

Activité antifongique d'extraits aqueux de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf., *Eclipta alba* (L.) Hassk. et *Portulaca oleracea* (L.) contre les principaux champignons transmis par les semences d'oignon (*Allium cepa* L.) au Burkina Faso

[Antifungal activity of *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf., *Eclipta alba* (L.) Hassk. and *Portulaca oleracea* (L.) aqueous extracts against the main seed-borne fungi of Onion (*Allium cepa* L.) in Burkina Faso]

Tobdem Gaston DABIRE^{1,2}, Schémaeza BONZI¹, Irénée SOMDA¹, and Anne LEGREVE²

¹Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso,
Institut du Développement Rural,
01 BP 1091, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

²Université Catholique de Louvain-la-Neuve,
Faculté des Bio ingénieurs,
Earth and Life Institute,
Croix du Sud 2 box L7.05.03,
1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

Copyright © 2016 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: *Aspergillus* and *Fusarium* species are the major seed-borne fungi occurring on onion in Burkina Faso according to a previous study. In order to work out effective, available and healthy method of seed treatment against these fungi, this study aimed to evaluate the antifungal activity of three local botanical species. Mycelial growth of *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* was evaluated *in vitro* on media prepared with aqueous extracts of *Cymbopogon citratus*, *Eclipta alba* and *Portulaca oleracea*. The health and germination quality of seeds previously treated with the best aqueous extracts were then evaluated. The aqueous extract of *C. citratus* significantly inhibited the mycelial growth of all *Fusarium* species at rates ranged from 42,8 to 92,0% but stimulated the growth of *A. niger*. Those of *P. oleracea* inhibited the mycelial growth of all tested fungi at rates ranged from 3,2 to 42,4% while those of *E. alba* stimulated the mycelial growth of all tested fungi. Seed treatment with the extracts of *C. citratus* and *P. oleracea* allowed reducing their infection rates by fungi of over 50%. However, the emergence and growth of seedlings were respectively reduced by *P. oleracea* and *C. citratus* compared to those of untreated seeds. Our study concludes that both aqueous extracts have proven antifungal properties. The appropriated shape and dose of use, that does not affect the seedling emergence and growth, should be sought.

KEYWORDS: Antifungal activity, Aqueous extracts, Onion, Seed-borne fungi, Seed treatment.

RÉSUMÉ: Une évaluation de la mycoflore des semences d'oignon utilisées au Burkina Faso a révélé qu'elles sont contaminées par des espèces de *Aspergillus* et de *Fusarium*. En guise de recherche d'une méthode saine et efficace de traitement des semences contre ces champignons, la présente étude a eu pour objectif d'évaluer le pouvoir antifongique de trois espèces botaniques locales. La croissance mycélienne de *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* a été appréciée *in vitro* sur des milieux préparés avec des extraits aqueux de *Cymbopogon citratus*, *Eclipta alba* et *Portulaca oleracea*. La qualité sanitaire et germinative des semences traitées avec les meilleurs extraits ont ensuite été

évaluées. L'extrait de *C. citratus* a inhibé la croissance mycélienne de toutes les espèces de *Fusarium* à des pourcentages compris entre 42,8 et 92,0% mais a stimulé celle de *A. niger*. Ceux de *P. oleracea* ont inhibé la croissance de tous les champignons testés à des pourcentages compris entre 3,2 et 42,4% tandis que ceux de *Eclipta alba* ont stimulé la croissance des champignons. Le traitement des semences avec les extraits de *C. citratus* et de *P. oleracea* a permis de réduire de plus de 50%, les taux d'infection par les champignons. Cependant, l'émergence et la croissance des plantules ont été réduites par *P. oleracea* et *C. citratus* comparativement à celles des semences non traitées. Notre étude conclue que ces deux extraits aqueux ont des propriétés antifongiques avérées. La forme et/ou la dose d'utilisation, qui n'affecte pas la germination des semences, devront être recherchées.

MOTS-CLEFS: Activité antifongique, Extraits aqueux, Oignon, Champignons, Traitement de semences.

1 INTRODUCTION

L'oignon (*Allium cepa* L.) occupe la première place parmi les cultures maraîchères du Burkina Faso depuis 2007 devant la tomate et le chou [1]. Eu égard aux niveaux de revenus générés pour les producteurs et au rôle joué dans la résorption du chômage en milieu rural, la filière oignon occupe aujourd'hui une place de choix dans les politiques agricoles du Burkina Faso.

Cependant, la production de l'oignon fait face de plus en plus à de nombreuses contraintes biotiques dont les maladies fongiques. Parmi ces maladies fongiques, les fontes de semis et mortalité des plantules, la pourriture basale causée par des espèces de *Fusarium* ainsi que la moisissure noire causée par *Aspergillus niger* constituent les plus dommageables [2], [3], [4]. Les fontes de semis et manques à la levée entraînent une utilisation trop importante de semences (qui coûtent chères) et les autres maladies occasionnent des pertes de récoltes importantes estimées entre 2,9 et 80% [5]. Bien que connus comme des champignons telluriques, ces agents pathogènes sont aussi transmis par les semences [3]. Au terme d'une récente étude réalisée sur la qualité sanitaire des semences d'oignon utilisées par les producteurs Burkinabé, il est ressorti que la majorité des lots de semences était fortement infectée par les espèces de *Aspergillus* et de *Fusarium* (Dabiré et al., soumis).

Des semences de bonne qualité issues de variétés améliorées sont disponibles mais leur coût élevé conduit certains producteurs à produire et à utiliser leurs propres semences sans souvent aucun respect des normes de production semencière. Il en découle que ces semences produites localement sont de mauvaise qualité car infectées par un nombre considérable de champignons pathogènes.

Quelques fongicides comme le Calthio C 50 WS (25% de Thirame, 25% de Chlorpyrifos-éthyl), l'Apron Star 45 WS (20% de Thiamethoxam, 20% de Mefenoxam et 2% de Difenoconazole) et le Topsin 70 WG (70,4% de Thiophanate-méthyl) sont utilisés en traitement de semences. Cependant, l'efficacité de ces produits chimiques, leurs coûts et leur disponibilité font parfois défaut. A cela s'ajoute la mauvaise manipulation et la non maîtrise des normes d'utilisation des pesticides chimiques (typologie, manipulation, conservation) car la plupart des producteurs sont analphabètes et bénéficient d'un très faible encadrement technique [6]. Par ignorance, certains producteurs utilisent même des insecticides pour combattre des maladies fongiques [7]. Toutes pratiques présentent d'importants risques de toxicité et d'écotoxicité comme l'action négative sur la faune et la flore non cible, les pollutions des eaux et de l'air [8]. De plus, la santé de l'utilisateur est directement menacée par une exposition aux intoxications, aux irritations et aux cancers [7]. Les risques élevés liés aux intoxications, à la pollution environnementale et au phénomène de résistance font que l'usage des pesticides est de nos jours déconseillé et fortement régulé dans plusieurs pays.

Dans ces conditions et dans le contexte du développement durable, les chercheurs travaillent à la mise au point de méthodes de contrôle des ennemis des cultures qui soient efficaces, accessibles et saines vis-à-vis de l'environnement. Des extraits de plusieurs espèces botaniques se sont révélés avoir des propriétés antifongiques et antibactériennes [9], [10], [11], [12]. Ces extraits peuvent être utilisés en agriculture pour contrôler les ennemis des cultures. Etant des produits locaux, ils sont accessibles aux producteurs et pourraient être peu polluants et peu toxiques comparés aux fongicides de synthèse [13]. L'utilisation de ces espèces botaniques en protection des cultures nécessitent des expérimentations pour confirmer leur efficacité et pour vulgariser une forme appropriée d'utilisation. Des universités et des institutions de recherche Burkinabé se sont lancées dans ce programme de recherche depuis plusieurs années. Leurs travaux ont permis de confirmer les propriétés antifongiques de plusieurs plantes locales du pays. Réf [11] ont rapporté que l'extrait aqueux de *Eclipta alba* dosée à 25 et 30% permettait de réduire significativement par trempage pendant une heure, les taux d'infection des semences de mil et de sorgho par les principaux champignons. Il a aussi été souligné que l'extrait aqueux et l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* étaient efficaces *in vitro* et en traitement de semences contre *Fusarium verticillioïdes* sur maïs, *Phoma sorghina* sur le

sorgho et le mil [10], [12], [14]. L'extrait aqueux de *Portulaca oleracea* a été également testé avec satisfaction sur les champignons transmis par les semences de sorgho [12].

Ce travail se fixe comme objectif d'évaluer l'efficacité des extraits aqueux de *Cymbopogon citratus*, *Eclipta alba* et de *Portulaca oleracea in vitro* et en traitement de semences contre les espèces de *Fusarium* et de *Aspergillus* transmis par les semences d'oignon au Burkina Faso.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 LES ISOLATS FONGIQUES UTILISÉS

Quatre isolats fongiques dont trois espèces de *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. moniliforme* et *Fusarium solani*) et une espèce d'*Aspergillus* (*A. niger*) ont été utilisés pour l'étude. Ces isolats fongiques proviennent tous de semences d'oignon naturellement infectés. Leur isolement sur les semences a été effectué après désinfection de ces dernières à l'alcool 70% pendant 30 secondes et à l'hypochlorite de sodium 1% pendant une minute suivi d'un triple rinçage à l'eau stérile et d'un séchage sous hotte à flux laminaire. Les semences séchées ont ensuite été déposées sur un milieu PDA puis mises en incubation pendant trois jours à 22-25°C sous un cycle alternatif de lumière proche ultra-violet et d'obscurité (12h/12h). Les colonies fongiques ont été transférées dans de nouvelles boîtes de pétri pour être purifiées.

2.2 L'ÉCHANTILLON DE SEMENCES UTILISÉ

Un échantillon de semences produit localement et infecté par *Fusarium oxysporum* (12,5%), *Fusarium solani* (34%) et *Aspergillus niger* (6,75%) (Dabiré et al., soumis) a été utilisé dans cette étude.

2.3 LES EXTRAITS BOTANIQUES ET LES FONGICIDES UTILISÉS

Cinq extraits aqueux de plantes locales dosées à 30% ont été utilisés pour l'étude. Des plantes entières de *Eclipta alba* et de *Portulaca oleracea* (deux écotypes chacune) et les feuilles de *Cymbopogon citratus* (Tableau 1) ont été récoltées et séchées à l'ombre pendant environ un mois. Au terme du séchage, les plantes ont été réduites en poudre à l'aide d'un moulin électrique puis tamisées pour obtenir une poudre fine qui a été soigneusement conservée dans des sachets plastiques transparents à la température ambiante (25-30°C) avant usage. Les extraits aqueux ont été préparés suivant la procédure décrite par Somda et al., (2003). La poudre a été mise en macération dans de l'eau pendant environ 24 heures à 25°C. Le mélange a ensuite été filtré à l'aide d'un papier Whatman n°1 puis le filtrat décanté. La solution aqueuse obtenue a été utilisée pour les tests d'inhibition de la croissance des champignons. Pour obtenir la dose de 30% de l'extrait aqueux, 30 g de poudre ont été mise en macération dans 100 ml d'eau stérile.

Le fongicide chimique Calthio C 50 WS (25% de thirame et 25% de chlorpyrifos-éthyl) largement utilisé au Burkina Faso en traitement de semences a été utilisé comme témoin de référence à la dose recommandée de 0,4%.

Tableau 1. Les espèces botaniques testées dans cette étude

Les espèces botaniques	Familles	Nom commun	Organes utilisés	Lieu /année de récolte
<i>Cymbopogon citratus</i> (D.C.) Stapf.	Poaceae	Citronnelle	Feuilles	Banfora/2013
<i>Portulaca oleracea</i> L.	Portulacaceae	Pourpier	Plante entière	Niassan /2014
<i>Portulaca oleracea</i> L.	Portulacaceae	Pourpier	Plante entière	Bama /2013
<i>Eclipta alba</i> (L.) Hassk.	Asteraceae	"Arbre à serpent"	Plante entière	Toronsso/2013
<i>Eclipta alba</i> (L.) Hassk.	Asteraceae	"Arbre à serpent"	Plante entière	Soumouso /2013

2.4 L'ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIFONGIQUE DES EXTRAITS AQUEUX *IN VITRO*

Un isolat de chaque espèce fongique a été testé en utilisant la méthode de diffusion dans l'agar. Un milieu PDA a été préparé avec chaque extrait aqueux à 30% puis stérilisé à 120°C pendant 30 minutes. Après refroidissement au bain marie (à 50°C), le milieu a été reparti dans des boîtes de Pétri. Des milieux PDA ont également été préparés avec de l'eau distillée ou en y ajoutant le fongicide Calthio C (0,4%) et utilisés comme témoins négatif et positif. Pour chaque champignon, des explants mycéliens de 5 mm de diamètre, prélevés à l'aide d'un emporte-pièce sur une culture pure de 7 jours ont été déposés chacun au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu de culture à tester puis scellé avec du Parafilm. Les boîtes

de Pétri ainsi inoculées ont ensuite été mises en incubation à la température de 22-25°C sous un cycle alternatif de lumière proche ultra-violet et d'obscurité (12h/12h) pendant 7 jours. Le dispositif expérimental est un bloc complet randomisé à quatre répétitions (soit quatre boîtes de Pétri par milieu de culture et par champignon). Le diamètre des colonies a été mesuré dans chaque boîte les 4^{ème} et 7^{ème} jours après l'incubation des explants. Le résultat, exprimé en millimètres, a été la moyenne de deux diamètres mesurés perpendiculairement l'un à l'autre, ôté de 5 mm (diamètre de l'explant). Les données ainsi collectées ont été traitées puis les taux d'inhibition dès la croissance des champignons par les extraits aqueux ont été calculés comme suit [15]:

$$\text{Inhib (\%)} = [(DMC_t - C_{tt})/DMC_t] \times 100$$

Avec:

Inhib (%) = Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne ;

DMC_t = diamètre moyen des colonies du témoin négatif ;

C_{tt} = diamètre moyen des colonies de chaque traitement.

2.5 LE TRAITEMENT DES SEMENCES AVEC LES EXTRAITS AQUEUX

Le traitement des semences a été effectué avec les extraits aqueux (30%) qui ont été les plus efficaces à l'issue des tests réalisés *in vitro*. Après préparation de l'extrait aqueux à la concentration désirée, 600 graines par traitement ont été trempées dans 37,5 ml d'extrait pendant 24 heures. Les graines ont ensuite été séchées aseptiquement. Les graines non traitées ont été utilisées comme témoin négatif. Les graines trempées dans l'eau distillée et les graines traitées au Calthio C (25% de chlorpyrifos-éthyl et 25% of thiram) à la dose de 2,5g/Kg de semences ont été utilisés comme témoins de référence.

2.6 EVALUATION DE LA QUALITÉ SANITAIRE DES SEMENCES TRAITÉES

La qualité sanitaire des graines traitées a été évaluée suivant la méthode du papier Buvard telle que décrite par [16]. Les graines traitées ont été disposées dans des boîtes de Pétri contenant trois couches de papier Buvard humidifié. Vingt cinq (25) graines ont été disposées à équidistance dans chaque boîte de pétri. Les boîtes ainsiensemencées ont été mises en incubation à 22-25°C sous un cycle alternatif de lumière proche ultra-violet et d'obscurité (12 h/12h) pendant sept jours. Au terme du temps d'incubation, les graines ont été individuellement observées sous un stéréo microscope pour identifier les champignons présents sur la base des caractéristiques morphologiques et les descriptions de [16]. Au total quatre cent graines ont été utilisées par traitement en 16 répétitions (chaque boîte de pétri étant considéré comme une répétition). Pour chaque espèce fongique retrouvée, le nombre de graines infectées a été évalué par comptage et les pourcentage d'infection par chaque champignon ont été calculés et comparés. La réduction du taux d'infection des semences traitées par rapport aux semences non traitées (témoin négatif) a été calculé comme suit [11]:

$$\text{Réd (\%)} = [(I_{gnt} - I_{gt})/I_{gnt}] \times 100$$

Avec:

Réd (%) = Pourcentage de réduction du taux d'infection ;

I_{gnt} = taux d'infection des semences non traitées ;

I_{gt} = taux d'infection des semences traitées.

2.7 EVALUATION DE L'EFFET DES EXTRAITS AQUEUX SUR L'ÉMERGENCE ET LA CROISSANCE DES PLANTULES

Cette expérimentation visait à évaluer l'effet du traitement des semences avec les extraits aqueux sur l'émergence et la croissance des plantules. Pour ce faire les graines ont été semées dans des plateaux contenant 800 ml de substrat composé de terreau et de sable (¾; ¼) doublement stérilisé à 120°C pendant 30 minutes. Cent (100) graines ont été utilisées par traitement en cinq (5) répétitions de vingt (20) graines, chaque plateau étant considéré comme une répétition. Les plateauxensemencés ont ensuite été disposés dans les conditions ordinaires puis quotidiennement arrosés pendant 12 jours. L'émergence des plantules a été évaluée aux 6^{ème} et au 12^{ème} jours après semis et les taux d'émergence pour chaque traitement ont été calculés. Les longueurs de 10 plantules prises au hasard dans chaque pot ont été mesurées puis les moyennes comparées entre les traitements.

2.8 ANALYSES DES DONNÉES

Les moyennes des taux d'inhibition de la croissance des champignons *in vitro*, des taux de réduction des indices d'infection des semences, des taux d'émergence et des longueurs des plantules pour chaque traitement ont été comparées par une analyse de variance à un facteur en utilisant le test de classification multiple de Duncan au seuil de 5% réalisé avec le logiciel IBM SPSS Stat.23.

3 RÉSULTATS

3.1 EFFET DES EXTRAITS AQUEUX SUR LA CROISSANCE MYCÉLIENNE DES PATHOGÈNES *IN VITRO*

Les cinq extraits aqueux testés ont significativement affecté la croissance mycélienne de tous les pathogènes testés. Les extraits aqueux des deux écotypes de *P. oleracea* ont inhibé la croissance mycélienne de tous les pathogènes testés à 4 et 7 JAI. L'extrait aqueux de l'écotype de Bama a été plus efficace dans l'inhibition de la croissance mycélienne de tous les pathogènes par rapport à l'extrait aqueux de l'écotype de Niassan. L'extrait aqueux de la poudre de citronnelle (*C. citratus*) a également inhibé de façon significative, la croissance mycélienne de tous les pathogènes testés à 4 JAI mais à 7 JAI il a stimulé la croissance mycélienne de *Aspergillus niger*. Les extraits aqueux de *Eclipta alba* ont stimulé la croissance mycélienne des pathogènes à 4 et à 7 JAI à l'exception de l'extrait aqueux de l'écotype de Toronsso qui a légèrement réduit la croissance mycélienne de *Fusarium solani* à 4 JAI (Tableau 2). Parmi les espèces botaniques testées, la citronnelle (*C. citratus*) a été la plus efficace dans l'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes à l'exception de *A. niger* sur lequel le *Portulaca oleracea* a été le plus efficace (Tableau 2). Pour tous les traitements, les effets sur la croissance mycélienne ont varié entre le 4^{ème} et le 7^{ème} JAI. En général les pourcentages d'inhibition ont baissé entre les deux dates d'évaluation. L'analyse des résultats permet de conclure que les extraits aqueux de *C. citratus* et de l'écotype de *P. oleracea* de Bama ont été les plus efficaces dans l'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes *in vitro*.

Tableau 2. Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne de quatre pathogènes fongiques à 4 et 7 JAI en fonction des traitements (%)

Traitements	Agents Pathogènes							
	<i>A. niger</i>		<i>F. moniliforme</i>		<i>F. oxysporum</i>		<i>F. solani</i>	
	4 jai	7 jai	4 jai	7 jai	4 jai	7 jai	4 jai	7 jai
Fongicide Calthio C	100,0 ^e	100,0 ^e	100,0 ^e	87,7 ^e	100,0 ^e	84,2 ^f	100,0 ^e	84,5 ^f
<i>E. alba</i> de Soumousso	-40,7 ^a	-53,8 ^b	-26,8 ^a	4,5 ^b	-16,3 ^a	-29,6 ^a	-21,6 ^a	-44,3 ^a
<i>E. alba</i> de Toronsso	-39,8 ^a	-72,1 ^a	-16,5 ^b	-18,6 ^a	-09,8 ^a	-10,9 ^b	14,0 ^c	-01,1 ^b
<i>P. oleracea</i> de Bama	73,0 ^d	41,3 ^d	54,3 ^d	42,4 ^d	27,4 ^c	19,0 ^d	19,3 ^d	20,2 ^d
<i>P. oleracea</i> de Niassan	34,5 ^c	12,7 ^c	20,1 ^c	14,3 ^c	06,5 ^b	03,2 ^c	07,0 ^b	08,3 ^c
<i>C. citratus</i>	23,9 ^b	-54,3 ^b	100,0 ^e	92,0 ^f	62,3 ^d	42,8 ^e	100,0 ^e	68,5 ^e
Valeur de F.	362,5	1783,1	465,7	1983,9	320,6	318,2	896,4	355,1
Valeur de P	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Signification	HS	HS	HS	HS	HS	HS	HS	HS

Les moyennes dans une même colonne suivies de la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes selon le test de classification multiple de Duncan au seuil de 5%.

HS: Hautement significatif

3.2 EFFET DES EXTRAITS AQUEUX SUR LA QUALITE SANITAIRE DES SEMENCES

Les semences non traitées aux deux extraits aqueux ont été infectées par tous les pathogènes testés de 1,8%, 8,3%, 9,8% et 18,8% respectivement par *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus niger*, *F. oxysporum* et *F. solani* (Tableau 3). Les taux d'infection des semences traitées ont présenté des différences significatives par rapport à ceux des semences non traitées. Les taux d'infection des semences par les pathogènes visés ont baissé avec les différents traitements réalisés. Les semences traitées au Calthio C ont été complètement désinfectées (0%) de tous les pathogènes. Le traitement des semences avec les extraits aqueux de *C. citratus* et de *P. oleracea* a permis de réduire significativement leurs taux d'infection par les différents pathogènes ciblés. L'extrait aqueux de *C. citratus* a permis de mieux réduire les taux d'infection des semences par les espèces de *Fusarium* tandis que *P. oleracea* a permis de mieux réduire le taux d'infection des semences par *A. niger* (Tableau 3). Le

traitement des semences à l'eau distillée a également permis de réduire les taux d'infection par tous les pathogènes ciblés (Tableau 3).

Tableau 3. Effet des extraits aqueux sur les indices d'infection des semences

Traitements	Indices d'infection des semences (et pourcentage de réduction des indices d'infection) par les pathogènes			
	<i>A. niger</i>	<i>F. moniliforme</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>
Semences non traitées	8,6 ^c	1,8 ^b	9,8 ^c	18,8 ^d
Semences traitées à l'eau	1,0 ^{ab} (87,9%)	0,0 ^a (100%)	2,0 ^b (79,5%)	7,8 ^c (58,7%)
Semences traitées au Calthio C	0,0 ^a (100%)	0,0 ^a (100%)	0,0 ^a (100%)	0,0 ^a (100%)
Semences traitées avec <i>P. oleracea</i>	1,5 ^{ab} (81,8%)	1,0 ^{ab} (42,9%)	3,5 ^b (64,1%)	9,3 ^c (50,7%)
Semences traitées avec <i>C. citratus</i>	3,8 ^b (54,6%)	0,5 ^a (71,4%)	2,3 ^b (76,9%)	5,5 ^b (70,7%)
Valeur de F.	10,886	3,860	32,683	80,542
Valeur de P	0,000	0,007	0,000	0,000
Signification	HS	S	HS	HS

Les moyennes dans une même colonne suivies de la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes selon le test de classification multiple de Duncan au seuil de 5%.

HS : Hautement significatif S : Significatif

3.3 EFFET DES EXTRAITS AQUEUX SUR L'ÉMERGENCE DES PLANTULES

Six jours après semis (JAS), les taux d'émergence des plantules ont varié selon les traitements de 24 à 92%. Le traitement des semences avec l'extrait aqueux de *P. oleracea* a entraîné une réduction significative du taux d'émergence des plantules par rapport aux semences non traitées. Par contre, le traitement des semences avec le Calthio C a permis d'améliorer significativement le taux d'émergence des plantules. Les taux d'émergence des plantules issues des semences traitées à l'eau distillé et à l'extrait aqueux de *C. citratus* n'ont pas été significativement différents du taux d'émergence des semences non traitées. (Tableau 4). Douze (12) jours après semis, les taux d'émergence ont varié suivant les traitements de 22 à 94% avec les mêmes tendances. Le traitement des semences au Calthio C a permis d'accroître le taux d'émergence des plantules tandis que le traitement des semences avec l'extrait aqueux de *P. oleracea* a entraîné une réduction du taux d'émergence par rapport aux semences non traitées. Bien que inférieurs, les taux d'émergence des plantules obtenus avec les semences traitées à l'extrait aqueux de *C. citratus* n'ont pas été significativement différents du taux d'émergence des semences non traitées à toutes les dates d'évaluation (Tableau 4). En fonction des dates d'évaluation, les taux d'émergence ont augmenté entre le 6^{ème} et le 12^{ème} JAS à l'exception des taux d'émergence des plantules issues des semences traitées aux deux extraits aqueux où les taux d'émergence ont baissé entre les deux dates (Tableau 4).

Tableau 4. Effet du traitement des semences sur les taux d'émergence, 6 et 12 JAS

Traitements	Taux d'émergence (%)	
	6 JAS	12 JAS
Semences non traitées	56,0 ^b	62,0 ^b
Semences traitées à l'eau	58,0 ^b	67,0 ^b
Semences traitées au Calthio C	92,0 ^c	94,0 ^c
Semences traitées avec <i>P. oleracea</i> de Bama	24,0 ^a	22,0 ^a
Semences traitées avec <i>C. citratus</i>	52,0 ^b	58,0 ^b
Valeur de F.	33,803	55,782
Valeur de P	0,000	0,000
Signification	HS	HS

Les moyennes dans une même colonne suivies de la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes selon le test de classification multiple de Duncan au seuil de 5%.

HS : Hautement significatif

3.4 EFFET DES EXTRAITS AQUEUX SUR LA CROISSANCE DES PLANTULES

Douze jours après semis, les longueurs des plantules ont varié de 7,9 cm à 13,4 cm. Les plantules issues des semences traitées au Calthio C ont été en moyenne les plus longues (13,4 cm) suivies des plantules issues des semences non traitées

(12,6 cm) et des plantules issues des semences trempées dans l'eau distillée (11,0 cm). Les plantules issues des semences traitées aux extraits aqueux de *C. citratus* et de *P. oleracea* ont été significativement moins longues comparées aux plantules des semences non traitées (respectivement 10,6 et 7,9 cm) (Tableau 5). Il en découle que les deux extraits aqueux ont entraîné des retards de croissance des plantules par rapport aux autres traitements.

Tableau 5. Effet du traitement des semences sur la longueur des plantules 12 JAS

Treatments	Longueur des plantules (cm)
Semences non traitées	12,6 ^c
Semences traitées à l'eau	11,0 ^b
Semences traitées au Calthio C	13,4 ^c
Semences traitées avec <i>P. oleracea</i> de Bama	07,9^a
Semences traitées avec <i>C. citratus</i>	10,6^b
Valeur de F.	43,423
Valeur de P	0,000
Signification	HS

Les moyennes dans une même colonne suivies de la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes selon le test de classification multiple de Duncan au seuil de 5%.

HS : Hautement significatif

4 DISCUSSION

La mauvaise qualité des semences constitue l'un des plus sérieux problèmes de l'agriculture burkinabé. Les nombreuses fontes de semis, les rabougrissements et flétrissements des plantes pendant la phase de croissance sont par parfois les conséquences de l'utilisation de semences infectées par les agents pathogènes sans traitement quelconque [17] (Hofs et al., 2004). *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* et *F. moniliforme* ont été les champignons les plus fréquentes dans les échantillons de semences d'oignon utilisées au Burkina selon les résultats d'une étude antérieure (Dabiré et al., soumis). *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* et *F. moniliforme* ont toutes été rapportées comme agents causaux des fontes de semis et manques à la levée de l'oignon dans le monde [2], [3].

Les extraits aqueux de plantes, disponibles et faciles à produire, pourraient constituer un outil intéressant permettant aux petits producteurs sans moyens de contrôler les ennemis de leurs cultures dans un environnement sain, à moindre coût et sur une base durable. L'utilisation des extraits aqueux de plantes locales contre les champignons phytopathogènes a été explorée par plusieurs auteurs [10], [11], [12], [15]. La présente étude a eu pour objectif global d'évaluer l'activité antifongique d'extraits aqueux de plantes locales dans la perspective de les utiliser en traitement des semences d'oignon pour les désinfecter des champignons et préserver leur qualité intrinsèque.

Les données collectées et analysées ont indiqué que les extraits aqueux des plantes testées ont, à la concentration de 30%, affecté la croissance mycélienne des champignons à divers degrés. Les extraits aqueux des deux écotypes de *E. alba* ont favorisé la croissance mycélienne des champignons *in vitro*. Ce résultat est similaire à celui de [18] qui a indiqué que l'extrait aqueux de *E. alba* a stimulé la croissance mycélienne de *Colletotrichum graminicola*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum* et *Rhizoctonia solani* à la même concentration de 30%. Cependant, [11], a mis en évidence les propriétés antifongiques de cette plante en traitement de semences contre les principaux champignons transmis par les semences de mil et de sorgho à savoir *Phoma sorghina*, *Fusarium moniliforme*, *Curvularia lunata* et *Exserohilum rostratum*. Cette contradiction pourrait résider dans l'écotype utilisé parce que cette étude a montré qu'il y'avait une différence d'action entre les deux écotypes utilisés. Cette contradiction pourrait également résider dans le stade de développement de la plante pendant la récolte parce que la concentration des constituants à propriétés antifongiques dans la plante pourrait varier avec son stade phénologique. Enfin *E. alba* a été retenu pour cette étude à cause de son utilisation en pharmacopée traditionnelle. La poudre de cette herbe est utilisée pour soigner la dysenterie et certaines mycoses des doigts et des pieds [19]. Les propriétés antifongiques de cette plante seraient-elles spécifiques aux champignons pathogènes de l'homme ?

L'extrait aqueux de *C. citratus* a significativement inhibé la croissance mycélienne de toutes les espèces de *Fusarium* à des intensités plus élevées que celles du fongicide chimique de synthèse. Toutefois, cet extrait aqueux a stimulé la croissance de *A. niger*. Plusieurs travaux ont abouti aux mêmes résultats. Réf [20] et [12] ont indiqué l'efficacité de l'extrait aqueux de *C. citratus* dans l'inhibition de la croissance mycélienne de *F. solani*, *F. verticillioïdes* à des concentrations variables mais toutes inférieures à 30%. Le traitement des semences de sorgho avec l'extrait aqueux des feuilles de *Cymbopogon citratus*

concentrée à 30% a permis une réduction significative de leur taux d'infection par *Phoma sorghina* [11]. Des huiles essentielles extraites de cette même espèce ont exhibé des propriétés antifongiques [21] [22] [23] [14]. En outre un extrait méthanolique des rhizomes de *C. citratus* s'est révélé efficace contre *Phytophthora infestans* [24]. Les résultats obtenus avec l'extrait aqueux de *C. citratus in vitro* sont cohérents avec ceux obtenus *in vivo* en traitement de semences. Ce qui confirme que l'extrait a des propriétés antifongiques certaines. Toutefois, à la concentration de 30%, l'extrait a présenté des effets de phytotoxicité selon les résultats obtenus sur la longueur des plantules. Cette concentration pourrait être trop forte pour les semences d'oignon. Sur les graines de sorgho et de maïs l'effet négatif sur la vigueur des plantules traitées avec cet extrait a été également prouvé [11], [12]. Des études similaires avec des concentrations plus basses permettraient de mettre en évidence la concentration appropriée pour les semences d'oignon.

L'extrait aqueux de *P. oleracea* a présenté des effets antifongiques contre tous les champignons pathogènes testés. Ce résultat confirme celui de [12] qui ont indiqué l'efficacité de cet extrait aqueux dans l'inhibition de la croissance radiale de *F. moniliforme*, *Phoma sorghina*, et *Colletotrichum graminicola* à la concentration de 30%. L'extrait aqueux de cette plante a été plus efficace que l'extrait aqueux de *C. citratus* sur la croissance mycélienne de *A. niger*. Toutefois, cet extrait aqueux a été exhibé une propriété phytotoxique plus prononcée que l'extrait aqueux de *C. citratus*. En dehors de la question de concentration élevée, il reste possible que les deux extraits pourraient contenir des composés qui agissent négativement sur la levée et la croissance des plantules d'oignon. Par conséquent, l'utilisation de ces extraits aqueux en traitement de semences nécessite que des travaux biochimiques soient réalisés en vue de comprendre l'origine des propriétés phytotoxiques et de travailler à la mise au point d'une forme et d'une dose appropriées d'utilisation.

5 CONCLUSION

L'évaluation de l'activité antifongique de *Cymbopogon citratus*, *Eclipta alba* et *Portulaca oleracea* effectuée à la clinique des plantes de l'université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso a permis d'obtenir des résultats qui peuvent constituer des préliminaires pour d'autres études plus poussées dans l'utilisation des extraits aqueux de plantes locales comme bio pesticides. L'étude a confirmé les propriétés antifongiques de *C. citratus* contre *Fusarium oxysporum F. solani* et *F. moniliforme* et ceux de *P. oleracea* contre *Aspergillus niger*. L'extrait aqueux de *E. alba* n'a pas présenté des propriétés antifongiques sur les pathogènes testés. En traitement des semences, les deux extraits aqueux de *C. citratus* et de *P. oleracea* ont permis une réduction significative des taux d'infection des semences par les pathogènes visés. Toutefois, à cette concentration de 30%, les deux extraits aqueux ont négativement affecté le taux d'émergence et la longueur des plantules d'oignon. Par conséquent la présente étude conclut que les deux extraits aqueux possèdent des propriétés antifongiques avérées. Ils doivent faire l'objet d'autres études axées sur la recherche d'une forme et d'une concentration appropriées, qui n'affectent pas la qualité intrinsèque des semences traitées.

ACKNOWLEDGMENTS

Cette activité de recherche a été conduite à la Clinique des Plantes de l'université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, un projet financé par les programmes de la coopération Belge au développement, ARES. Les auteurs réitèrent leurs sincères remerciements à ARES pour le financement de cette activité. Ils expriment également leurs gratitude à tous les travailleurs de l'équipe santé des plantes du laboratoire SYNAIE à l'Institut du Développement rural (Burkina Faso) et ceux de l'Unité de Phytopathologie de l'Université catholique de Louvain en Belgique (UCL) pour leurs diverses contributions dans la réalisation de ce travail.

REFERENCES

- [1] Tarpaga W.V., *Contribution à l'étude de la maturation précoce des variétés tropicales d'oignon (Allium cepa L.) : Cas du Violet of Galmi cultivé au Nord du Burkina Faso*. Thèse de doctorat, Université de Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso, 2012.
- [2] Özer N., Köycü N.D., *Seed-borne fungal diseases of onion and their control* In: Mukerji K. G. (ed.), *Disease Management of Fruits and Vegetables*, Vol. 1, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 281-306, 2004.
- [3] Schwartz H. F. and Mohan K. S., *Basal rot of onion*. In: Schwartz F. H and Mohan Krishna S. (Eds.), *Compendium of Onion and Garlic Diseases*. The American Phytopathological Society press (2nd ed.), pp 23-25, 2008.
- [4] D. Zlata, T. Jelena, N. Stevan, M. Jelica, A. Mijana, R.Svjetlana, "Fusarium rot of onion and possible use of bioproduct" *Proceedings of Natural Science*, vol. 114, pp. 135-148, 2008.
- [5] R. Somkuwar, R. Veere-Gowda, T. H. Singh, C. S. Pathak, "Screening of onion for resistance to onion basal rot", *Madras Agricultural Journal*, vol. 83, pp. 273-275, 1996.

- [6] Illy, L., Belem J., Sangaré N., Kaboré M., *Contribution des cultures de saison sèche à la réduction de la pauvreté et à l'amélioration de la sécurité alimentaire*. In : Rapport d'étude du Centre d'Analyse des Politiques Economiques et Sociales, Ouagadougou, Burkina Faso, 2007.
- [7] Oyono Ele, M. E. A., *Risques environnementaux et sanitaires liés à l'utilisation des pesticides dans le maraîchage au Burkina : cas des sites de Tanghin, Boulmiougou et Yitenga*. Mémoire de Diplôme d'ingénieur en équipement rural, Institut International d'Ingénierie de l'Eau et de l'Environnement, Burkina Faso, 2008.
- [8] Comité permanent Inter-Etats de Lutte contre la Sécheresse dans le Sahel (CILSS), *La gestion concertée des pesticides, un moyen de protéger la santé humaine, animale et l'environnement au sahel*, In : 17^{ème} journée du CILSS, 12 Septembre 2002, Ouagadougou, Burkina Faso.
- [9] E. Coventry, E. J. Allan, "Microbiological and chemical analysis of neem (*Azadirachta indica*) extracts: New data on antimicrobial activity", *Phytoparasitica*, vol. 29, no. 5, pp. 441-450, 2001.
- [10] I. Somda, P. Sanou, J. M. Michaud, J. Sanou, "Efficacité des extraits aqueux de citronnelle et de pourpier dans la lutte contre les champignons transmis par les semences de maïs", *Science et technique, Série Sciences naturelles et Agronomie*, vol. 27, no.1, pp. 29-40, 2003.
- [11] P. E. Zida, P. Séremé, V. Leth, P. Sankara, "Effect of Aqueous Extracts of *Acacia gourmaensis* A. Chev and *Eclipta alba* (L.) Hassk. on seed health, Seedling Vigour and Grain Yield of Sorghum and Pearl Millet", *Asian Journal of plant Pathology* vol. 2, no. 1, pp. 40-47, 2008.
- [12] S. Bonzi, I. Somda, P. E. Zida and P. Séremé, "In vitro antifungal activity of various local plant extracts in the control of *Phoma sorghina* (Sacc.) Boerema et al. and *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson, as sorghum seed mold pathogen in Burkina Faso", *Tropicultura*, vol. 30, no. 2, pp. 103-106, 2012.
- [13] D. Bassolé, L. Ouédraogo, *Problématique de l'utilisation des produits phytosanitaires en conservation des denrées alimentaires et en maraîchage urbain et péri urbain au Burkina Faso : cas de Bobo, Ouahigouya et Ouagadougou*, 2007. [Online] Available: <http://www.youscribe.com/catalogue/tous/ressources-professionnelles/rapport-de-l-etude-phyto-final-539508> (20/02/2016).
- [14] I. Somda, V. Leth, P. Séremé, "Antifungal activity of *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Azadirachta indica* Oils Extracts on Sorghum Seed-Borne fungi", *Asian Journal of Plant sciences*, vol. 6, no. 8, pp. 1182-1189, 2007.
- [15] S. A. Parveen, H. Wani, A. A. Ganie, S. A. Pala, R. A. Mir, "Antifungal activity of some plant extracts on some pathogenic fungi", *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, vol. 43, no. 3, pp. 279-284, 2014.
- [16] Mathur and Kongsdal 2003, *Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi*, 1st Ed. Kandrups Bogtrkkeri Publication, Denmark, 2003.
- [17] A. Hofs, L. O. B. Schuch, S. T. Peske and A. C. S. A. Barros, "Emergence and initial growth of rice seedlings according to seed vigour", *Revista Brasileira Sementes*, vol.26 no. 1, pp. 92-97, 2004.
- [18] Soalla W. R., *Efficacité d'extraits aqueux de plantes contre les champignons pathogènes du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) au Burkina Faso*, Mémoire d'ingénieur du Développement Rural, Institut du Développement Rural, Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 2011.
- [19] Zida P. E., *Une alternative à la lutte chimique contre les champignons transmis par les semences de sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) et de mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) par l'utilisation des extraits de plantes du Burkina Faso*. Thèse de doctorat, Université de Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso, 2009.
- [20] S. A. Bankole, A. Adebajo, "Inhibition of growth of some plant pathogenic fungi using extracts from some Nigerian plants", *International Journal of Tropical Plant Diseases*, vol. 13, no. 1, pp. 91-95, 1995.
- [21] M. Saleem, N. Afza, M. A. Anwar, S. M. A. Hai, M. S. Ali, S. Shujaat, Atta-Ur-Rahman, "Chemistry and Biological Significance of Essential Oils of *Cymbopogon citratus* from Pakistan", *Natural Product Research*, vol. 17, no. 3, pp. 159-163, 2003.
- [22] A. S. Bankole, A. O. Joda, J. S. Ashidi, "The use of powder and essential oil of *Cymbopogon citratus* against mould deterioration and aflatoxin contamination of 'egusi' melon seeds", *Journal of Basic Microbiology*, vol. 45, no.1, pp. 20-30, 2005.
- [23] P. S. Sessou, S. Farougou, S. Kaneho, G. A. Djenontin, P. Alitonou, I. Azokpota, D. Youssao, Sohounhlooué, "Bioefficacy of *Cymbopogon citratus* essential oil against foodborne pathogens in culture medium and in traditional cheese wagashi produced in Benin", *International Research Journal of Microbiology*, vol. 3 no. 12, pp. 406-415, 2012.
- [24] F. J. Djeugap, D. A. Fontem, A. L. Tapondjou, "Efficacité in vitro et in vivo des extraits de plantes contre le mildiou (*Phytophthora infestans*) de la morelle noire", *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 5, no. 6, pp. 2205-2213, 2011.