats avec ceux des travaux réalisés par d'autres auteurs témoignerait de la fiabilité des données obtenues dans ce travail. Les extraits aqueux de feuilles ont fourni un rendement plus élevé contrairement aux écorces soit un taux de (14,81 %) pour les extraits de feuilles contre (7,08 %) pour les extraits d'écorces chez *Terminalia ivorensis*. En effet, [20, 21] rapportent que les conditions environnementales, la période de récolte et l'âge du matériel végétal de l'organe considéré peuvent influencer les rendements des extraits. Le pouvoir inhibiteur de l'extrait végétal sur la croissance *in vitro* du mycélium est mis en évidence par la réduction de la croissance mycélienne en fonction de la concentration de l'extrait végétal. L'allure croissante des antifongigrammes représente la sensibilité de *Fusarium oxysporum* aux extraits testés. Des résultats semblables sur l'activité antifongique de certains extraits avaient été rapportés par [22] qui ont utilisé 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. La CMF des extraits aqueux de feuilles et écorces de *Terminalia ivorensis* sur notre phytopathogène est supérieure à 50 mg/mL, selon la classification de [16], leur niveau d'activité est qualifié de très faible. Par contre, les extraits éthanologiques qui ont une CMF appartenant à la classe [6,25 mg/mL ; 12,5 mg/mL] ont un niveau d'activité des extraits éthanologiques qualifié de moyen. L'activité d'une substance végétale dépend de sa concentration en principes actifs [23]. Les principes actifs, qui sont des molécules solubles dans l'éthanol, pourraient être soit des terpènes, soit des alcaloïdes, soit des huiles végétales [24] ou tout autres substances actives qui sont mieux concentré dans les solvants organiques. Selon [25], le méthanol permet une meilleure extraction des composés tels que les flavonoïdes et les terpénoïdes qui sont des molécules reconnues pour leur activité antifongique. Le fongicide de synthèse Mancozan 80 WP, fongicide de contact multisite et polyvalent doté d'un très large spectre d'action, est généralement utilisé contre les helminthosporioses, les pourritures et les rouilles. Les résultats des tests antifongiques réalisés *in vitro* ont révélé un pouvoir inhibiteur à faible dose sur *Fusarium oxysporum*. L'inhibition a été totale à partir de 1,66 mg/mL. Sa fongitoxicité s'est révélée à des concentrations plus faible (CMF = 0,1 mg/mL) sur la croissance mycélienne de *Sclerotium rolfsii* [26]. On peut penser comme [27] que l'utilisation répétée de ce fongicide est à l'origine

de l'apparition de cette résistance. Cette grande performance pourrait s'expliquer par le fait qu'ils sont constitués de molécules purifiées, contrairement aux extraits végétaux utilisés qui sont encore à l'état brut (molécule active non isolée). Ce résultat est similaire à celui observé par [14], ainsi que [16], selon lesquels tous les extraits végétaux bruts testés sur *Candida albicans* sont moins actifs que le kétoconazole, un fongicide de référence utilisé contre ce champignon. Le tri-phytochimique des extraits aqueux et éthanoliques de *Terminalia ivorensis* a montré la présence de plusieurs groupes chimiques. Il s'agit des terpènes, des tanins, des polyphénols, des quinones, des stérols et polyterpènes, des flavonoïdes, des saponosides et des alcaloïdes. [28, 29] 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 molécules justifient l'utilisation de ces plantes dans la pharmacopée traditionnelle. En effet, selon plusieurs auteurs, ces molécules sont à la base des propriétés pharmacologiques des plantes [30, 31]. Les études *in vitro* ont démontré que les substances bioactives provenant de diverses espèces végétales à intérêt médicinales présentent un spectre large d'activité sur une gamme de flore fongique dont sont inclus les champignons toxigènes [32]. En effet, ces composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique des extraits de plantes [33]. Les tanins ont des effets antiseptiques et des propriétés de renouvellement des tissus [34, 35], les terpènes et les stérols confèrent aux plantes des propriétés antipyrétiques et antifongiques. Les coumarines sont douées d'activités anticoagulantes et antifongiques [34].

5. Conclusion

La flore médicinale dans le Département d'Abengourou est très diversifiée. Parmi les espèces les plus citées, *Terminalia ivorensis* a été sélectionnée pour les tests d'évaluation d'activités antifongiques, réalisés avec les extraits aqueux, et éthanoliques sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum*. Cependant, des sensibilités plus importantes ont été notées avec les extraits éthanoliques qui ont révélé également un potentiel inhibiteur sur la croissance mycélienne du phytopathogène. Cette étude concourait à estimer le potentiel offert par l'intégration d'extraits végétaux aux méthodes de lutte contre les champignons phytopathogènes en vue de réduire l'utilisation des produits phytosanitaires à l'égard de celle-ci. Dans la plupart des cas, les résultats n'ont pas permis d'observer une efficacité plus prononcée des traitements composés par les extraits végétaux. Mais il serait important d'optimiser l'utilisation des extraits de plantes en statuant sur les propriétés (dosage, durée de conservation, condition d'application, etc.) à travers des essais futurs dans les conditions naturelles en serre et en champ.

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 le Groupe de Recherche Chimie de l'Eau et des Substances Naturelles (GCEsNA) de l'Institut National Félix HOUPHOUËT-BOIGNY pour le tri phytochimique.

Références

- [1] - N. BOUZOUITA, F. KACHOURI, H. M. BEN, M. M. CHAABOUNI, Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10 (2008) 119 - 125
- [2] - OMS, Médicaments essentiels et politiques pharmaceutiques : donner un soutien au pays pour produire le manque d'accès aux médicaments. Genève : OMS, (rapport annuel 2003) 20 p.
- [3] - A. A. ELUJOBA, O. M. ODELEYE. C. M. OGUNYEMI, Traditionnal medicine development for medical and dental primary health care delivery system in Africa. *African journal traditional complementary and Alternate Medecine*, 2 (2005) 4661
- [4] - S. AMEZQUETA, E. GONZALEZ-PEÑAS, M. MURILLO-ARBIZU and A. LOPEZ DE CERAIN, Ochratoxin A decontamination : A review. *Food Control*, 20 (2009) 326 - 333
- [5] - A. VALERO, S. OLIVAN, S. MARIN, V. SANCHIS, and A. J. RAMOS, A. J., Effect of intra and interspecific interaction on OTA production by *A. section Nigri* in grapes during dehydration. *Food Microbiology*, 24 (2007) 254 - 259
- [6] - BERNARDON-MERY, Aude, Joubert, Jean-Marie et Hoareau, Alphonse, la laminarine contre la tavelure du pommier. *Phytoma*, N° 662 (Mars 2013) 4 p.
- [7] - K. GILLIVER, The effect of plant extracts on the germination of the conidia of *Venturia inaequalis*. *Annals of Applied Biology*, 34 (1) (1947) 136 - 143
- [8] - R. B. THIESZ, F. L. ADALBERT et J. ALBERT, The effects of plant extracts on apple scab (*Venturia inaequalis* Cooke) under laboratory conditions. *Romanian Biotechnological Letters*, 12 (4) (2007) 3295
- [9] - N. J. BALINT, T. R. SZILVESZTER, I. NYARADI et A. BALOG, Adalbert, Using plant extracts to reduce asexual reproduction of apple scab (*Venturia inaequalis*). *Turkish journal of agriculture and forestry*, 38 (2014) 91 - 98
- [10] - G. H. NAGY, S. S. TAMAS et M. LADANYI, *In vitro* and *in Planta* Activity of Some Essential Oils against *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42 (1) (2014) 191 - 198
- [11] - J. D. MUCHEMBLED, S. K. CAROLINE et P. HALAMA, Patrice, Antifungal activity of essential oils on two *Venturia inaequalis* strains with different sensitivities to tebuconazole. *Environmental Science and Pollution Research*, 67 (3) (2017) 530 - 533
- [12] - N. G. ZIRIHI, M. K. A. KRA et F. GUEDE-GUINA, 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 (2003) 1 - 19
- [13] - G. M. AHON, M. J. AKAPO-AKUE, A. M. KRA, B. J. ACKAH, N. G. ZIRIHI, A. J. DJAMAN, Antifungal activity of the aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Terminalia superba* Engl. On the *in vitro* growth of clinical isolates of pathogenic fungi. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 2 (2011) 250 - 257
- [14] - P. LEROUX et A. CREDET, Document sur l'étude de l'activité des fongicides. *INRA*. Versailles, France, (1978) 12 p.
- [15] - M. K. A. KRA, Recherche bioguidée de composés antifongiques à partir des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat de l'UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, (2016) 242 p.
- [16] - K. N'GUESSAN, B. KADJA, N. G. ZIRIHI, D. TRAORE, L. A. AKE, Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6 (2009) 1 - 15
- [17] - N. G. ZIRIHI, Etudes botanique, pharmacologique et phytochimique de quelques plantes médicinales antipaludiques et/ou immunogènes utilisées chez les bétés du Département d'Issia, dans l'Ouest de la Côte-d'Ivoire. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire, (2006) 181 p.

- [18] - A. DÉNOU, K. KOUDOUVO, A. TOGOLA, M. HAÏDARA, M. S. DEMBÉLÉ, N. F. BALLO, R. SANOGO, D. DIALLO, M. GBÉASSOR, Savoir traditionnel sur les plantes antipaludiques aux propriétés analgésiques, utilisées dans le district de Bamako (Mali). *Journal of Applied Biosciences*, 112 (2017) 10985 - 10995
- [19] - P. K. SVOBODA, A. INGLIS, J. HAMPSON, B. GALAMBOSI, Y. ASAKAWA, Biomass production, essential oil yield and composition of *Myrica gale* L. harvested from wild populations in Scotland and Finland. *Flav. Fragr. J.*, 13 (1999) 367 - 372
- [20] - B. Smallfield, Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*, (45) (2001) 1 - 4
- [21] - F. J. DJEUGAP, D. A. FONTEM & L. A. TAPONDJOU, 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) (2011) 2205 - 2213
- [22] - S. H. J. THANGARA, O. ADJEI, B. W. ALLEN, F. PORTAELS, *In vitro* activity of Ciprofloxacin, Sparfloxacin, Ofloxacin, Amikacin, and Rifampicin against Ghanaian isolates of *Mycobacterium ulcerans*; *Journal of Antimicrobial Agents chemother*, 45 (2) (2000) 231 - 233
- [23] - I. BAGRÉ, C. BAHI, K. OUATTARA, N. G. ZIRIHI, J. A. DJAMAN, A. COULIBALY et D. J. N'GUÉSSAN Etude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. Sur la croissance *in vitro* de *Cryptococcus neoformans*. *Phytothérapie*, 9 (2011) 136 - 141
- [24] - N. BOUGANDOURA, N. BENDIMERAD, Effet antifongiques des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp* (Nepeta) briq. *Revue des Bio Ressources*, 2 (2012) 1 - 7
- [25] - B. M. A. B. ORSOT, Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies de la peau par les Abbey du Département d'Agboville (Côte d'Ivoire) et évaluation de l'activité antifongique de quatre plantes sur *Sclerotium rolfsii*, un phytopathogène. Thèse Unique, Université Félix HOUPOUËT-BOIGNY, Côte d'Ivoire, (2016) 180 p.
- [26] - A. HAMADACHE, A. LAMARTI & A. BADO, Résistance *in vitro* de *Botrytis cinerea* à trois fongicides. *Bulletin de société de la pharemacie de Bordeaux*, 149 (2010) 103 - 114 p.
- [27] - E. T. PAMO, L. TAPONDJOU, F. TENDONKENG, F. J. NZOGANG, J. DJOUKENG, F. NGANDEU & R. J. KANA, 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) (2003) 169 - 175
- [28] - B. LING, M. ZHANG, C. KONG, X. PANG & G. LIANG, 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) (2003) 744 - 6
- [29] - N. G. ZIRIHI, Y. J. DATTE, M. K. KRA-ADOU et P. GRELLIER, Phytochemical and pharmacological studies of the alcoholic extract (MFA) of *Fagara macrophylla* Oliv. Engl. (Rutaceae) : the chemical structure of the active compound inducing antipaludic activity. *Journal of Chinese Clinical Medicine*, 2 (2007) 205 - 210
- [30] - D. MEZOUAR, F. B. LAHFA, E. D. ABDELOUAHID, H. ADIDA, M. N. RAHMOUN, Z. BOUCHERIT et OTMANI, Activité antimicrobienne d'extraits d'écorce de racine de *Berberis vulgaris*. *Springer*, 12 (6) (2014) 380 p.
- [31] - MOHAMMEDI, Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie, (2013) 84 p.
- [32] - K. H. GIORDANI, Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79 (2008) 199 - 203
- [33] - B. S. AMADOU, Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *cumbretum glutinosum* Perr. Ex. D. C. (Combretaceae). Thèse de pharmacie, Faculté de médecine dev pharmacie et d'odontostomatologie de Mali, (2005) 120 p.
- [34] - K. COULIBALY, Etude botanique, pharmacologique et exploration phytochimiques des extraits de *Terminalia ivorensis* et *Terminalia superba*, deux espèces ligneuses commerciales, médicinales antimicrobiennes de la forêt de Mopri. Tiassalé (Sud de la Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan. UFR Bioscience, (2012) 183 p.
- [35] - M. M. COWAN, Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbial Review*, 12 (1999) 564 - 582