

## Usage de *Tephrosia vogelii* (Fabaceae) dans la lutte biologique fongique contre *Phoma sabdariffae* (Phomaceae) au Gabon

### [ Use of *Tephrosia vogelii* (Fabaceae) in fungal biological control of *Phoma sabdariffae* (Phomaceae) in Gabon ]

Alexis Nicaise Lepengue<sup>1</sup>, Dhert Souviens Ontod Tshi-Tshi<sup>1</sup>, Stéphane Mombo<sup>1</sup>, Aurélien Mokéa-Niaty<sup>1</sup>, Ephrem Nzengue<sup>1</sup>, Davy Ulrich Ikabanga<sup>1</sup>, Jean Fabriceyala<sup>2</sup>, Alain Souza<sup>3</sup>, and Bertrand M'batchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Physiologie végétale et Transformations alimentaires, Département de Biologie, Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM), Franceville, Gabon

<sup>2</sup>Laboratoire de Microbiologie, Département de Biologie, Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM), Franceville, Gabon

<sup>3</sup>Laboratoire de Physiologie Animale-Pharmacologie, Département de Biologie, Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM), Franceville, Gabon

Copyright © 2020 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** *Introduction:* Roselle is a wet rot in Gabon caused by *Phoma sabdariffae* Sacc., a deuteromycete fungus of the family Phomaceae. The chemical control used for its eradication has had many limitations, including the appearance of fungal resistance and the persistence of chemoactive substances. *Objective:* The present study was initiated to test an alternative control solution, by the use of a toxic plant, *Tephrosia vogelii*. *Methods:* For this purpose, this plant was macerated, and the solutions transferred to PDA solid culture media, to constitute 4 treatments: T5 (5%), T10 (10%), T15 (15%) and T20 (20%). Fungal spores were cultured in the center of petri dishes, and mycelial growths measured every 2 days for 10 days. *Results:* The results revealed that all the modified treatments in solution of *Tephrosia vogelii* reduced the mycelial growth of *Phoma sabdariffae*. The most pronounced reductions were produced by the T15 and T20 treatments, with the respective inhibition rates of 81% and 100% at the 10th day of incubation. *Conclusion:* The use of concentrated extracts of *Tephrosia vogelii* is therefore possible in the biological control of roselle rot in Gabon.

**KEYWORDS:** Roselle, *Phoma sabdariffae*, Rot, Biological control, Inhibition.

**RESUME:** *Introduction:* La roselle est victime au Gabon d'une pourriture humide engendrée par *Phoma sabdariffae* Sacc., un champignon deutéromycète de la famille des Phomaceae. La lutte chimique utilisée pour son éradication a présenté de nombreuses limites, dont l'apparition des résistances fongiques et la rémanence des substances chimio actives. *Objectif:* La présente étude a été initiée pour expérimenter une solution de lutte alternative, par l'utilisation d'une plante toxique, *Tephrosia vogelii*. *Méthodes:* Cette plante a pour cela été macérée, et les solutions transvasées dans les milieux de culture solides PDA, pour constituer 4 traitements: T5 (5%), T10 (10%), T15 (15%) et T20 (20%). Les spores fongiques ont été cultivées au centre des boîtes de Pétri, et les croissances mycéliennes mesurées tous les 2 jours pendant 10 jours. *Résultats:* Les résultats obtenus ont révélé que tous les traitements amendés en solution de *Tephrosia vogelii* réduisaient la croissance mycélienne de *Phoma sabdariffae*. Les réductions les plus accentuées ont été produites par les traitements T15 et T20, avec les taux d'inhibition respectifs de 81% et 100%, au 10<sup>e</sup> jour d'incubation. *Conclusion:* L'utilisation des extraits concentrés de *Tephrosia vogelii* est donc envisageable dans la lutte biologique contre la pourriture de la roselle au Gabon.

**MOTS-CLEFS:** Roselle, *Phoma sabdariffae*, Pourriture, Lutte biologique, Inhibition.

## **1 INTRODUCTION**

*Phoma sabdariffae* Sacc (Phomaceae) est le champignon responsable de la pourriture humide de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon [6]. Son action repose sur l'excrétion de substances toxiques mobiles, expliquant la rapidité de ses effets sur divers organes de la plante attaquée [7]. Ce champignon présente un large spectre d'action sur la majorité des cultivars alimentaires de roselle plantés au Gabon. Face à cette menace, les cultivateurs utilisent une seule technique: la lutte chimique basée sur l'emploi des pesticides chimiques [10]. Mais après plusieurs cycles de multiplication, *Phoma sabdariffae* Sacc. développe des phénomènes de résistance, notamment grâce à sa plasticité et sa mutation en une forme vivace, moins agressive (*Trichosphaeria* sp.) [10]. De nombreux travaux ont en effet montré l'inter mutabilité de ces deux formes fongiques, permettant à la forme bénigne de devenir agressive [11]. La lutte chimique est aujourd'hui également remise en cause par de nombreux cultivateurs et écologistes en raison de la rémanence et la toxicité des substances synthétiques (peu dégradables) utilisées [8]. En raison de ces différentes limites d'usage, la lutte biologique est de plus en plus recommandée et encouragée par les autorités gouvernementales gabonaises. De nombreux travaux de recherche s'orientent donc aujourd'hui vers l'usage des biopesticides naturels formulés à partir des molécules naturelles non toxiques et biodégradables [9]. De tels modèles ont déjà été expérimentés avec succès dans d'autres pays. C'est le cas du biopesticide NECO formulé à partir de plusieurs plantes aromatiques en Côte d'Ivoire, et qui a montré une grande efficacité contre divers pathogènes fongiques, dont *Mycosphaerella fijiensis* (Mycosphaerellaceae), le champignon responsable de la maladie redoutable des raies noires de bananiers [5].

C'est en référence à ce type de travaux que la présente étude a été initiée. Elle vise à utiliser les substances naturelles végétales dans l'éradication de *Phoma sabdariffae* Sacc, le principal agent pathogène de la roselle au Gabon. Les substances naturelles expérimentées sont extraites de *Tephrosia vogelii* (Fabaceae), une plante domestique utilisée traditionnellement comme un poison de pêche. L'hypothèse de travail suggère que les substances toxiques de cette plante posséderaient des effets fongicides ou fongistatiques susceptibles d'être utilisés en lutte biologique naturelle contre *Phoma sabdariffae* Sacc. Cette approche permettrait de supplanter les techniques actuelles d'emploi des pesticides chimiques toxiques et peu dégradables.

## **2 MATERIEL ET METHODES**

### **2.1 MATERIEL**

Le matériel d'étude est constitué d'une plante ichtyotoxique, *Tephrosia vogelii* (Fabaceae) et d'un champignon deutéromycète, *Phoma sabdariffae* Sacc. (Phomaceae). Les échantillons de *Tephrosia vogelii* ont été récoltés dans les champs des coopératives villageoises du District de Diénga-Lewa-Passo (latitude -1.85083; longitude 12.67667) dans la province de l'Ogooué-Lolo. *Phoma sabdariffae* est un *fungi imperfecti*, reconnu comme le principal agent pathogène de la roselle au Gabon [6]. Les souches de ce champignon nous ont été fournies par la mycothèque du Laboratoire de Phytopathologie de l'Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM).

### **2.2 MÉTHODES**

#### **2.2.1 PREPARATION DES SOLUTIONS DE TEPHROSIA VOGELII**

Un kilogramme (1 kg) de feuilles fraîches de *Tephrosia vogelii* (provenant du District de Diénga-Lewa-Passo) ont été séchées à l'étuve pendant 7 jours à la température fixe de 45 °C [9]. Après séchage, les échantillons ont été broyés à l'aide d'un mortier traditionnel pour obtenir une poudre fine homogène. Deux cents (200) g de cette poudre ont ensuite été dissouts dans 1L d'eau distillée stérile et macérés pendant 3 jours par agitation à l'aide d'un agitateur magnétique (Stuart Unjergad-152 ; USA). Le macérât a été incubé pendant 5 jours au frais à la température de 4 °C, puis filtré sur papier Wathmann n°2, et sur filtre millipore de 0,22 µm de diamètre [7]. Le filtrat obtenu a été lyophilisé et la poudre obtenue reprise dans de l'eau distillée stérile, pour obtenir 50 ml d'extrait liquide de *Tephrosia vogelii*.

#### **2.2.2 PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURE**

Pour réaliser des milieux de culture, 5 fioles jaugées référencées T20, T15, T10, T5, et Te ont été préparées pour accueillir les milieux de concentrations respectives 20%, 15%, 10%, 5% et 0% en *Tephrosia vogelii*. Des volumes respectifs de 20ml, 15 ml, 10 ml, 5 ml et 0 ml d'extrait de cette plante ont été transvasés dans les 5 fioles jaugées, et complétés à 100 ml avec des solutions correspondantes des milieux liquides PDA en surfusion [6]. Après agitation manuelle pour homogénéisation, les

milieux ont été coulés dans des boîtes de Pétri de 12 cm de diamètre. Trois (3) boîtes de Pétri ont été préparées par traitement ; ce qui correspond à un échantillonnage de 15 boîtes de Pétri, et à 45 unités pour les 3 répétitions réalisées.

### 2.2.3 MESURE DE LA CROISSANCE FONGIQUE

Les milieux solidifiés ont été ensemencés par culture monospore d'une pycniospore en germination (préalablement préparée sur un milieu PDA) âgée de 24h, à l'aide d'une aiguille lancéolée flambée, sous une hotte à flux laminaire [8]. Les spores de *Phoma sabdariffae* sont cultivées isolément au centre géométrique de chaque boîte de Pétri [9]. La croissance mycélienne a été mesurée à l'aide d'une règle graduée suivant 2 axes perpendiculaires tracés au dos de la boîte de Pétri. Les inhibitions de croissance (IC) engendrées par *Tephrosia vogelii* ont été calculées à partir des croissances moyennes des boîtes essais (Ce) et témoins (Ct) à partir de la formule suivante [7]:

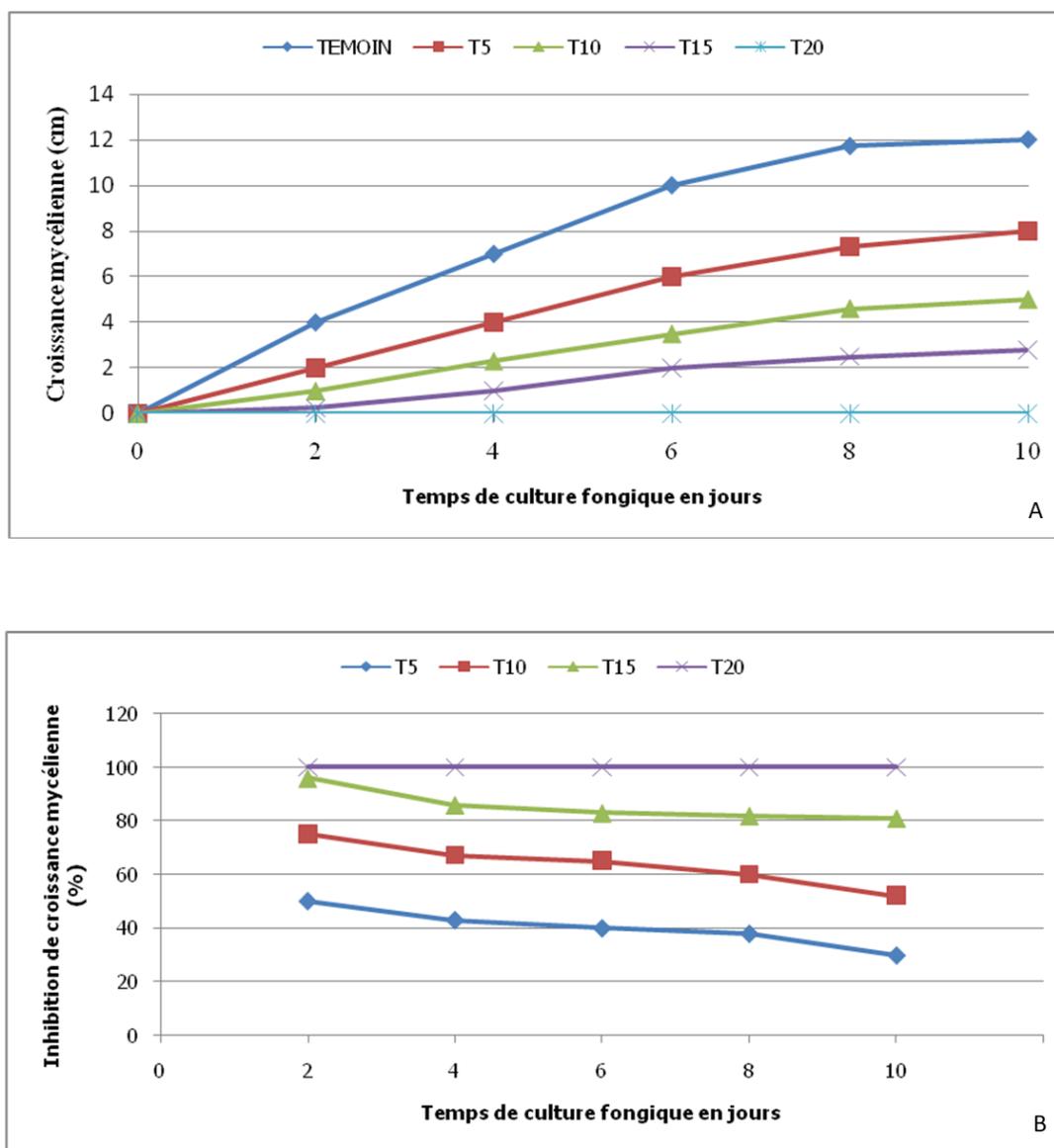
$$IC = \frac{Ce - Ct}{Ct} \times 100$$

### 2.2.4 ANALYSES STATISTIQUES

Les mesures de croissance fongique ont été répétées 3 fois, et les données obtenues soumises à une analyse de variance (ANOVA) au logiciel Statistica 7.0. En cas de différence significative, les tests de comparaison multiples de Newman-Keuls ont été utilisés au seuil de 5%.

## 3 RESULTATS

Les résultats de cette étude ont montré que toutes les concentrations de *Tephrosia vogelii* réduisaient la croissance mycélienne de *Phoma sabdariffae* (figure 1A et B). Ces réductions étaient proportionnelles aux concentrations des solutions de cette plante. Les réductions les plus faibles ont été enregistrées au niveau des traitements T5 et T10, avec des baisses significatives respectives de 30% et 52% au 10e jour, comparativement au témoin. Les plus fortes concentrations de solutions de *Tephrosia vogelii* (T15 et T20) ont induit les plus grandes réductions de croissance mycélienne, aboutissant à des inhibitions totales aux concentrations de 20% (T20). Au dernier jour de traitement, ces 2 concentrations ont présenté des réductions respectives de 81% et 100%, comparativement au témoin. L'analyse statistique a révélé que tous les 4 traitements (T5, T10, T15 et T20) ont induit des réductions de croissance mycélienne significative au seuil de 5%.



**Fig. 1.** Effet de *Tephrosia vogelii* sur la croissance de *Phoma sabdariffae* Sacc., au laboratoire à la température de 25 °C;  
**A:** Croissance du champignon sur différents milieux amendés;  
**B:** Inhibition de la croissance mycélienne dans les différents milieux essais

#### 4 DISCUSSION

Les résultats de ce travail ont montré que toutes les concentrations de *Tephrosia vogelii* provoquaient des réductions de la croissance mycélienne de *Phoma sabdariffae*, en conditions de laboratoire (*in vitro*). La concentration de 20% (T20) de *Tephrosia vogelii* a même induit des inhibitions complètes de la croissance de ce champignon.

Ces résultats sont fort intéressants dans la perspective de lutte biologique contre ce champignon. En effet, *Phoma sabdariffae* est un champignon redoutable, difficile à combattre au champ, du fait de la coexistence de ses 2 formes (sexuée et asexuée) mutagènes dans les mêmes niches écologiques [7]. Cet agent pathogène est également rencontré en Afrique de l'Ouest, notamment en Côte d'Ivoire, et surmonte la résistance de presque tous les cultivars de la roselle recensés au Gabon [10]. Son action repose sur la sécrétion de composés toxiques et provoque le flétrissement foliaire rapide des plantes conduisant à la mort de celles-ci [11]. Jusqu'à présent aucun traitement satisfaisant n'a été recensé. Les techniques actuelles consistant en la pulvérisation des solutions de formulation chimique à titre préventif sur les jeunes plants en croissance [9] sont très controversées, compte tenu de la rémanence de ces produits, et leurs participations potentielles dans la constitution des gaz à effets de serre, dégradant la couche d'ozone [3].

L'intérêt de ces résultats vient également du fait que *Tephrosia vogelii* est une plante domestique, dont la culture est très bien maîtrisée par les populations villageoises gabonaises. Elle n'est actuellement utilisée que pour servir comme poison de pêche artisanale dans les différents villages du Gabon. En plus de cet usage, elle pourrait également servir dans la lutte anti microbienne contre *Phoma sabdariffae*. Des perspectives d'élaboration de bio-fongicides sont donc envisageables. Il est à noter que *Tephrosia vogelii* est dans de nombreux pays utilisé comme insecticide, en agriculture dans les champs ou dans les greniers pour la conservation de denrées alimentaires, ou en élevage contre les puces et tiques du bétail [12]. Son efficacité a notamment été rapportée sur *Callosobruchus maculatus* (Bruchidae), au Kenya et sur *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae) au Bénin [1]. Gadzirayi *et al* [2]. et Kalume *et al* [4]. ont également rapporté les actions insecticides et acaricides de cette plante sur les tiques de bœufs (*R. appendiculatus*) au Zimbabwe et en Afrique du Sud.

Les actions biologiques de *Tephrosia vogelii* sont principalement dues à la présence de métabolites secondaires de la famille des alcaloïdes. Ce sont notamment les ruténones et leurs énantiomères, puis les rutilines [4]. Les effets antifongiques de cette plante observés sur *Phoma sabdariffae* pourraient être liés à l'action des mêmes composés biochimiques.

## 5 CONCLUSION

Le présent travail a été réalisé pour étudier l'effet des extraits toxiques de *Tephrosia vogelii* sur la croissance fongique de *Phoma sabdariffae*. Les résultats obtenus ont montré que toutes les concentrations végétales de cette plante ont induit des réductions de croissance du champignon, avec des inhibitions totales aux concentrations élevées de 20%. L'usage des solutions concentrées de *Tephrosia vogelii* peut donc être envisagé dans la lutte biologique contre *Phoma sabdariffae*. La synthèse d'un biopesticide naturel à base de cette plante est alors potentiellement envisageable dans la perspective d'éradication de *Phoma sabdariffae*.

## REFERENCES

- [1] Dougnon T.J., Adéhan S., Houessionon J., et Farougou S. In vitro effect of the ethanolic extract of *Tephrosia vogelii* on *Rhipicephalus sanguineus* in Abomey-Calavi. *Avicenna J. Phytomed.*, 5 (3): 247-259; 2015.  
Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4469961/>.
- [2] Gadzirayi C.T., Mutandwa E., Mwale M., et Chindundu T. Utilization of *Tephrosia vogelii* in controlling ticks in dairy cows by small-scale commercial farmers in Zimbabwe. *Afr. J. Biotech.*, 8 (17): 4134-4136; 2009.  
Available: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/62143>.
- [3] Heller R., Esnault R., et Lance C. *Physiologie végétale: Développement*. 6e édition de l'Abrégé. Edition Dunod, Paris, 354 p; 2006.
- [4] Kalume M.K., Losson B., Angenot L., Tits M., Wauters J.N., Frédérick M., et Saegerman C. Rotenoid content and in vitro acaricidal activity of *Tephrosia vogelii* leaf extract on the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Vet. Parasitol.*, 190 (1-2): 204-209; 2012.  
Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22795670>.
- [5] Kassi M.F., Badou O.J., Tonzibo Z.F., Salah Z., Amari L.N.D.G.E., et Kone D. Action du fongicide naturel NECO contre la cercosporiose noire (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) chez le bananier plantain (AAB) en Côte d'Ivoire. *J. Appl. Biosci.*, 75: 6183-6191; 2014.  
Available: <https://www.ajol.info/index.php/jab/article/view/102645>.
- [6] Lépengué A.N., Mouaragadja I., Camara B., Kone D., M'batchi B., et Aké S. Impact du filtrat de culture de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur quelques paramètres physiologiques des graines de roselle au Gabon. *Sci. Méd. Cames*, 10: 41-45; 2010.
- [7] Lépengué A.N., M'batchi B., et Aké S. Production, caractérisation et utilisation des composés toxiques de *Phoma sabdariffae* Sacc. dans la sélection des cultivars résistants de roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon. *Agron. Afr.*, 20 (1): 59-67; 2008.  
Available: <https://www.ajol.info/index.php/aga/article/view/1736>.
- [8] Lépengué A.N., Mouaragadja I., M'batchi B., et Aké S. Etude de quelques caractéristiques physicochimiques du filtrat toxique de *Phoma sabdariffae* Sacc., agent pathogène de la roselle. *Sci. Nat.*, 6 (2): 95-105; 2009.  
Available: <https://www.ajol.info/index.php/scinat/article/view/48663>.
- [9] Lépengué A.N., Ibrahim B., Yala J.F., Aké S., et M'batchi B. Effet du filtrat de culture de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur la succion des rondelles de pomme de terre (*Solanum tuberosum*), au Gabon. *J. Anim. Plant Sci.*, 15 (3): 2243-2251. 2012.  
Available: <http://www.m.elewa.org/JAPS/2012/15.3/3.pdf>.

- [10] Lépengué A.N., Mouaragadja I., M'batchi B., et Aké S. Lutte contre les plantes envahissantes: effet du filtrat de culture de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur l'activité photosynthétique de trois plantes aquatiques au Gabon. *Phytothérapie*, 11: 12-16; 2013.  
Available: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10298-012-0739-5>.
- [11] Lépengué A.N., Yala J.F., Ibrahim B., Souza A., et M'batchi B. Etude de la sensibilité de quelques plantes maraîchères à *Phoma sabdariffae* et à ses productions toxiques au Gabon. *Eur. Scient. J.* 9 (12): 321-331, 2013.  
Available: <https://www.researchgate.net/publication/309619417>.
- [12] Ogeno J.O., Deng A.L., Belmain S.R., Walker D.J., et Musandu A.A.O. Effect of insecticidal plant materials, *Lantana camara* L. and *Tephrosia vogelii* Hook, on the quality parameters of stored maize grains. *J. Food Technol. Afr.*, 9 (1): 29-35. 2004;  
Available: <https://www.ajol.info/index.php/jfta/article/view/19323>.