

BURKINA FASO  
UNITE- PROGRES- JUSTICE

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE ET SUPERIEUR

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO

INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL



Mémoire de fin d'études  
Présenté en vue de l'obtention du  
DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES EN GESTION INTEGREE DES  
RESSOURCES NATURELLES (DEA/GIRN)

Option: Système de Production Végétale

Spécialité : Phytopathologie

Par DAO Kadidia

**THEME :**

Etude de la variabilité de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg isolé des semences paysannes de maïs au Burkina Faso et recherche de méthodes de lutte alternatives basées sur les extraits de plantes *in vitro*.

**Membres du jury**

Pr Paco SEREME: Président du jury

Pr Irénée SOMDA: Maître de stage

Dr Jacob SANOU

Janvier 2013

# Table des matières

	Pages
Dédicace .....	v
Remerciements .....	vi
Sigles et abréviations .....	vii
Liste des figures .....	viii
Liste des tableaux .....	viii
Liste des photographies .....	ix
Résumé .....	x
Abstract .....	xi
Introduction générale .....	1
<b>Première partie : Revue bibliographique .....</b>	<b>3</b>
Chapitre I : Connaissances sur le maïs .....	4
1.1. Origine du maïs .....	4
1.2. Taxonomie et morphologie .....	4
1.2.1. Taxonomie .....	4
1.2.2. Morphologie .....	4
1.3. Importance du maïs .....	5
1.4. Culture du maïs .....	6
1.5. Exigences du maïs .....	7
1.6. Contraintes à la culture .....	7
1.7. Maladies du maïs .....	8
Chapitre II: Généralités sur <i>Fusarium verticillioides</i> .....	10
2.1. Classification et morphologie .....	10
2.2. Symptômes .....	10
2.3. Cycle biologique .....	11
2.4. Incidence économique .....	11
2.5. Incidence sur la santé .....	11
2.6. Méthodes de Lutte .....	12
Chapitre III: Utilisation des dérivés de plantes dans la lutte contre les agents phytopathogènes .....	13
3.1. Utilisation des pesticides naturels dans la protection des végétaux .....	13
3.2. Utilisation des extraits aqueux de plantes dans la protection des végétaux .....	13

	Pages
3.3. Utilisation des huiles essentielles en protection des végétaux.....	14
<b>Deuxième partie : Expérimentations.....</b>	<b>15</b>
Chapitre I : Analyse sanitaire des semences de maïs.....	16
1.1. Introduction.....	16
1.2. Matériel végétal .....	16
1.3. Méthodes.....	22
1.3.1. Échantillonnage.....	22
1.3.2. Incubation des semences .....	22
1.3.3. Évaluation des semences.....	22
1.3.4. Analyse des données et présentation des résultats.....	22
1.4. Résultats.....	22
1.4.1. Fréquences des espèces de champignons pathogènes.....	23
1.4.2. Taux d'infection des semences de maïs par les champignons pathogènes.....	24
1.4.3. Fréquence des champignons saprophytes sur les semences de maïs .....	27
1.4.4. Taux d'infection des semences de maïs par les champignons saprophytes.....	27
1.5. Discussion.....	29
1.6. Conclusion partielle .....	30
Chapitre II : Analyse de la variabilité morphologique des isolats de <i>Fusarium verticillioides</i>	31
2.1. Introduction.....	31
2.2. Matériel fongique.....	31
2.3. Méthodes.....	31
2.3.1. Obtention des isolats de <i>Fusarium verticillioides</i> .....	31
2.3.2. Culture des isolats de <i>Fusarium verticillioides</i> .....	31
2.3.2.1. Ensemencement .....	31
2.3.2.2. Incubation.....	32
2.3.2.3. Evaluation .....	32
2.3.2.4. Analyses des données et expression des résultats.....	32
2.4. Résultats.....	32
2.4.1. Caractérisation morphologique des isolats de <i>Fusarium verticillioides</i> .....	32
2.4.2. Choix des isolats représentatifs de <i>Fusarium verticillioides</i> .....	33
2.5. Discussion.....	35
2.6. Conclusion partielle .....	36

Chapitre III : Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium verticillioides</i> .....	37
3.1. Introduction.....	37
3.2. Matériel .....	37
3.2.1. Matériel fongique .....	37
3.2.2. Espèces de plantes testées .....	37
3.2.3. Fongicide chimique testé .....	38
3.3. Méthodes.....	39
3.3.1. Dispositif expérimental .....	39
3.3.2. Préparation des extraits aqueux.....	39
3.3.3. Préparation des milieux de culture.....	39
3.3.4. Evaluation .....	40
3.3.5. Analyse des données et expression des résultats .....	40
3.4. Résultats.....	40
3.4.1. Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des isolats de <i>F. verticillioides</i> à 4 jours après incubation.....	40
3.4.2. Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des isolats de <i>F. verticillioides</i> à 7 jours après incubation.....	42
3.4.3. Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des isolats de <i>F. verticillioides</i> à 10 jours après incubation.....	42
3.5. Discussion .....	45
3.6. Conclusion partielle .....	45
Conclusion générale et perspectives .....	47
Références bibliographiques .....	49
<b>Annexes .....</b>	<b>54</b>

## **Dédicace**

A celle qui apporte toujours plus de bonheur et de joie dans ma vie tous les jours, je dédie ce mémoire à ma fille bien aimée **DORO Hafsa Zahata.**

## Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été rendue possible grâce à la contribution de plusieurs personnes. Qu'il me soit permis d'adresser mes sincères remerciements à toutes ces personnes dotées de bonne volonté et de bonne foi.

Mes vifs remerciements vont au Professeur Somda Irénée, enseignant chercheur à l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso. Je suis heureuse de lui exprimer toute ma reconnaissance pour la compréhension qu'il a montrée à mon égard, sa disponibilité face à mes nombreuses sollicitudes, pour le matériel qu'il a mis à ma disposition. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Au Dr Sanou Jacob, Directeur régional de l'INERA/Ouest et tout le personnel du Laboratoire du Programme Céréales Traditionnelles de la Station de Farakô -Ba pour nous avoir donné les semences paysannes de maïs collectées grâce à la collaboration entre l'INERA et l'INRA à travers le projet ARCAD, à qui j'adresse mes remerciements.

A M. Bonzi Schémaeza, Ingénieur agronome en thèse de doctorat au laboratoire de Phytopathologie pour ses conseils, ses encouragements et sa constante disponibilité à mes préoccupations, je lui dis infiniment merci.

A M. Palé Ollo, technicien au laboratoire pour son engagement et aide dans mes travaux,

A M. Dao Abdalla, pour avoir accepté d'analyser les données de la caractérisation morphologique. Je lui dis vraiment merci.

Au Dr Ouédraogo Ibrahima, chercheur au Programme Riz et Riziculture de l'INERA/ Farakô-Ba, responsable du Laboratoire de Phytopathologie de Farakô-Ba et Mlle Tiendrebéogo Assiata pour m'avoir permis d'avoir la poudre de sisal.

Au Pr Nacro Hassan Bismarck, pour tous ses encouragements.

Aux aînés et promotionnaires du Laboratoire SyNAIE : Dr Yaméogo Jérôme, Zida W. Arnaud, Sanou Zézouma, Ouédraogo Albert, Diallo Rebecca, Somé Ezéchias pour tous ces moments passés en leur compagnie.

Je ne pourrai passer sous silence ma gratitude envers mon mari qui m'a beaucoup soutenu et n'a cessé de m'encourager pour ces travaux, infiniment merci pour tout ce que tu m'apportes.

Je ne pourrai terminer mes propos sans remercier toutes les familles Dao, Doro, et alliés, ainsi que tout le corps enseignant de l'Institut du Développement Rural.

Enfin, à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre m'ont exprimé leur soutien et dont les noms n'ont pu être cités,

*Infiniment merci !*

## **Sigles et abréviations**

ADRAO: Association pour le Développement de la Riziculture en Afrique de l'Ouest

ARCAD: Agropolis Research Center for Crop Conservation, Adaptation and Diversity

CIRAD: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

DGPSA/MAHRH : Direction Générale des Prévisions et Statistiques Agricoles/ Ministère de l'Agriculture, de l'Hydraulique et des Ressources Halieutiques

DRREA : Direction Régionale de la Recherche Environnementale et Agricole

ENSA: Ecole Nationale Supérieure Agronomique

FAO: Food and Agriculture Organization

ICRISAT: International Crops Research Institute for Semi-Arid Tropics

IDR: Institut du Développement Rural

IITA: International Institute of Tropical Agriculture

INERA: Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles

INRA: Institut National de Recherche Agronomique

IRSAT: Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologique

ISTA: International Seed Testing Association

J C: Jésus Christ

ORSTOM: Institut Français de Recherche Scientifique pour le développement en Coopération

PDA: Potato Dextrose Agar

PDSA: Projet de Développement des Semences Améliorées

PIB: Produit Intérieur Brut

UPB: Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso

UV: Ultra Violet

## Liste des figures

	Pages
Figure 1 : Morphologie du maïs.....	5
Figure 2 : Carte du Burkina Faso représentant le nombre d'échantillons collectés par provinces.....	17

## Liste des tableaux

	Pages
Tableau I : Caractéristiques des cent seize (116) échantillons de semences de cultivars locaux de maïs collectés au Burkina Faso. ....	18
Tableau II : Fréquence (%) des champignons pathogènes dans les échantillons de semences de maïs collectés dans onze (11) provinces du Burkina Faso.....	24
Tableau III : Taux d'infection (%) des échantillons de semences par les espèces de champignons pathogènes .....	26
Tableau IV: Fréquence (%) des champignons saprophytes sur les échantillons de semences de maïs .....	27
Tableau V : Taux d'infection (%) des échantillons de semences par les espèces de champignons saprophytes .....	28
Tableau VI: Analyse de variance des caractéristiques des isolats de <i>Fusarium verticillioides</i>	32
Tableau VII: Répartition des isolats de <i>F. verticillioides</i> en fonction des classes.....	34
Tableau VIII : Liste des isolats de <i>F. verticillioides</i> proches du centre des classes .....	35
Tableau IX : Caractéristiques des plantes utilisées .....	38
Tableau X : Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des dix isolats de <i>F. verticillioides</i> à 4 jours après incubation.....	41
Tableau XI : Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des dix isolats de <i>F. verticillioides</i> à 7 Jours après incubation .....	43
Tableau XII : Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des dix isolats de <i>F. verticillioides</i> à 10 JAI .....	44

## Liste des photographies

Pages

Photo 1 : Conidies en chaines de <i>F. verticillioides</i> .....	10
Photo 2 : Macroconidies et microconidies de <i>F. verticillioides</i> .....	10
Photo 3 : Couleur du péricarpe : A : blanc ; B : jaune ; C : rouge ; D : violet.....	17
Photo 4 : Couleur du péricarpe (Suite) : E : Jaune rouge ; F : violet jaune ; G : violet blanc ; H : rouge violet .....	17
Photo 5: Nuances de couleurs du mycélium de <i>F. verticillioides</i> : rose clair (A), rose à bordure blanche (B), rose (C), rose violet à bordure blanche (D), violet à bordure blanchâtre (E).....	33
Photo 6: Nuances de couleurs du mycélium de <i>F. verticillioides</i> : Violet foncé avec des taches (F), rose violacé avec taches (G) (Suite).....	33
Photo 7: Plante de <i>Cymbopogon citratus</i> (Citronnelle) .....	38
Photo 8: Feuille et fleurs de <i>Azadirachta indica</i> (Neem).....	38
Photo 9: Plante de <i>Agavea sisalana</i> (Sisal).....	38
Photo 10: Rameaux de <i>Lippia multiflora</i> (Thé de savane) .....	38

## Résumé

Le maïs est l'une des céréales prometteuses au Burkina Faso à cause de ses potentialités. Cependant, sa culture est sujette à de nombreuses contraintes parmi lesquelles on compte les maladies. Elles sont pour la plupart causées par les microorganismes notamment les champignons. Notre étude a consisté à une évaluation de la mycoflore de cent seize (116) échantillons de semences paysannes de maïs collectés par INERA/ARCAD dans onze (11) provinces du Burkina Faso. L'évaluation de la mycoflore des semences a permis d'identifier douze (12) espèces de champignons pathogènes dont les plus fréquentes sont *Fusarium verticillioides* (à des taux d'infection très élevés (20-66,7%)), *Botryodiplodia theobromae* (5-63,3%), *Acremonium strictum* (3,3-23,3%) et cinq (05) champignons saprophytes dont *Penicillium sp.* (10-86,7%), *Aspergillus flavus* (3,3-60%) et *A. niger* (10-50%). L'analyse de la variabilité de *F. verticillioides* a porté sur 135 isolats collectés à partir des semences de maïs analysées. Elle a consisté à apprécier la couleur, l'aspect des colonies mycéliennes développées sur milieu de culture PDA après 4 et 7 jours d'incubation. La croissance mycélienne des isolats a été évaluée en calculant les diamètres moyens des colonies à 4 et 7 jours après incubation.

L'analyse de variance a montré des différences hautement significatives pour les caractères cités. En effet, une grande diversité de couleurs allant du rose clair au violet foncé a été observée au niveau du champignon. Quant à l'aspect du mycélium, nous avons pu distinguer trois types à savoir en cercle, en tache ou les deux en même temps. La croissance mycélienne des isolats varie nettement d'un isolat à un autre.

Enfin, l'efficacité des extraits aqueux de *Cymbopogon citratus* (30%), de *Azadirachta indica* (10%) et de *Agavae sisalana* (30%) et des huiles essentielles de *C. citratus* (400 ppm) et *Lippia multiflora* (300 ppm) a été évaluée in vitro sur milieu de culture PDA ; Ces tests ont été effectués sur dix isolats de *F. verticillioides* choisis parce qu'ils représentent mieux les cent trente cinq (135) isolats analysés. D'une façon générale, l'analyse de variance a montré des différences significatives comparativement aux témoins eau et fongicide. En ce qui concerne tous les extraits de plantes, ils ont des effets antifongiques sur les isolats avec des pouvoirs d'inhibition pouvant atteindre 89,25% après 10 jours d'incubation.

Mots clés : Maïs, semence paysanne, champignons pathogènes, *Fusarium verticillioides*, extraits de plantes

## Abstract

Maize is one the promising cereal grown in Burkina Faso regarding its potentials. Yet, cultivation of maize is facing problems; among them fungal diseases are the main constraints. Our study aimed at evaluating the mycoflora of one hundred and sixteen (116) farmer maize samples collected by ARCAD/INERA in eleven (11) provinces of Burkina Faso. The evaluation of seed-borne fungi showed the presence of twelve (12) pathogenic fungi. The most frequently identified fungi are *Fusarium verticillioides* with infection rate ranging from 20 to 66,7%, *Botryodiplodia theobromae* (from 5 to 63,3%), *Acremonium strictum* (from 3,3 to 23,3%). Five (05) saprophytic fungi were also detected: *Penicillium sp.* (10 to 86,7%), *Aspergillus flavus* (3,3 to 60%) and *A. niger* (10 to 50%) were the most important. One hundred and thirty five (135) isolates of *F. verticillioides* collected from the maize seeds tested were analyzed for morphological variability based on colony color and appearance on PDA plates after 4 and 7 days of incubation. The mycelium growth was evaluated by calculating the average diameters of colony at 4 and 7 days after incubation.

Data analysis showed highly significant differences between isolates for parameters. The fungal colony color was very variable. Three types of mycelium appearance were observed (with circles, with spots and both) and the radial growth varied from an isolate to another.

Efficacy of aqueous plant extracts of *Cymbopogon citratus* (30%), *Azadirachta indica* (10%) and *Agavae sisalana* (30%) and essential oils of *C. citratus* at 400 ppm and *Lippia multiflora* at 300 ppm was evaluated *in vitro*. The experience was conducted with ten isolates of *F. verticillioides* chosen according to the results obtained after morphological study. In general, data analysis showed significant differences between treatments when compared with the controls. The plants extracts tested have all antifungal properties against isolates of *F. verticillioides*. The inhibition percentage of all extracts reached 89.25% after 10 days of incubation.

Keywords: farmer maize, seed-borne fungi, *Fusarium verticillioides*, plant extracts.

## Introduction générale

Le Burkina Faso est un pays sahélien à majorité agricole. En effet, l'agriculture constitue la principale source de revenus et emploie environ 90% de la population. C'est une agriculture de type pluvial et familial. Elle contribue pour près de 40 % au PIB (PDSA, 2012).

Le maïs est l'une des céréales les plus cultivées au monde. Il occupe le troisième rang après le blé et le riz. Au Burkina Faso, le maïs est la troisième céréale cultivée après le sorgho et le mil. Il occupe environ 12% des superficies céréalières avec une production de 1133450 t en 2010 et un rendement moyen de 2,2 t/ha (Sanou, 2010 communication personnelle). Sa culture connaît un essor de nos jours avec l'augmentation de superficies et du rendement. Cette culture valorise bien le reliquat de fertilisants, c'est pourquoi dans la rotation, il vient après le coton dans la zone cotonnière. Aussi, l'avènement de la Petite Irrigation a permis la production du maïs en saison sèche. De plus, la création de variétés hybrides de plus en plus performantes, adaptées aux conditions hydriques et la prise en compte des besoins nouveaux des consommateurs est autant de raisons qui expliquent la hausse de cette production (Sanou, 2003).

Malgré l'intérêt grandissant des producteurs pour la culture du maïs, cette dernière est confrontée à de nombreuses contraintes que sont la sécheresse (Sivakumar et Gnoumou, 1987) et les maladies. D'après Basak & Lee (2007), la plupart des maladies végétales connues d'origine fongique sont transmises par les semences. Le genre *Fusarium* cause des baisses de rendements (Balali & Iranpoor, 2006). L'espèce *F. verticillioides* inféodée au maïs provoque des moisissures ou pourritures sur les grains, des nécroses sur les tissus conducteurs et entraîne un flétrissement rapide des feuilles. Ce champignon sécrète des toxines qui ont des conséquences sur la santé humaine et animale (Munkvold & Desjardins, 1997).

Dans le sens de maintenir l'engouement des producteurs pour cette culture, il serait intéressant que des efforts soient faits pour réduire les effets néfastes des agents pathogènes notamment *F. verticillioides*. Pour ce faire, diverses méthodes de lutte sont utilisées afin de contrôler cette espèce de champignon. Mais la méthode la plus couramment utilisée est la lutte chimique. L'emploi de cette méthode connaît des limites du fait des coûts de produits, de la pollution de l'environnement et probablement des résistances liées à l'utilisation non raisonnée de la même molécule. Compte tenu de l'engouement de plus en plus grandissant pour la culture et la consommation du maïs au Burkina Faso, et de la quasi-absence de données consistantes sur le pathosystème Maïs-*Fusarium verticillioides*, nous nous sommes

proposés de travailler sur le thème: Etude de la variabilité de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg isolé des semences de maïs au Burkina Faso et recherche de méthodes de lutte alternatives basées sur les extraits de plantes *in vitro*.

Les objectifs spécifiques assignés à cette étude sont:

- Evaluer la mycoflore des semences paysannes de maïs d'origines géographiques diverses;
- Caractériser morphologiquement les isolats de *F. verticillioides* isolés des semences de maïs ;
- Tester l'efficacité *in vitro* des extraits de plantes.

Le présent mémoire comprend deux parties. La première partie qui constitue la synthèse bibliographique est subdivisée en trois chapitres portant respectivement sur les connaissances sur le maïs, les généralités sur *Fusarium verticillioides* et l'utilisation des dérivés de plantes dans la lutte contre les agents phyto-pathogènes. La deuxième partie aborde les expérimentations réalisées. Elle comprend trois (03) chapitres dont le premier porte sur l'évaluation de la mycoflore des semences; le deuxième chapitre aborde l'analyse de la variabilité morphologique des isolats de *Fusarium verticillioides* et le troisième chapitre est consacré à l'effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des isolats de *F. verticillioides*.

**Première partie :**  
**Revue bibliographique**

## **Chapitre I : Connaissances sur le maïs**

Le maïs est une des céréales les plus cultivées dans le monde. Il reste une importante céréale alimentaire traditionnelle pour les régions tropicales (Rouanet, 1984). Sur le plan national, son rendement est plus élevé (2,2 t/ ha) que ceux du sorgho et du mil en milieu paysan (DGPER/MAHRH, 2009).

### **1.1. Origine du maïs**

L'origine du maïs reste encore imprécise car elle suscite plusieurs polémiques. Les uns pensent qu'il a été trouvé dans le vieux monde qui correspond aujourd'hui à l'Europe, l'Asie et l'Afrique, cela parce qu'il était cultivé sur les bassins méditerranéens bien avant la découverte du continent Américain au XV<sup>e</sup> siècle. Les autres preuves attestent de sa présence sur le continent américain 5000 ans av. J.C dans les régions du Mexique au Guatemala. Mais, tous les auteurs s'accordent à reconnaître que l'évolution vers les formes modernes s'est passée en Amérique Centrale (Rouanet, 1984).

### **1.2. Taxonomie et morphologie**

#### **1.2.1. Taxonomie**

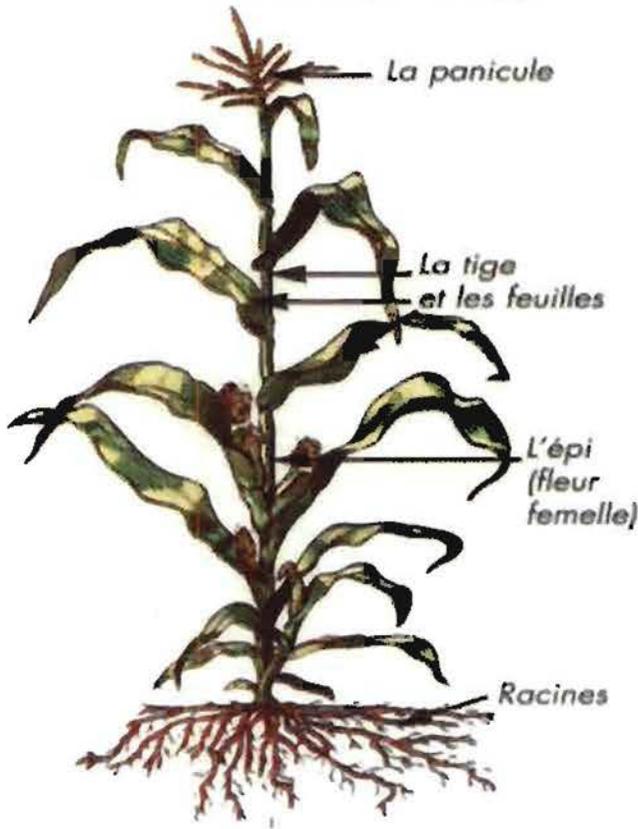
Le maïs (*Zea mays* L.) est de la famille des Graminées, de la sous famille des Panicoideae, de la tribu de *maydeae*, du genre *Zea* et de l'espèce *mays*. L'espèce *mays* est la seule du genre *Zea* (Iddi, 1987).

#### **1.2.2. Morphologie**

-L'appareil végétatif : il est composé d'une tige, des feuilles et des racines (Figure 1). La tige est unique le plus souvent et est de taille comprise entre un (1) et trois (3) mètres. Elle est constituée de nœuds et d'entre-nœuds. Chaque nœud donne naissance à une seule feuille. La feuille se compose à son tour d'une gaine, d'un limbe et d'une ligule. Les feuilles sont alternes, larges à nervures parallèles à la nervure centrale. Quant aux racines, elles sont fasciculées, aussi traçantes que plongeantes (Soltner, 1986).

-L'appareil reproducteur : il est constitué aussi bien de fleurs mâles (panicule), que de fleurs femelles (épi) séparées dans l'espace (Figure 1). Les premières forment la panicule terminale tandis que les secondes sont regroupées en une ou plusieurs épis à l'aisselle de la plante. Elles apparaissent par leurs longs styles qui sortent des spathes. Le maïs est une plante monoïque à fécondation croisée (Soltner, 1986).

-Les grains : ils sont plus ou moins cornés. Selon l'état farineux ou vitreux des grains, on distingue le maïs corné ou «flint corn», le maïs denté ou «dent corn», le maïs denté corné ou «flint dent corn» et le maïs à éclater ou «pop corn» (Soltner, 1986).



Alveis de Oleveira (2010) cité par Millogo (2010)

**Figure 1 : Morphologie du maïs**

### 1.3. Importance du maïs

Le maïs est une des plantes les plus cultivées dans le monde. Il occupe la troisième place après le riz et le blé. Il a connu plusieurs croisements pendant des centaines d'années à travers différentes régions du monde. Ce qui explique que le maïs compte plus de cent variétés offrant ainsi une grande diversité génétique. Cette grande diversité offre au maïs une large adaptation favorisant ainsi sa large diffusion à travers le monde (White et Carson, 1999). Le maïs est également la céréale dont la zone de culture est la plus vaste au monde (Marchand *et al.*, 1997).

Au Burkina Faso, la culture du maïs connaît un essor particulier dans les zones cotonnières au regard de sa capacité de valorisation du reliquat de fertilisant. Il est surtout utilisé dans

l'alimentation humaine sous forme de maïs grillé, bouilli ou transformé. La transformation consiste à écraser les grains pour obtenir de la farine qui est utilisée pour la préparation de la bouillie, du tô, du couscous, ou pour la préparation des boissons alcoolisées.

Le maïs joue un rôle important pendant les périodes de soudure grâce aux variétés précoces qui sont consommées en épi vert grillé. La commercialisation de ces épis dès le mois de septembre constitue une source de revenus pour différents ménages (CIRAD-CA, 1994).

L'atout majeur du maïs est l'intérêt que lui porte la recherche par la création de nouvelles variétés riches en éléments nutritifs, tolérantes à la sécheresse, aux maladies et ayant un haut rendement.

#### **1.4. Culture du maïs**

La culture du maïs est longtemps restée pluviale. Cependant dans les années 2000 le programme Petite Irrigation mis en place par le Ministère en charge de l'agriculture a rendu possible la culture du maïs en saison sèche dans le but de relever le défi de l'autosuffisance alimentaire. Aussi, assiste-t-on à une augmentation de la production et des superficies emblavées grâce aux potentiels d'intensification de la culture de maïs (Sanou, 1996).

Les zones de prédilection de la culture du maïs sont les régions de l'Ouest et du Sud ouest du pays. Ces régions ont un climat de type sud soudanien et sont caractérisées par une pluviométrie de près de 900 mm/an (Sivakumar et Gnoumou, 1987).

Selon Sédogo (1981) cité par Sanou (1996), trois types de champs caractérisent la maïsiculture au Burkina Faso. Ce sont:

- Les champs de case : de petites superficies, ils se situent à proximité des concessions. (Sédogo, 1981 cité par Sanou, 1996). Dans ces champs, le maïs à cycle court est cultivé pour être consommé en période de soudure (Sanou, 1996).
- Les champs du village : ils ont une superficie plus importante et un niveau de fertilité acceptable (Sédogo, 1981 cité par Sanou, 1996). Les variétés utilisées sont les variétés à cycle intermédiaire (Sanou, 1996).
- Les champs de brousse : ils sont très loin du village avec des niveaux de fertilité bas (Sédogo, 1981 cité par Sanou, 1996). Les cultivars utilisés sont à cycle long (Sanou, 1996).

## 1.5. Exigences du maïs

Le maïs est une plante exigeante à plusieurs points de vue. Ses mécanismes d'accumulation chlorophyllienne lui confèrent de grandes possibilités dans la synthèse de l'amidon, pourvu que l'énergie solaire lui soit disponible (Rouanet, 1984).

Par ailleurs, la germination du maïs exige une température assez élevée. Celle-ci est impossible en dessous de 10°C. Par contre, la fécondation est perturbée quand la température est au delà de 35°C et quand l'air est sec.

Le maïs exige un sol riche en éléments minéraux et en matière organique. Il a besoin d'un apport régulier et équilibré en éléments minéraux. Les éléments minéraux les plus importants sont l'azote, le phosphore et le potassium. Juste avant la période de floraison, les besoins du maïs en azote augmentent. L'apport d'urée en cette période permet une bonne formation de l'épi. L'assimilation du phosphore se fait durant toute la croissance, du semis à la maturité. Le potassium intervient activement dans les processus physiologiques. D'après Sanou (2009), les doses d'engrais apportées en générale sont :

Agriculture traditionnelle: NPK (14-23-14) à raison de 100 kg/ha et urée (46-0-0) 100 kg/ha

Agriculture semi-intensive: NPK: 200 kg/ha; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 50 kg/ha; urée1: 100 kg/ha; urée 2: 50 kg/ha

Agriculture intensive: NPK: 300 kg/ha; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 50 kg/ha; urée1: 100 kg/ha ; urée 2: 50 kg/ha

Les besoins en eau du maïs varient en fonction du climat. Dans les zones à forte hygrométrie, et dans celles où la température ne dépasse pas 25°C, les besoins sont faibles. Par contre dans les zones soudaniennes où l'air est sec et les températures élevées, les besoins en eau sont plus importants. Les besoins en eau sont aussi fonction du cycle et de la variété. Mais, le maïs reste une plante très sensible à des poches de sécheresse pendant la période encadrant la floraison (IITA, 1981).

## 1.6. Contraintes à la culture

La maïsiculture est confrontée à de nombreux problèmes d'ordres abiotique et biotique.

-Les contraintes abiotiques se résument aux facteurs pédoclimatiques.

Le climat joue un rôle primordial dans la culture du maïs. Avec les changements climatiques, on enregistre souvent une pluviométrie excédentaire qui n'est pas toujours favorable du fait de la violence des précipitations et des inondations qui en résultent.

Les sols au Burkina Faso sont en majorité pauvres en azote et en phosphore. Les faibles teneurs en azote et en phosphore handicapent le développement normal de la plante.

Cependant, le faible pouvoir d'achat des producteurs ne leur permet pas d'acquérir les matières fertilisantes ce qui entraîne l'appauvrissement croissant des sols.

-Les contraintes biotiques :

En ce qui concerne les contraintes biotiques, elles se divisent en trois types : les ravageurs, les mauvaises herbes et les maladies.

Les ravageurs se composent des oiseaux, des insectes, des rongeurs, etc. qui consomment soit les grains semés ou les jeunes plantes ou encore les grains formés à maturité ou non. Les oiseaux et les insectes peuvent également être des vecteurs de maladies. Les insectes déprécient la qualité des grains à travers leurs activités de nutrition et de reproduction (Mlambo, 1992 cité par Sanou, 2004). Dans leur recherche de nourriture, les oiseaux peuvent provoquer des manques à la levée ; c'est notamment le cas de francolin (Sanou, 2004). Plusieurs mauvaises herbes et plantes parasites freinent le développement du maïs qui supporte mal la concurrence. Parmi ces plantes le striga est le plus redouté car il occasionne des pertes important de rendement. Il y a également les nématodes qui occasionnent des dégâts sur les cultures. Quant aux maladies du maïs, elles peuvent être causées par plusieurs agents pathogènes tels que les nématodes, les virus, les bactéries et les champignons. Dans le cadre de notre étude nous nous intéresserons aux maladies d'origine fongique.

### 1.7. Maladies du maïs

Plusieurs maladies d'origine fongique causent de nombreux dégâts sur le maïs soit en culture ou en stockage. Les maladies les plus importants sont :

-L'antracnose : elle est souvent la première maladie à apparaître. L'agent causal est *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson. Il s'attaque aux feuilles et aux tiges. Les symptômes sont les tâches sur les feuilles, le dépérissement du sommet de la plante, et la pourriture des tiges.

-L'helminthosporiose : elle est causée par plusieurs agents pathogènes dont le genre *Bipolaris*, *Eserohilum*, *Curvularia*. Cependant celles provoquées par *Bipolaris maydis* et *Helminthosporium turcicum* ont une grande incidence sur le maïs. L'helminthosporiose due à *Bipolaris maydis* (Nisikado et Miyake) Shoemaker est une des maladies les plus importantes. Elle provoque des taches assez grandes sur les feuilles qui deviennent des nécroses et prennent la coloration marron ou grise plus ou moins foncée (Iddi, 1987). L'helminthosporiose du maïs peut être causée par *Helminthosporium turcicum* Léonard et Suggs (Luttr.). C'est une des principales maladies du maïs à travers le monde. L'infection commence par les feuilles les plus basses et se propage sur les autres feuilles. Sur les feuilles,

de petites taches légèrement ovales et de consistance aqueuse sont observées. (De Léons, 1986 cité par Bonzi, 2005).

-La rouille du maïs : elle se manifeste par des pustules (boutons) sur les feuilles, les tiges et les racines. L'agent causal est *Puccinia polysora*. Au Burkina, cette maladie est rencontrée surtout dans les zones humides (Iddi, 1987).

-La fusariose de l'épi et du grain: elle affecte les grains disséminés autour de la rafle. Cette infection est causée par *Fusarium verticillioides* qui produit une moisissure de couleur blanche à rose ou de couleur saumon. Il arrive qu'on voie des stries blanches ou rayonnement à la surface des grains infectés. Même si de nombreuses espèces de champignons du genre *Fusarium* peuvent être responsables de ces symptômes, la principale espèce est *Fusarium verticillioides*. (Anonyme 1, 2009).

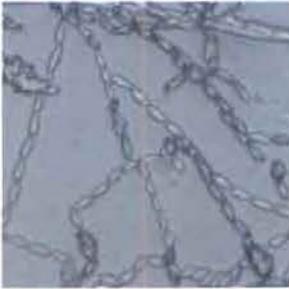
## Chapitre II: Généralités sur *Fusarium verticillioides*

*Fusarium verticillioides* est un important agent pathogène du maïs. Il est un agent de moisissures qui se développe en conditions d'humidité élevée et entraîne une baisse de la qualité des grains. Il est considéré comme le principal agent pathogène habilité à produire des mycotoxines sur les grains de maïs en stockage (Rossi *et al.*, 2008).

### 2.1. Classification et morphologie

*F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn. *Fusarium moniliforme* Sheld.) est le champignon responsable de la fusariose du maïs (PDSA, 2012). C'est un champignon imparfait de l'ordre des Moniliales ou Hyphomycètes, de la famille des Tuberculariacées, du genre *Fusarium*.

La colonie mycélienne présente généralement une coloration rose sur le milieu de culture Malt Agar. Les conidiophores sont peu ramifiés et produisent des conidies en chaînes fines et très longues. Le champignon produit des micro-conidies unicellulaires et quelque fois des macro-conidies droites ou incurvées, pourvues de trois à sept cloisons (Champion, 1997). Les microconidies sont hyalines, fusiformes, unicellulaires et occasionnellement bicellulaires. Elles sont disposées en chaînes et mesurent 5-12 x 1,5-2,5 µm. Les macroconidies sont hyalines, droites ou légèrement incurvées et munies de 3 à 7 cloisons. Leurs dimensions varient de 25-60 x 2,5-4,0 µm (Mathur et Kongsdal, 2003)). Sur milieu gélosé, les colonies mycéliennes sont rasantes et poudreuses (Champion, 1997). Le champignon ne forme pas de chlamydospores.



PDSA (2012)

**Photo 1 : Conidies en chaînes de *F. verticillioides***



Zida *et al.* (2010)

**Photo 2 : Macroconidies et microconidies de *F. verticillioides***

### 2.2. Symptômes

La fusariose se manifeste sur les organes végétatifs par une pourriture des racines et du collet de la tige. C'est un champignon qui cause des flétrissements de plantes, des pourritures de la

moelle, des décolorations rougeâtres des tissus vasculaires. Sur les grains, la maladie se manifeste par la présence de stries blanches émanant de l'embryon. Les grains sont impropres à la consommation humaine et animale à cause des mycotoxines telles que la fumonisine B1 et B2 produites par ce champignon (PDSA, 2012).

### **2.3. Cycle biologique**

*Fusarium verticillioides* se conserve sur les débris végétaux, le sol et les semences sous forme de mycélium et de conidies. Il peut survivre au-delà de 900 jours en conditions d'humidité ou de sécheresse (Liddell et Burgess, 1985 cités par Burgess *et al.*, 1994). Il peut être également transmis par l'eau et le vent. L'infection se fait soit par les blessures opérées par les insectes, les outils agricoles ou autres, soit par la semence infectée. Les conidies pénètrent à travers les ouvertures et le champignon évolue dans la plante de façon systémique et contamine les grains. En cas de forte infection, la viabilité des grains peut être affectée (PDSA, 2012).

### **2.4. Incidence économique**

Le maïs est une des cultures prometteuses du Burkina Faso, du fait qu'il permet deux récoltes par an. Cependant, l'infection par *F. verticillioides* pourrait entraîner des baisses de rendements considérables (Czembor *et al.*, 2010) vu qu'il est la cause de nombreuses fontes de semis. L'infection des grains en stockage par *F. verticillioides* provoquent des pertes de la qualité commerciale et nutritionnelle. Dans les régions plus chaudes comme en Espagne et en Tunisie, un stade avancé de contamination des plantes peut entraîner un dessèchement brutal de la plante (Champion, 1997).

### **2.5. Incidence sur la santé**

*F. verticillioides* est un des agents de moisissures qui sécrète plusieurs mycotoxines dont la Fumonisine B1 et la Fumonisine B2. Les études ont montré que ces mycotoxines sont à l'origine de leucoencéphalomalacie sur les chevaux, de hépatocarcinogénie chez les rats et d'une activité cancérigène rapide chez les rats (Alberts *et al.*, 1990). Aussi, des études sur la Fumonisine B1 dans les grains de maïs ont montré que la volaille nourrie avec le maïs infecté provoque une diarrhée du mucus avec 59% de mortalité et 30% des poules présentant des signes nerveux pendant la période expérimentale (4 semaines). Plusieurs dysfonctionnements sont constatés sur les acides aminés. Ils concernent les concentrations en protéine du sérum, de l'albumine, du calcium, du cholestérol et de la créatine. Des modifications considérables au niveau des paramètres hémato-biochimiques sont constatées. La fumonisine B1 provoque

des œdèmes pulmonaires chez les porcins. Elle est source de toxicité et de cancer de foie chez les rats et la fumonisine B1 entraîne des arthérosclérosie chez les singes. Elle serait à l'origine d'une haute fréquence du cancer de l'œsophage chez les êtres humains en Afrique du sud et en Chine (Asrani *et al.*, 2006).

## **2.6. Méthodes de Lutte**

La moisissure provoquée par *F. verticillioides* est omniprésente dans le maïs (Munkvold et Desjardins, 1997). La lutte contre cet agent pathogène passe entre autre par la pratique de bonnes méthodes culturales qui consiste à arracher et à brûler toutes les plantes infectées, à observer une rotation de deux à trois ans sur les sols infestés, à utiliser des semences saines (Dao, 2010), à maintenir une fertilisation équilibrée en azote et en phosphore, et à appliquer une densité de semis adéquate. La lutte chimique est la méthode la plus employée parce qu'elle permet d'avoir des résultats spectaculaires (Sanon, 2004). Les produits chimiques utilisés généralement sont les fongicides Bavistin + Thyrame, le Calthio C (25% chlorpyrisfos-ethyl et 25% de thirame) et le Dithane M45 (m.a, mancozèbe 80). Cependant, l'utilisation des produits de synthèse a des conséquences néfastes sur l'environnement et la santé humaine donc un handicap majeur à leur utilisation. La méthode la plus recommandée est l'utilisation des variétés résistantes qui donne de meilleurs résultats parce que la plante est habilitée à lutter contre les champignons sans l'aide d'une autre substance.

## **Chapitre III: Utilisation des dérivés de plantes dans la lutte contre les agents phytopathogènes**

La lutte contre les agents pathogènes des plantes passe par l'utilisation de plusieurs méthodes dont les plus connues sont les méthodes culturales, les traitements avec les produits de synthèses, l'utilisation de variétés résistantes. Mais le moyen le plus employé est l'utilisation des pesticides de synthèse. En ce qui concerne la conservation des récoltes, les paysans ont un savoir faire propre à eux qui consiste à utiliser des produits dérivés des plantes contre les bio-agresseurs. C'est ce savoir faire que la recherche a mis en valeur avec l'utilisation des extraits de plantes.

### **3.1. Utilisation des pesticides naturels dans la protection des végétaux**

Les pesticides naturels sont des produits obtenus à partir des plantes. Ils sont généralement moins dangereux et plus spécifiques pour la cible visée par rapport aux pesticides conventionnels (Garrier, 2009). En effet, la cendre ou les parties de la plante (feuilles, fruits, racines, écorce), ou même la plante entière était utilisée pour la protection des récoltes. Ces pratiques exploitent les propriétés des plantes que leur confèrent des substances actives qu'elles contiennent. L'identification de ces plantes et leurs propriétés ainsi que leur localisation dans la plante permettent leur exploitation (Soalla, 2011). Cette exploitation revient moins chère aux paysans et les produits sont biodégradables et respectueux de l'environnement.

### **3.2. Utilisation des extraits aqueux de plantes dans la protection des végétaux**

Les champignons causent de nombreux dégâts sur les cultures et les stocks de produits. Les moyens de lutte efficace sont l'utilisation de fongicides de synthèse. Mais compte tenu de leurs effets néfastes sur l'environnement et sur la santé humaine et animale, la recherche a mené de nombreux travaux sur les extraits de plantes. Ces travaux ont permis d'obtenir des résultats satisfaisants. Ainsi, les extraits aqueux des feuilles de *Azadirachta indica*, de *Boscia senegalensis*, de *Guiera senegalensis* en pulvérisation sur *Arachis hypogaea* L. (arachide) réduisent la sévérité d'attaque de la cercosporiose (Karimou, 1999). Bonzi (2007) a mis en évidence une activité antifongique des extraits aqueux de *Balanites aegyptiaca*, *Cassia occidentalis*, *Cymbopogon citratus* et *Portulaca oleracea* L. contre *Colletotrichum graminicola*. Somda *et al.* (2003) attestent que l'extrait aqueux de *P. oleracea* à 30% réduit la croissance mycélienne de *Bipolaris maydis*. L'extrait aqueux de Neem en traitement de

semences entraîne une baisse du taux d'infection par les champignons (Montel, 2004). Les extraits aqueux de plantes sont non seulement efficaces dans la lutte contre les champignons, mais leur innocuité sur l'environnement encourage leur utilisation à la place des produits de synthèse (Weaver et Subramanyam, 2000 cités par Bonzi, 2007).

### **3.3. Utilisation des huiles essentielles en protection des végétaux**

Les huiles essentielles existent généralement que chez les végétaux supérieurs. Les plantes à huiles essentielles dégagent généralement une odeur parfumée et sont ainsi appelées plantes aromatiques (Bruneton, 1993 et Moore, 1975 cités par Nébié, 2006). Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux, comme les fleurs, les feuilles (Eucalyptus, citronnelle), les écorces (cannelier), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre), les fruits (anis) et les graines (muscade) (Deysson, 1978 cité par Nébié, 2006). Elles sont utilisées dans l'alimentation, la médecine traditionnelle et la protection des végétaux. Aussi, les huiles essentielles connaissent plusieurs applications industrielles notamment dans l'industrie agroalimentaire.

Les huiles essentielles ont de nombreuses propriétés insecticides et antifongiques. En effet plusieurs travaux de recherches ont donné des résultats probants. L'activité antifongique des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora* a été démontrée sur la transmission de *Phoma sorghina* sur les plantules de sorgho (Puryilé Médah, 2009). Les huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*, *C. giganteus*, *Lippia multiflora*, *Ocimum basilicum* et *Securidaca longepedunculata* ont des propriétés antifongiques (Nébié, 2006). L'application de l'huile essentielle de *Armoracia rusticana* sur *Lycoriella ingenua* provoque une mortalité de 100% de celui-ci (Park *et al.*, 2006). Somda *et al.* (2007) montrent que l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* est efficace contre *P. sorghina* et *F. moniliforme* en traitement de semence.

Si la recherche continue ses investigations, l'exploitation de ses substances chimiques naturelles des plantes serait une méthode réaliste et écologiquement saine pour la protection des cultures. Aussi, elle aura un rôle préminent dans la fabrication de futurs pesticides (Tiendrebéogo, 2011).

# **Deuxième partie :**

# **Expérimentations**

# Chapitre I : Analyse sanitaire des semences de maïs

## 1.1. Introduction

La semence est l'intrant clé d'une culture. Elle est le facteur déterminant le potentiel de rendement. Comme le dit très bien Schribaux (1974) cité par Sanon (2004) : « telle semence, telle production ». Il est donc nécessaire d'utiliser des semences de qualité pour espérer avoir une bonne récolte. Mais de nombreuses maladies d'origine fongique transmises par la semence affectent la productivité de la plante, d'où l'intérêt de connaître l'état sanitaire des semences qui seront utilisées. Cela permettra d'envisager un traitement adéquat pour réduire l'effet de ces maladies sur la plante.

## 1.2. Matériel végétal

Cent seize (116) échantillons de semences de cultivars locaux de maïs collectés dans différentes localités auprès des paysans (Sanou et Gouesnard, 2011) sont analysés. Ils nous ont été fournis par le Programme Céréales Traditionnelles de la Direction Régionale de Recherches Environnementales et Agricoles de l'Ouest.

Les échantillons de semences de maïs sont collectés dans quarante trois (43) localités réparties dans dix sept (17) départements et onze (11) provinces que sont : Houet (70 échantillons), Balé (15 échantillons), Comoé (12 échantillons), Léraba (6 échantillons), Sourou (5 échantillons), Kéné Dougou (3 échantillons), Bam (2 échantillons), Mouhoun (1 échantillon), Nayala (1 échantillon), Soum (1 échantillon) et Yatenga (1 échantillon) (Figure 2). Ces cultivars locaux se caractérisent par plusieurs colorations du péricarpe (Photo 3 et Photo 4). Ils sont conditionnés dans des sachets avec des étiquettes sur lesquelles sont inscrites la localité, la variété et quelques remarques sur l'échantillon (Tableau I). Ces échantillons sont conservés au laboratoire à 5°C au réfrigérateur.

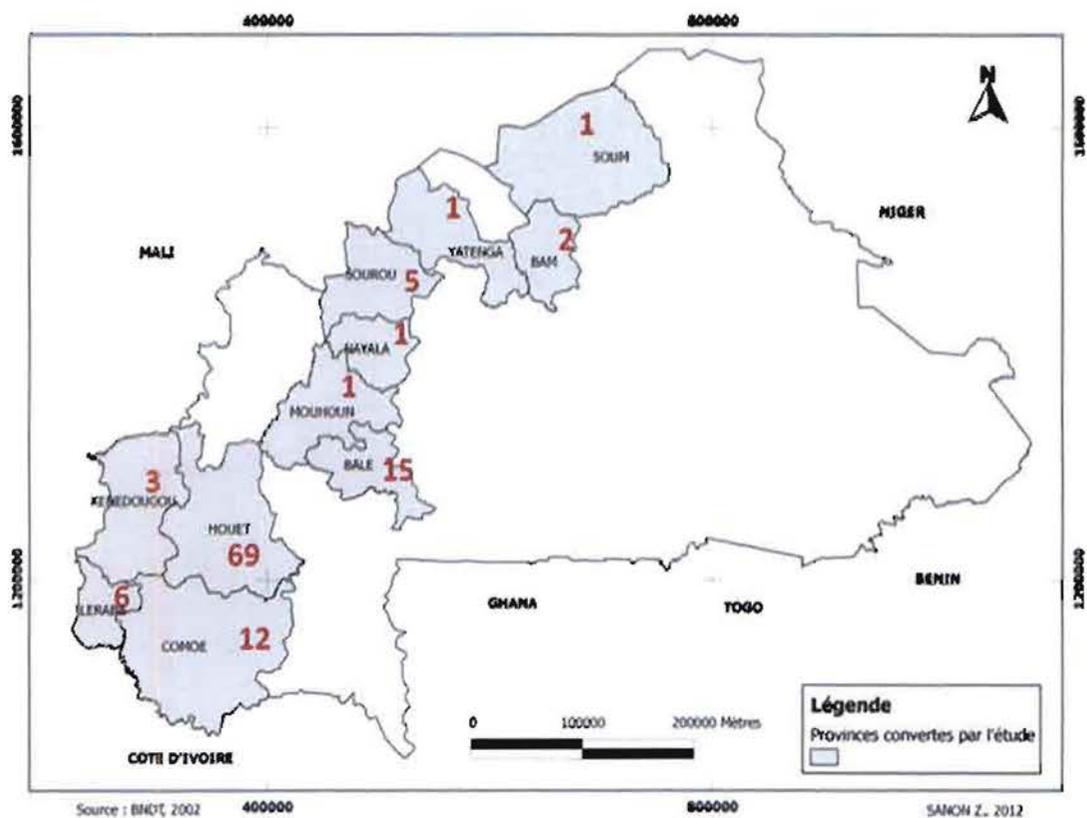


Figure 2 : Carte du Burkina Faso représentant le nombre d'échantillons collectés par provinces



Photo 3 : Couleur du péricarpe : A : blanc ; B : jaune ; C : rouge ; D : violet



Photo 4 : Couleur du péricarpe (Suite) : E : Jaune rouge ; F : violet jaune ; G : violet blanc ; H : rouge violet

**Tableau I : Caractéristiques des cent seize (116) échantillons de semences de cultivars locaux de maïs collectés au Burkina Faso.**

N° d'ordre	Code de l'échantillon	Couleur de péricarpe	Localité	Département	Province
1	B01-01-1	Blanche	Yendéré	Niangoloko	Comoé
2	B01-02-1	Rouge	Yendéré	Niangoloko	Comoé
3	B01-02-2	Jaune	Yendéré	Niangoloko	Comoé
4	B01-03-1	Blanche	Yendéré	Niangoloko	Comoé
5	B01-04-1	Jaune	Yendéré	Niangoloko	Comoé
6	B01-05-1	Blanche	Yendéré	Niangoloko	Comoé
7	B01-06-1	Blanche	Yendéré	Niangoloko	Comoé
8	B01-07-1	Blanche	Yendéré	Niangoloko	Comoé
9	B01-08-1	Blanche	Yendéré	Niangoloko	Comoé
10	B02-01-1	Jaune	Koutoura	Niangoloko	Comoé
11	B02-02-1	Blanche-Jaun	Koutoura	Niangoloko	Comoé
12	B02-03-1	Blanche	Koutoura	Niangoloko	Comoé
13	B03-01-1	Rouge-Jaune	Lahirasso	Padéma	Houet
14	B03-02-1	Blanche	Lahirasso	Padéma	Houet
15	B03-03-1	Blanche	Lahirasso	Padéma	Houet
16	B03-04-1	Jaune	Lahirasso	Padéma	Houet
17	B03-05-1	Blanche-Vio	Lahirasso	Padéma	Houet
18	B03-06-1	Jaune	Lahirasso	Padéma	Houet
19	B03-07-1	Jaune-Rouge	Lahirasso	Padéma	Houet
20	B03-08-1	Blanche-Vio	Lahirasso	Padéma	Houet
21	B03-09-1	Jaune violet	Lahirasso	Padéma	Houet
22	B03-10-1	Jaune	Lahirasso	Padéma	Houet
23	B03-11-1	Jaune-Rouge	Lahirasso	Padéma	Houet
24	B03-12-1	Rouge-Jaune	Lahirasso	Padéma	Houet
25	B03-13-1	Violet	Lahirasso	Padéma	Houet
26	B03-14-1	Violet	Lahirasso	Padéma	Houet
27	B03-15-1	Rouge	Lahirasso	Padéma	Houet
28	B03-16-1	Blanche	Lahirasso	Padéma	Houet
29	B03-17-1	Jaune-Violet	Lahirasso	Padéma	Houet
30	B03-18-1	Jaun-Vio-Bl	Lahirasso	Padéma	Houet

Suite du tableau I

N° d'ordre	Code l'échantillon	de Couleur du péricarpe	Localité	Département	Province
31	B03-19-1	Violet-Blanc	Lahirasso	Padéma	Houet
32	B04-01-1	Jaune	Yabasso	Léna	Houet
33	B04-02-1	Jaune	Yabasso	Léna	Houet
34	B04-03-1	Violet	Yabasso	Léna	Houet
35	B05-01-1	Rouge	Bâh	Léna	Houet
36	B05-01-2	Jaune	Bâh	Léna	Houet
37	B05-01-3	Blanche-Jaun	Bâh	Léna	Houet
38	B06-01-1	Rouge-Jaune	Kouekouesso	Léna	Houet
39	B07-01-1	Blanche-Jaun	Toungouana	Léna	Houet
40	B07-01-2	Jaune	Toungouana	Léna	Houet
41	B08-01-1	Blanche	Pandéma	Pandéma	Houet
42	B08-02-1	Rouge	Pandéma	Pandéma	Houet
43	B08-03-1	Jaune	Pandéma	Pandéma	Houet
44	B08-04-1	Jaune	Pandéma	Pandéma	Houet
45	B08-05-1	Rouge-Jaune	Pandéma	Pandéma	Houet
46	B08-06-1	Violet	Pandéma	Pandéma	Houet
47	B09-01-1	Jaune	Nasso	Bobo-Dioulasso	Houet
48	B09-02-2	Jaune	Nasso	Bobo Dioulasso	Houet
49	B09-03-1	Jaune	Nasso	Bobo Dioulasso	Houet
50	B09-04-1	Blanche	Nasso	Bobo Dioulasso	Houet
51	B09-05-1	Jaune	Nasso	Bobo Dioulasso	Houet
52	B09-06-1	Blanche	Nasso	Bobo Dioulasso	Houet
53	B09-07-1	Jaune	Nasso	Bobo Dioulasso	Houet
54	B10-01-1	Blanche	Nianwarè	Toussiana	Houet
55	B10-02-1	Jaune-Blanc	Nianwarè	Toussiana	Houet
56	B11-01-1	Jaune	Wempéa II	Toussiana	Houet
57	B11-01-2	Jaune	Wempéa II	Toussiana	Houet
58	B12-01-1	Jaune	Pouanya	Toussiana	Houet
59	B13-01-1	Violet-Bl	Tago	Dandé	Houet
60	B13-02-1	Blanche	Tago	Dandé	Houet

Suite du tableau I

N° d'ordre	Code de l'échantillon	Couleur de Péricarpe	Localité	Département	Province
61	B13-02-2	Jaune	Tago	Dandé	Houet
62	B13-03-1	Jaune	Tago	Dandé	Houet
63	B13-04-1	Blanche	Tago	Dandé	Houet
64	B13-05-1	Jaune	Tago	Dandé	Houet
65	B13-06-1	Rouge	Tago	Dandé	Houet
66	B13-06-2	Blanche	Tago	Dandé	Houet
67	B13-06-3	Blanche	Tago	Dandé	Houet
68	B13-07-1	Jaune	Tago	Dandé	Houet
69	B14-01-1	Jaune	Zangoma	Pandéma	Houet
70	B15-01-1	Jaune	Téwoulé	N'Dorola	Houet
71	B16-01-1	Blanche	Fara	Kourouma	Houet
72	B17-01-1	Jaune	Soumorodougou	Koundougou	Houet
73	B18-01-1	Jaune	Hapirkuy	Dédougou	Mouhoun
74	B19-01-1	Jaune-Rouge	Doubassa	Yé	Nayala
75	B20-01-1	Jaune	Soro	Gassan	Sourou
76	B20-01-2	Jaune	Soro	Gassan	Sourou
77	B21-01-1	Rouge-Jaune	Gouran	Lanfiéra	Sourou
78	B21-01-2	Jaune	Gouran	Lanfiéra	Sourou
79	B22-01-1	Ro-Jaun-Vio	Faodogo	Namsigma	Yatenga
80	B23-01-1	Jaune	Pobé Mengao	Pobé Mengao	Soum
81	B24-01-1	Blanche	Bouéga	Kongoussi	Bam
82	B25-01-1	Jaun-Ro-Vio	Bourzanga	Kongoussi	Bam
83	B26-01-1	Jaune-Violet	Bonou	Tougan	Sourou
84	B27-01-1	Jaune	Djigouéma	Pandéma	Houet
85	B27-02-1	Jaune	Djigouéma	Pandéma	Houet
86	B28-01-1	Blanche	N'Dorola	N'Dorola	Kéné Dougou
87	B29-01-1	Blanche	Dingasso 1	N'Dorola	Kéné Dougou
88	B30-01-1	Blanche	Dingasso 2	N'Dorola	Kéné Dougou
89	B31-01-1	Blanche	Didié	Pâ	Balé
90	B32-01-1	Jaune	Kopoi	Pâ	Balé

Suite et fin du tableau I

N° d'ordre	Code de l'échantillon	Couleur de pélicarpe	Localité	Département	Province
91	B33-01-1	Blanche	Pâ	Pâ	Balé
92	B34-01-1	Jaune	Mou	Oury	Balé
93	B35-02-1	Jaune	Oury	Oury	Balé
94	B36-01-1	Blanche	Siou	Oury	Balé
95	B36-01-2	Jaune	Siou	Oury	Balé
96	B36-01-3	Jaune	Siou	Oury	Balé
97	B37-01-1	Jaune	Seyou	Oury	Balé
98	B37-01-2	Blanche	Seyou	Oury	Balé
99	B37-01-3	Blanche	Seyou	Oury	Balé
100	B38-01-1	Bl-Vi-Ro-Ja	Mahon	Kangala	Balé
101	B38-02-1	Jaune	Mahon	Kangala	Balé
102	B38-03-1	Blanche	Mahon	Kangala	Balé
103	B38-04-1	Blanche	Mahon	Kangala	Balé
104	B39-01-1	Jaune	Sala	Satiri	Houet
105	B39-02-1	Jaune	Sala	Satiri	Houet
106	B39-03-1	Jaune	Sala	Satiri	Houet
107	B39-04-1	Rouge	Sala	Satiri	Houet
108	B40-01-1	Jaune	Ramatoulaye	Satiri	Houet
109	B40-02-1	Jaune	Ramatoulaye	Satiri	Houet
110	B41-01-1	Jaune	Nefrelaye	Satiri	Houet
111	B42-01-1	Jaune	Sindou	Sindou	Léraba
112	B42-02-1	Jaune	Sindou	Sindou	Léraba
113	B42-03-1	Jaune-Violet	Sindou	Sindou	Léraba
114	B42-04-1	Jaune	Sindou	Sindou	Léraba
115	B42-05-1	Jaune	Sindou	Sindou	Léraba
116	B43-01-1	Rouge-Jaune	Douna	Douna	Léraba

Jaun : Jaune ; Vio : Violet ; Ro : Rouge ; Bl : Blanche

### **1.3. Méthodes**

#### ***1.3.1. Échantillonnage***

L'échantillonnage a été réalisé selon la méthode proposée par ISTA (1999). A partir de l'échantillon soumis, un échantillon de travail de trente (30) grains est obtenu à l'aide du diviseur conique.

#### ***1.3.2. Incubation des semences***

L'incubation des semences est faite selon la méthode du papier buvard humidifié telle que décrite par Mathur et Kongsdal (2003). Les grains sont répartis à raison de 10 grains par boîte de Pétri de 9 cm de diamètre. Ces boîtes sont mises au congélateur pendant 24 h à -15°C afin de réduire l'énergie germinative des grains et de favoriser le développement des champignons. Les boîtes sont transférées dans une chambre d'incubation à 22°C sous 12 h de lumière proche UV alternée avec 12 h d'obscurité pendant six (06) jours.

#### ***1.3.3. Évaluation des semences***

Elle a lieu sept (7) jours après incubation et consiste à une observation et identification à la loupe stéréoscopique et au microscope optique de tous les champignons sur les grains. L'identification se fait sur la base de certains caractères spécifiques aux différents champignons (couleur, forme des conidies, ou des pycnides). Les résultats obtenus sont enregistrés sur une fiche d'évaluation conçue à cet effet (Annexe 1).

#### ***1.3.4. Analyse des données et présentation des résultats***

Les données de l'analyse sanitaire des trente (30) grains ont été ramenées à cent et les moyennes ont été calculées avec le logiciel Excel. Les résultats sur la fréquence et les taux d'infection sont présentés sous forme de tableaux.

### **1.4. Résultats**

L'analyse sanitaire révèle la présence de dix sept (17) espèces de champignons sur les semences de maïs. Elles se composent de champignons saprophytes (05) et de champignons pathogènes (12). Les résultats obtenus montrent que la fréquence de ces champignons varie d'une province à une autre et d'un échantillon à un autre (tableaux II et III). Les taux varient de 91,7 à 100% pour *Fusarium verticillioides* qui est plus fréquent et de 0 à 6,7% pour *F. pallidoroseum* qui est le moins fréquent.

#### **1.4.1. Fréquences des espèces de champignons pathogènes**

Douze (12) espèces de champignons pathogènes sont présentes sur les échantillons de semences de maïs analysés. Les espèces pathogènes rencontrées sont *F. verticillioides*, *Botryodiplodia theobromae*, *Acremonium strictum*, *Curvularia lunata*, *C. pallescens*, *C. eragrostidis*, *Bipolaris maydis*, *Nigrospora oryzae*, *Phoma sorghina*, *Exserohilum rostratum*, *F. pallidoroseum* et *Alternaria radicina* (Tableau II). Leur fréquence varie en fonction des échantillons et des zones de collecte. L'espèce la plus fréquente est *F. verticillioides* avec 99,11% et celle qui est la moins fréquente est *F. pallidoroseum* avec 0,6%. La plus grande diversité d'espèces de champignons est rencontrée dans le Houet. Cette province est suivie du Bam avec respectivement onze (11) et huit (08) espèces fongiques sur les douze (12) espèces fongiques identifiées au total. Dans la province du Kéné Dougou, (03) espèces de champignons sont rencontrées (Tableau II).

**Tableau II : Fréquence (%) des champignons pathogènes dans les échantillons de semences de maïs collectés dans onze (11) provinces du Burkina Faso.**

Espèces de champignons	Provinces											Fm
	Houe (69)*	Bal (15)	Com (12)	Léra (6)	Sour (5)	Kéné (3)	Bam (2)	Sou (1)	Naya (1)	Mou (1)	Yate (1)	
<i>Fusarium verticillioides</i>	98,55	100	91,7	100	100	100	100	100	100	100	100	99,11
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	63,8	60	58,3	50	20	66,7	100	100	100	100	100	74,43
<i>Acremonium strictum</i>	49,3	80	100	33,3	60	33,3	100	100	100	100	0	68,71
<i>Bipolaris maydis</i>	4,3	0	16,7	33,3	0	0	0	0	100	0	0	14,02
<i>Phoma sorghina</i>	7,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	9,74
<i>Curvularia lunata</i>	15,9	6,7	0	0	20	0	50	0	0	100	100	26,6
<i>C. pallescens</i>	1,4	0	0	0	0	0	100	0	0	0	100	18,30
<i>C. eragrostidis</i>	2,9	6,7	0	0	0	0	50	0	0	100	100	23,6
<i>Exserohilum rostratum</i>	5,8	0	0	0	0	0	50	100	0	100	0	23,25
<i>Nigrospora oryzae</i>	4,3	0	8,3	0	0	0	0	0	0	0	0	1,14
<i>F. pallidoroseum</i>	0	6,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,6
<i>Alternaria radicina</i>	1,4	20	0	0	0	0	50	0	100	0	0	15,58
Nombre total d'espèces	11	6	5	4	4	3	8	4	5	6	6	

Fm : Fréquence moyenne \*: Nombre d'échantillons par province, Naya: Mouhoun; Yate: Yatenga  
Houe: Houet; Bal: Balé; Com: Comoé; Léra: Léraba; Sour: Sourou; Kéné: Kéné Dougou; Sou: Soum; Naya:

#### 1.4.2. Taux d'infection des semences de maïs par les champignons pathogènes.

Les champignons ont des taux d'infection qui varient selon les provinces et les échantillons de semences. Nous avons constaté que les champignons les plus rencontrés sont *F. verticillioides*, *Botryodiplodia theobromae* et *Acremonium strictum*. *F. verticillioides* a le taux d'infection le plus élevé quel que soit l'échantillon analysé (20-66,7%). Ce fort taux d'infection est observé sur les semences provenant de la province du Kéné Dougou. Le taux d'infection moyen le plus faible (20%) est rencontré dans la province du Mouhoun (Tableau

III). Quant à *Botryodiplodia theobromae*, le taux d'infection le plus élevé (63%) est observé sur les échantillons collectés dans la province du Mouhoun. Au niveau de *Acremonium strictum*, un fort taux d'infection de 23,3% est observé dans le Soum. Pour *Phoma sorghina* et *Curvularia lunata*, des taux d'infection de 20% sont enregistrés dans le Yatenga. Les champignons ayant des taux d'infection faibles sont *Bipolaris maydis*, *Alternaria radicina* et *Nigrospora oryzae* avec 0-3,3% ; *C. pallescens* avec 0-13,3% ; *C. eragrostidis* avec 0,09-6,7% et *Exserohilum rostratum* avec 0-17%. *F. pallidroseum* est le champignon qui infecte moins les échantillons de semences de maïs avec un taux d'infection de 0,04% (Tableau III).

**Tableau III : Taux d'infection (%) des échantillons de semences par les espèces de champignons pathogènes**

Espèces de champignons	Provinces										
	Houet (69*)	Balé (15)	Comoé (12)	Léraba (6)	Sourou (5)	Kénédou (3)	Bam (2)	Soum (1)	Nayala (1)	Mouhoun (1)	Yatenga (1)
<i>Fusarium verticillioides</i>	0 - 93,3 [44,2] +	6,6 - 86,6 [35,7]	0 - 73,3 [33,1]	36,6 - 76,6 [53,3]	6,6 - 63,3 [37,3]	46,6 - 86,6 [66,6]	43,3 - 63,3 [53,3]	[43,3]	[46,7]	[20]	[50]
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	0 - 53,3 [7,9]	0 - 43,3 [8]	0 - 23,3 [5]	0 - 13,3 [5,6]	0 - 46,6 [18]	0 - 23,3 [7,8]	6,7 - 13,3 [10]	[33,3]	[10]	[63,3]	[10]
<i>Acremonium strictum</i>	0 - 63,3 [7,7]	0 - 80 [19,1]	0 - 33,3 [11,4]	0 - 16,6 [3,3]	0 - 53,3 [15,3]	0 - 6,6 [2,2]	3,3 - 16,7 [10]	[23,3]	[3,3]	[16,7]	0
<i>Bipolaris maydis</i>	0 - 3,33 [0,1]	0	0 - 3,3 [0,6]	0 - 3,3 [3,3]	0	0	0	0	(3,3)	0	0
<i>Phoma sorghina</i>	0 - 23,3 [0,5]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	[20]
<i>Curvularia lunata</i>	0 - 26,6 [1,2]	0 - 3,3 [0,2]	0	0	0 - 3,3 [0,7]	0	0 - 6,6 [3,3]	0	0	[3,3]	[20]
<i>C. pallescens</i>	0 - 3,3 [0,04]	0 - 3,3 [0,2]	0	0	0	0	3,3 [3,3]	0	0	0	[13,3]
<i>C. eragrostidis</i>	0 - 3,3 [0,09]	0	0	0	0	0	0 - 6,6 [3,3]	0	0	[3,3]	[6,7]
<i>Exserohilum rostratum</i>	0 - 6,6 [0,3]	0	0	0	0	0	0 - 3,3 [1,7]	0	0	0	0
<i>Nigrospora oryzae</i>	0 - 6,6 [0,2]	0 - 3,3 [0,4]	0 - 3,3 [0,3]	0	0	0	0	[3,3]	0	[3,3]	0
<i>F. pallidoroseum</i>	0 - 3,3 [0,04]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Alternaria radicina</i>	0	0	0	0	0	0	0 - 3,3 [1,7]	0	[3,3]	0	0

Kénédou : Kénédou ; \*: Nombre d'échantillons par province ; + : Moyenne des taux d'infection par espèce fongique et par province

### 1.4.3. Fréquence des champignons saprophytes sur les semences de maïs

La plupart des champignons saprophytes sont détectés dans tous les échantillons analysés. Les champignons saprophytes observés sont *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium sp.*, *Cladosporium sphaerospermum* et *Rhizopus sp.* (Tableau IV). Les espèces fongiques les plus fréquemment observées sont *Penicillium sp.* (100%), *Aspergillus niger* (95,6%) et *A. flavus* (93,3%). Les provinces où les saprophytes sont les plus observés sont le Houet, les Balé, la Comoé, le Sourou, le Kéné Dougou, le Bam et le Nayala tandis que celle qui connaît le moins de champignons saprophytes est le Yatenga (Tableau IV).

**Tableau IV: Fréquence (%) des champignons saprophytes sur les échantillons de semences de maïs**

Espèces de champignons	Provinces											Fm
	Houet (69)*	Balé (15)	Comoé (12)	Léra (6)	Sour (5)	Kéné (3)	Bam (2)	Sou (1)	Naya (1)	Mou (1)	Yate (1)	
<i>Aspergillus flavus</i>	89,9	73,3	83,3	100	80	100	100	100	100	100	100	93,3
<i>A. niger</i>	91,1	80	100	100	80	100	100	100	100	100	100	95,6
<i>Penicillium sp.</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	15,9	26,7	91,7	0	40	33,3	100	100	100	100	0	55,2
<i>Rhizopus sp.</i>	55,0	73,3	50	100	80	66,7	50	0	100	0	0	52,3
Nombre total d'espèces	5	5	5	4	5	5	5	4	5	4	3	

Fm : Fréquence moyenne ; \*: Nombre d'échantillons par province, *Cladosporium sphaerospermum*: *Cladosporium sphaerospermum*, Léra: Léraba; Sour: Sourou; Kéné: Kéné Dougou; Sou: Soum; Naya: Nayala, Mou: Mouhoun; Yate: Yatenga

### 1.4.4. Taux d'infection des semences de maïs par les champignons saprophytes

Une importante variation est observée au niveau du taux d'infection des échantillons par les champignons saprophytes. Les taux d'infection moyens les plus élevés sont observés avec *Penicillium sp.*. Ils sont de 86,7% dans le Nayala et seulement 10% dans le Soum. *Cladosporium sphaerospermum* n'est pas détecté dans la Léraba et le Yatenga. *Rhizopus sp.* n'est pas observé non plus sur les échantillons du Soum, Mouhoun et Yatenga (Tableau V). L'analyse sanitaire montre des taux d'infection variant entre 3,3 et 60% pour *Aspergillus flavus*, entre 10 et 50% pour *A. niger*, entre 16,7 et 86,7% pour *Penicillium sp.* Les taux d'infection faibles sont observés au niveau de *Cladosporium sphaerospermum* (0 et 16,7%) et *Rhizopus sp.* (0 et 23,3%) (Tableau V).

**Tableau V : Taux d'infection (%) des échantillons de semences par les espèces de champignons saprophytes**

Espèces de champignons	Provinces										
	Houet (69*)	Balé (15)	Comoé (12)	Léraba (6)	Sourou (5)	KénéDougou (3)	Bam (2)	Soum (1)	Nayala (1)	Mouhoun (1)	Yatenga (1)
<i>Aspergillus flavus</i>	0 - 96,6 [31,8] <sup>+</sup>	0 - 70 [22,7]	0 - 53,3 [21,7]	10 - 66,6 [36,1]	0 - 50 [16,7]	6,6 - 36,6 [22,2]	16,6 - 40 [28,3]	[60]	[3,3]	[16,7]	[20]
<i>A. niger</i>	0 - 90 [33,9]	0 - 70 [24,7]	3,3 - 63,3 [21,94]	23,3 - 73,3 [49,4]	0 - 66,6 [25,3]	16,6 - 36,6 [24,4]	30 - 40 [35]	[16,7]	[10]	[13,3]	[50]
<i>Penicillium sp.</i>	3,3 - 100 [61,3]	6,6 - 93,3 [45,6]	46,6 - 100 [79,7]	23,3 - 70 [51,1]	20 - 96,6 [64,7]	36,6 - 86,6 [61,1]	40 - 53,3 [46,7]	[10]	[86,7]	[16,7]	[36,7]
<i>Cladosporium sphaerosperum</i>	0 - 26,6 [1,0]	0 - 3,3 [0,9]	0 - 3,3 [0,3]	0 [0]	0 - 26,6 [6]	0 - 6,6 [2,2]	16,6 - 23,3 [20]	[16,7]	[3,3]	[3,3]	0
<i>Rhizopus sp.</i>	0 - 76,6 [8,3]	0 - 36,6 [6,7]	0 - 33,3 [5,3]	3,3 - 46,6 [23,3]	0 - 26,6 [8]	0 - 3,3 [2,2]	0 - 16,6 [8,3]	0	[6,7]	0	0

\*: Nombre d'échantillons par province ; + : Moyenne des taux d'infection par espèce fongique et par province

## 1.5. Discussion

Les résultats de l'analyse sanitaire montrent qu'aucun échantillon n'est indemne de microorganismes. Ils sont tous infectés par des champignons pathogènes et/ou saprophytes. Il ressort de ces résultats que les champignons les plus rencontrés sont essentiellement *Fusarium verticillioides*, *Acremonium strictum*, *Botryodiplodia theobromae*, *Bipolaris maydis* qui sont tous des champignons pathogènes sur le maïs. *Phoma sorghina*, *Exserohilum rostratum*, *Curvularia lunata* et *C. pallescens* sont également présents sur les échantillons. Les résultats révèlent des taux d'infection de *F. verticillioides* variant entre 20 et 66,7% sur les semences de maïs. En ce qui concerne *F. verticillioides*, nos résultats sont en accord avec ceux obtenus en Iran par Seyed *et al.* (2004). Ils ont montré la présence de *Fusarium verticillioides* sur quatre vingt douze (92) échantillons de maïs analysés avec une fréquence de 90,2%. Ishrat & Shahnaz (2009) attestent de la présence du même champignon sur les grains de cent (100) échantillons de maïs. Il note des taux d'infection pouvant atteindre 67%. Gonzales *et al.* (1995) détectent également *F. moniliforme* sur cent soixante dix huit (178) échantillons de maïs. Ces données pourraient s'expliquer par le fait que les semences/ grains utilisées avaient des taux d'humidité élevés à la récolte et pendant la conservation. La forte fréquence et le taux d'infection élevé de *F. verticillioides* est probablement dû aux fort taux d'humidité relatives observés dans ces provinces ou les moyens de conservation des grains après récolte. Dans les provinces de l'ouest et du sud les grains sont conservés dans les greniers qui restent fermés. Tandis que dans la zone sahélienne, les épis restent au soleil soit sur les hangars soit accrochés. La grande diversité d'espèces fongiques observée dans le Houet pourrait s'expliquer par le grand nombre de cultivars dans cette province. Ce parasite produit des mycotoxines très dangereuses pour la santé humaine et animale (Bradet *et al.*, 2005). Des champignons saprophytes ont également été observés sur les grains de maïs, à savoir : *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium sp*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Rhizopus sp.* à des taux d'infection pouvant atteindre 86,7%. Ils sont capables d'infectés les grains avant ou après la récolte lorsque les conditions d'humidité et de température sont favorables à leur développement (Champion, 1997). Nous pouvons également expliquer la présence de ces espèces fongiques par une éventuelle contamination due à une mauvaise manipulation des échantillons lors du conditionnement. Ces saprophytes peuvent affecter la santé à travers les mycotoxines qu'ils produisent à savoir l'aflatoxine (*A. flavus*), la patuline et la citrinine (*Penicillium sp.*) (Boiron, 2006).

## 1.6. Conclusion partielle

L'évaluation sanitaire des échantillons de semences de maïs collectés dans onze provinces du Burkina Faso montre la présence de plusieurs champignons aussi bien pathogènes que saprophytes. *Fusarium verticillioides*, *Acremonium strictum*, *Botryodiplodia theobromae*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium sp.* ont été identifiés sur les grains de maïs. Cependant, *F. verticillioides* est le pathogène le plus fréquent (99,11%) dans les provinces et à des taux d'infection compris entre 20% à 66,7%. Dans le but de réduire ces taux d'infection, il serait plus judicieux d'entreprendre une étude pour caractériser les isolats afin d'apprécier la variabilité au sein des isolats de *F. verticillioides*.

## **Chapitre II : Analyse de la variabilité morphologique des isolats de *Fusarium verticillioides***

### **2.1. Introduction**

*Fusarium verticillioides* est un champignon qui infecte toutes les cultures vivrières. C'est un des agents de moisissures qui affecte les plantes en cultures et les récoltes pendant la période de stockage. Pour mieux le combattre, il serait plus intéressant de caractériser les isolats de ce champignon afin d'orienter les études futures pour limiter les dégâts qu'il cause. Ainsi, nous avons apprécié la variabilité morphologique des isolats de *F. verticillioides in vitro* sur milieu de culture synthétique.

### **2.2. Matériel fongique**

Cent trente cinq (135) isolats de *F. verticillioides* ont été obtenus à partir de quatre vingt deux (82) échantillons de semences de maïs à l'issue de l'analyse sanitaire. La liste de ces isolats est en annexe 2.

### **2.3. Méthodes**

#### **2.3.1. Obtention des isolats de *Fusarium verticillioides***

Un milieu de culture est préparé en mettant 42 g d'un milieu de culture synthétique (PDA) dans 1000 ml. Ce mélange est stérilisé dans un autoclave à 120°C pendant 30 minutes. A environ 45°C, un antibiotique (le sulfate de streptomycine) est ajouté à la dose de 0,25 g pour 1000 ml. Ce milieu est reparti dans des boîtes de Petri de 9 cm de diamètre. A partir d'un grain infecté, un fragment mycélien est prélevé à l'aide d'une aiguille et déposé dans une boîte de Pétri contenant le milieu de culture PDA. Un à deux isolats en moyenne sont produits par échantillon. La codification des isolats tient compte du nom de l'échantillon de semences suivi de 1 ou de 2 qui signifie le premier isolat ou la deuxième de l'échantillon en question.

#### **2.3.2. Culture des isolats de *Fusarium verticillioides***

##### **2.3.2.1. Ensemencement**

Les explantats mycéliens sont obtenus à partir de colonies pures de champignon âgées de 5 jours. Ils sont prélevés dans la zone frontale à l'aide d'un emporte-pièce de 5 mm de diamètre. A l'aide d'une aiguille incurvée, l'explantat est déposé au centre de la boîte de Petri contenant le milieu de culture. Cette dernière est scellée avec un papier para film.

### 2.3.2.2. Incubation

Les boîtes de Petri inoculées sont mises en incubation sous 12 h de lumière proche UV alternée avec 12 h d'obscurité pendant sept (07) jours.

### 2.3.2.3. Evaluation

L'évaluation a porté sur la croissance mycélienne du champignon, la couleur du champignon et l'aspect du mycélium. La croissance mycélienne est mesurée à 4 et 7 jours après incubation. Pour ce faire, deux droites perpendiculaires passant par le centre de l'explant sont tracées sur la boîte de Petri. Les droites vont servir à mesurer les diamètres des colonies mycéliennes. La couleur et l'aspect sont appréciés après chaque évaluation.

### 2.3.2.4. Analyses des données et expression des résultats

Les données ont été d'abord introduites dans le logiciel Microsoft Excel après avoir codé les résultats sur l'aspect et la couleur (annexe 3) puis l'analyse de variance a été effectuée avec le Logiciel SPSS 10.0. La comparaison des moyennes a été effectuée au seuil de 5% au moyen du test de Duncan. Une analyse factorielle a été effectuée pour séparer les isolats en dix classes suivie d'une analyse discriminante qui a permis d'avoir dix isolats représentatifs des classes. Les résultats sont représentés dans des tableaux.

## 2.4. Résultats

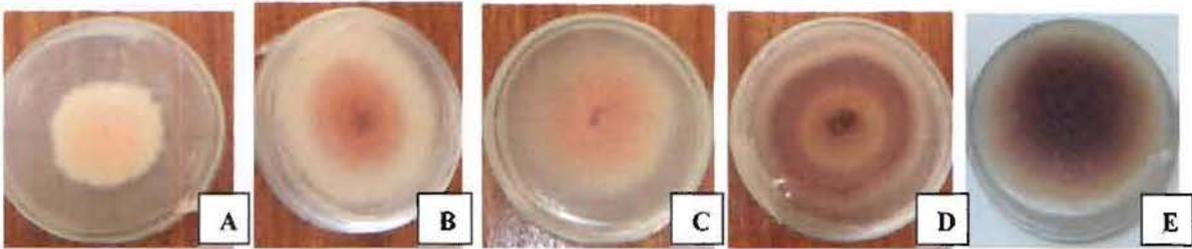
### 2.4.1. Caractérisation morphologique des isolats de *Fusarium verticillioides*

Les résultats de la caractérisation morphologique montrent une multitude de couleur, d'aspect et des vitesses de croissance mycélienne très variées. L'analyse de variance effectuée sur l'aspect, la couleur et la croissance mycélienne à quatre (4) et sept (7) jours après incubation montre des différences très hautement significatives (Tableau VI).

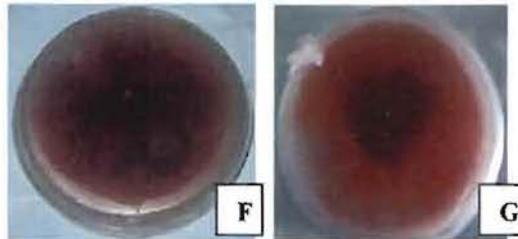
**Tableau VI: Analyse de variance des caractéristiques des isolats de *Fusarium verticillioides***

Critères	Moyenne des carrées	Degré de liberté	Test de F	Probabilité	Signification
Aspect	6,062	9	48,480	,000	THS
Couleur	56,194	9	211,970	,000	THS
CM 4 JAI	1,478	9	5,583	,000	THS
CM 7 JAI	5,618	9	16,883	,000	THS

JAI : jour après incubation, CM : croissance mycélienne (en cm) ; THS : Très Hautement Significatif.



**Photo 5: Nuances de couleurs du mycélium de *F. verticillioides* : rose clair (A), rose à bordure blanche (B), rose (C), rose violet à bordure blanche (D), violet à bordure blanchâtre (E)**



**Photo 6: Nuances de couleurs du mycélium de *F. verticillioides* : Violet foncé avec des taches (F), rose violacé avec taches (G) (Suite)**

#### **2.4.2. Choix des isolats représentatifs de *Fusarium verticillioides***

Une analyse factorielle a été faite, suivie d'une analyse discriminante pour déterminer les dix isolats qui représentent mieux les dix classes. La première analyse a permis de séparer l'ensemble des isolats en dix groupes (Annexe 4) puis la deuxième analyse a permis d'identifier les dix isolats significativement différents les uns des autres (Tableau VII). La répartition des isolats selon les classes est faite grâce aux caractéristiques des centres initiaux. Les graphiques de l'analyse discriminante ont permis de choisir les isolats qui sont plus proches des centres initiaux (Tableau VIII). Les résultats montrent que sept (07) isolats sur dix (10) proviennent de la province du Houet tandis que les provinces du Yatenga et du Nayala ne sont même pas représentées. Cependant, nous constatons que les provinces du Sourou, du Kéné Dougou et des Balé sont représentées respectivement par un isolat.

**Tableau VII: Répartition des isolats de *F. verticillioides* en fonction des classes**

Classes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Isolats	B03-15-1 1	B03-06-1 2	B03-05-1 1	B08-03-1 2	B03-01-1 1	B27-01-1 1	B01-01-1 1	B03-12-1 2	B03-03-1 2	B03-12-1 1
	B39-01-1 2	B03-11-1 2	B03-08-1 1	B26-01-1 1	B03-06-1 1		B01-02-1 2	B08-05-1 2	B03-04-1 2	B05-01-3 2
		B04-02-1 1	B03-13-1 1		B03-10-1 2		B01-07-1 1	B09-02-2 1	B03-07-1 1	B13-02-1 1
		B04-03-1 2	B03-15-1 2		B03-11-1 1		B01-07-1 2	B11-01-2 2	B03-07-1 2	B13-05-1 1
		B05-01-2 2	B08-05-1 1		B03-16-1 2		B03-01-1 2	B13-04-1 1	B03-09-1 1	B15-01-1 1
		B09-04-1 1	B08-06-1 1		B03-17-1 1		B03-03-1 1	B36-01-2 1	B03-10-1 1	B39-02-1 1
		B09-04-1 2	B11-01-2 1		B03-18-1 1		B03-04-1 1	B37-01-1 2	B03-16-1 1	
		B09-07-1 2	B13-01-1 1		B03-18-1 2		B03-14-1 2	B39-02-1 2	B05-01-2 1	
		B12-01-1 1	B13-04-1 2		B03-19-1 1		B03-17-1 2		B07-01-1 1	
		B18-01-1 2	B28-01-1 1		B04-03-1 1		B03-19-1 2		B08-03-1 1	
		B22-01-1 1	B29-01-1 1		B07-01-2 1		B05-01-3 1		B09-05-1 1	
		B26-01-1 2	B39-04-1 1		B08-01-1 1		B08-01-1 2		B09-06-1 1	
		B29-01-1 2	B40-02-1 1		B08-02-1 1		B08-04-1 1		B16-01-1 1	
		B35-01-2 1	B42-03-1 1		B08-02-1 2		B08-04-1 2		B17-01-1 1	
		B36-01-3 2	B42-03-1 2		B09-05-1 2		B09-03-1 1		B17-01-1 2	
		B43-01-1 1			B09-06-1 2		B09-03-1 1		B18-01-1 1	
					B09-07-1 1		B12-01-1 2		B19-01-1 1	
					B13-02-2 2		B13-06-1 1		B20-01-1 1	
					B13-03-1 2		B13-06-1 2		B22-01-1 2	
					B13-06-2 1		B30-01-1 1		B33-01-1 2	
					B14-01-1 1		B32-01-1-2		B35-02-1 1	
					B19-01-1 2		B33-01-1 1		B36-01-1 2	
					B20-01-1 2		B36-01-1 1		B36-01-2 2	
					B30-01-1 2		B36-01-3 1		B41-01-1 2	
					B35-02-1 2		B38-01-1 1			
					B37-01-1 1		B38-01-1 2			
					B38-01-1 1		B39-01-1 1			
					B39-03-1 2		B41-01-1 1			
					B39-04-1 2		B42-04-1 1			
					B40-01-1 1		B42-04-1 2			
					B43-01-1 2					

**Tableau VIII : Liste des isolats de *F. verticillioides* proches du centre des classes**

Classes	Codes	Localités	Provinces	Caractéristiques des centres initiaux			
				Couleur	Aspect	CM 4JAI	CM 7JAI
1	B03-15-1 1	Lahirasso	Houet	Rose fj	Cercle	3,53	5,07
2	B03-06-2 1	Lahirasso	Houet	Rose	Cercle et tache	4,55	7,10
3	B29-01-1 1	Dingasso1	Kéné Dougou	Rose à bb	Cercle	5,75	7,10
4	B26-01-1 1	Bonou	Sourou	Rose clair à bb	Cercle	4,08	4,47
5	B03-11-1 1	Lahirasso	Houet	Rose	Cercle	3,72	6,25
6	B27-01-1 1	Djigouéma	Houet	Rose orangé à bb	Cercle et tache	4,00	5,80
7	B03-04-1 1	Lahirasso	Houet	Rose violet	Cercle	3,73	8,00
8	B36-01-2 1	Siou	Balé	Rose violet à bb	Cercle	3,52	8,15
9	B03-07-1 1	Lahirasso	Houet	Rose	Cercle	5,47	8,52
10	B03-12-1 1	Lahirasso	Houet	Rose à bb	Cercle et tache	4,00	7,60

CM : Croissance mycélienne en cm ; 4JAI : 4 jours après incubation ; 7JAI : 7 jours après incubation ; fj : fond jaune ; bb : bordure blanche.

## 2.5. Discussion

L'analyse de variance montre des différences très hautement significatives pour les trois critères étudiés (annexe 4). Les isolats de *Fusarium verticillioides* sont différents par la couleur, l'aspect mycélien et la vitesse de croissance mycélienne à 4 et 7 jours après ensemencement. Au niveau de la croissance mycélienne à quatre (04) jours, nous nous rendons compte que la somme des carrés des moyennes est faible par rapport à celle obtenue à sept jours. Ce constat peut s'expliquer par le fait que les isolats ont une vitesse approximativement égale. L'analyse montre une multitude de couleurs ainsi que plusieurs types d'aspects. Le mycélium peut être rose clair ou foncé avec des fonds orangé, jaunâtre avec ou sans bordures blanches, ou bien violet avec les mêmes nuances. Ces résultats sont en accord avec ceux de Burgess *et al.* (1994) qui avaient décrit la morphologie de la colonie de *Fusarium moniliforme* sur PDA. Cette étude a révélé que le mycélium pouvait prendre la couleur gris violacé ou gris magenta avec l'âge. En présence de spores, la coloration est orange pâle (Burgess *et al.*, 1994). Mais certains isolats peuvent être gris orangé, violet gris, violet foncé, magenta foncé ou sans pigmentation (Burgess *et al.*, 1994). Balali & Iranpoor (2006) ont fait une caractérisation morphologique de quelques espèces de *Fusarium* et révèlent que chacune d'entre elles présente une couleur différente sur milieu de culture PDA.

La croissance mycélienne de *Fusarium verticillioides* est un facteur discriminant car la vitesse de croissance est variable d'un isolat à l'autre. En effet, Métoui & Zarrouk (2007) qui ont

caractérisé les souches de *Verticillium dahliae*, ont montré qu'il existe une grande variabilité au niveau de la croissance mycélienne. Cette variabilité serait due à une grande variabilité génétique du champignon. Nos travaux montrent que la population de *F. verticillioides* au Burkina Faso est hétérogène d'où cette diversité de couleur, d'aspect mycélien et de vitesses de croissance. La grande variabilité observée pourrait s'expliquer par la diversité des cultivars locaux à partir desquels les isolats ont été collectés.

L'analyse factorielle a permis de classer les isolats en dix groupes (annexe 6) et l'analyse discriminante a permis d'identifier les dix isolats qui représentent mieux les classes. Ces résultats montrent que sept isolats sur dix proviennent de Lahirasso (Houet). Cela pourrait signifier que la province du Houet a une grande diversité de cultivars locaux ou qu'il ait eu un apport de semences d'autres provinces d'où une grande variabilité d'isolats de *F. verticillioides*.

## **2.6. Conclusion partielle**

Les résultats de nos travaux montrent que les isolats de *F. verticillioides* caractérisés sont significativement différents par leur couleur, leur aspect mycélien et leur vitesse de croissance mycélienne. Ainsi, nous pouvons dire que la couleur du mycélium est le premier critère distinctif des isolats de *F. verticillioides* sur milieu de culture PDA dans la mesure où elle est appréciée directement à l'œil nu. La variabilité entre les isolats de *F. verticillioides* serait due à une grande diversité génétique. Cette caractérisation a permis également de discriminer les isolats afin d'avoir dix isolats représentatifs qui seront utilisés pour l'évaluation *in vitro* des propriétés antifongiques des extraits de plantes.

## **Chapitre III : Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium verticillioides***

### **3.1. Introduction**

Le traitement des grains avec les pesticides de synthèse donne des résultats probants sur les champignons en général. C'est d'ailleurs une des raisons pour lesquelles leur utilisation est la plus connue et la plus pratiquée au Burkina Faso. Cependant, leur mauvaise utilisation a des conséquences désastreuses sur l'environnement, mais aussi sur la santé humaine et animale (Wopereis *et al.*, 2009). Afin de mettre à la disposition des paysans des produits de traitements accessibles et respectueux de la nature, l'effet des extraits de plantes a été évalué *in vitro* sur la croissance mycélienne de dix (10) isolats de *F. verticillioides*.

### **3.2. Matériel**

#### **3.2.1. Matériel fongique**

Les dix (10) isolats de *Fusarium verticillioides* qui représentent mieux les classes sont utilisés pour les ensemencements (Tableau VIII).

#### **3.2.2. Espèces de plantes testées**

Les espèces végétales dont les extraits ont été testés sont les suivantes :

-*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. est communément appelé Citronnelle. C'est une graminée aromatique qui est utilisée en cosmétique, en parfumerie et en pharmacopée (Photo 5).

-*Azadirachta indica* (A.) Juss. ou Neem est un arbre de la famille des Méliacées. Il est utilisé comme bois de chauffe, comme fourrage, comme insecticide, comme haies vives, en pharmacopée et dans la construction des greniers (Arbonnier, 2009) (Photo 6).

-*Agave sisalana* Perr. ou Sisal de la famille des Agavacées, est caractéristique des savanes soudano-guinéennes et guinéennes. Elle est utilisée en alimentation humaine, en pharmacopée et comme haies vives (Arbonnier, 2009) (Photo7).

-*Lippia multiflora* Moldenke ou thé d savane est de la famille des Verbénacées. C'est une plante utilisée dans la médecine traditionnelle (Arbonnier, 2002) (Photo 8).

Les caractéristiques des plantes testées sont résumées dans le tableau IX.



Photo Dao K.

**Photo 7: Plante de *Cymbopogon citratus*  
(Citronnelle)**



Photo Bonzi S.

**Photo 8: Feuille et fleurs de *Azadirachta indica* (Neem)**



Photo Arbonnier M.

**Photo 9: Plante de *Agavea sisalana*  
(Sisal)**



Photo Arbonnier M.

**Photo 10: Rameaux de *Lippia multiflora*  
(Thé de savane)**

**Tableau IX : Caractéristiques des plantes utilisées**

Espèces végétale	Nom commun	Origine	Organes testés	Type d'extrait
<i>Cymbopogon citratus</i>	Citronnelle	Laboratoire de Phytopathologie (UPB)	Feuilles	Ext. Aq et H. essentielle
<i>Azadirachta indica</i>	Neem	IRSAT (Ouagadougou)	Feuilles	Extrait aqueux
<i>Agavea sisalana</i>	Sisal	INERA (DRREA Ouest)	Racines	Extrait aqueux
<i>Lippia multiflora</i>	Thé de savane	IRSAT (Ouagadougou)	Extrémités fructifères	Huile essentielle

Ext aq: extrait aqueux; H.: huile

### 3.2.3. Fongicide chimique testé

Le fongicide utilisé est le Calthio C (25% de Chlorpyrifos-éthyl et 25% de Thirame). Il est sous forme de poudre de couleur bleu et est utilisé à la dose de 20 g pour 5 Kg de semences.

### **3.3. Méthodes**

#### **3.3.1. Dispositif expérimental**

Le dispositif est un bloc complètement randomisé comportant sept (07) traitements. Chaque traitement utilisé est répété trois (03) fois pour chacun des dix isolats de *F. verticillioides* testés. Les traitements sont les suivants :

TE: témoin eau;

TF: témoin fongicide;

TC: milieu avec l'extrait aqueux de Citronnelle à 30% ;

TN: milieu avec l'extrait aqueux de Neem à 10% ;

TS : milieu avec l'extrait aqueux de Sisal à 10% ;

HEc: milieu avec l'huile essentielle de la citronnelle à 300 ppm ;

Hel: milieu avec l'huile essentielle de *Lippia multiflora* à 400 ppm.

#### **3.3.2. Préparation des extraits aqueux**

Les extraits aqueux de citronnelle et de sisal sont obtenus en mettant à macérer respectivement 30 g de poudre de feuilles séchées et 30 g de racines séchées dans 100 ml d'eau stérile pendant 24 h à 22°C. L'extrait est obtenu par pressage et filtrage à travers un tissu fin. L'extrait aqueux de *Azadirachta indica* est fourni par l'IRSAT (Ouagadougou). L'extraction est faite à partir du mélange composé de 75% d'éthanol et 25% d'eau. Dans nos essais, cet extrait est dilué à 10%.

#### **3.3.3. Préparation des milieux de culture**

Le milieu de culture avec extrait est obtenu en mettant 42 g de poudre de PDA dans 1000 ml d'extrait aqueux. Le mélange est stérilisé à 120°C pendant 30 mins dans un autoclave. Après stérilisation, le milieu est refroidi en conditions de laboratoire à environ 40°C et reparti dans des boîtes de Petri de 9 cm de diamètre en conditions aseptiques sous une hotte à flux laminaire.

En ce qui concerne le témoin fongicide, il est préparé comme le témoin eau en mettant 42 g de PDA dans 1000 ml d'eau. Après stérilisation, le milieu est refroidi à environ 40°C. Le Calthio C est ensuite ajouté à la dose de 4g/l de milieu de culture, puis il est reparti dans les boîtes de Petri en condition aseptique.

Pour préparer le milieu à base d'huile essentielle, nous avons mis 42 g de PDA dans un litre d'eau. Après stérilisation et refroidissement à environ 60 °C, l'huile essentielle est ajoutée sous forme d'émulsion au milieu de culture. L'émulsion est obtenue en ajoutant

respectivement 60 µl et 80 µl d'huile essentielle de Citronnelle et de *Lippia multiflora* à 240 µl et 320 µl de milieu gélosé à 0,1%. Le mélange est fait à l'aide d'un agitateur et ajouté au milieu de culture après soustraction du volume équivalent de milieu de culture.

Après répartition et refroidissement, nous avons procédé à l'ensemencement et à l'incubation conformément à la méthode décrite au paragraphe. 2.3.2. Pages 31 et 32.

#### **3.3.4. Evaluation**

Elle porte sur la vitesse de croissance mycélienne des isolats de *F. verticillioides*. Cette croissance mycélienne est mesurée conformément à la description faite précédemment.. Les diamètres des colonies mycéliennes sont mesurés à quatre (4), sept (7) et dix (10) jours après incubation.

#### **3.3.5. Analyse des données et expression des résultats**

Les données ont été d'abord introduites dans le logiciel Microsoft Excel puis l'analyse de variance a été effectuée avec le Logiciel SPSS 16.0. La comparaison des moyennes a été effectuée au seuil de 5% au moyen du test de Duncan. Les résultats sont représentés dans des tableaux.

### **3.4. Résultats**

#### **3.4.1. Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des isolats de *F. verticillioides* à 4 jours après incubation**

L'analyse de variance de l'effet des extraits de plantes sur les dix isolats montre des différences hautement significatives à quatre (4) jours après incubation (Annexe 5). Le développement mycélien varie d'un traitement à l'autre. Nous observons une inhibition totale de la croissance mycélienne pour tous les isolats avec le Neem. D'une manière générale, les huiles essentielles de *C. citratus* et de *Lippia multiflora* ont un effet antifongique plus prononcé que les extraits aqueux de *A. sisalana* et de *C. citratus* (Tableau X).

**Tableau X : Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des dix isolats de *F. verticillioides* à 4 jours après incubation**

Isolats de Fv	B03-15-1	B27-01-1	B03-04-1	B03-06-2	B36-01-2	B29-01-1	B26-01-1	B03-07-1	B03-11-1	B03-12-1
Traitements	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
TE	3,88 e	3,86 d	4,41 d	4,93 c	4,23 d	4,9 c	4,56 d	4,4 d	4,21 d	4,43 d
TF	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
EC	2,85 d	2,61 bc	3,18 c	3,4 b	3,30 c	2,78 cd	3,83 cd	3,63 c	3,13 c	3,38 c
EN	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
ES	2,52 cd	2,38 b	2,96 bc	2,53 b	2,36 b	3,38 d	3,45 c	2,36 b	2,93 c	3,13 c
HC	2,20 bc	2,71 c	2,31 b	2,41 b	2,55 b	2,13 b	2,10 b	2,73 b	2,55 c	3,31 c
HL	1,88 b	2,61 bc	2,86 bc	3,08 b	2,08 b	2,56 bc	1,9 b	2,26 b	1,73 b	2,23 b

Dans une même colonne, les moyennes affectées de la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Duncan) ; TE : Témoin eau, TF : Témoin fongicide, EC : extrait aqueux de Citronnelle ; EN : extrait aqueux de Neem ; ES : extrait aqueux de Sisal ; HC : huile essentielle de Citronnelle ; HL : huile essentielle de *Lippia multiflora* ; Fv : *Fusarium verticillioides* 0a : pas de développement mycélien.

### **3.4.2. Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des isolats de *F. verticillioides* à 7 jours après incubation**

Les différences observées après l'analyse de variance sont hautement significatives à 7 jours après incubation (Annexe 6). La croissance mycélienne de *F. verticillioides* varie en fonction du traitement et de l'isolat. Les extraits aqueux du Neem et de Sisal sont, d'une manière générale, plus efficaces que les autres extraits car ils réduisent le développement mycélien. Cependant, nous remarquons que l'isolat B03-07-1 1 avec l'extrait aqueux de Citronnelle a une croissance mycélienne plus forte comparativement au témoin eau et que le Neem inhibe totalement la croissance mycélienne à 7 jours après incubation de l'isolat B26-01-1 1 (Tableau XI).

### **3.4.3. Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des isolats de *F. verticillioides* à 10 jours après incubation**

L'analyse de variance des données indique des différences très hautement significatives à dix (10) jours après incubation (Annexe 7). Les traitements ont tous eu un effet réducteur sur les isolats. Aussi, le Neem est le plus efficace de tous les extraits de plantes testés comparativement au témoin eau. Il est suivi du sisal qui a un effet moindre et de l'huile essentielle de *Lippia multiflora*. Par contre, les extraits de Citronnelle semblent stimuler la croissance mycélienne de l'isolat B03-07-1 1 (Tableau XII).

**Tableau XI : Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des dix isolats de *F. verticillioides* à 7 Jours après incubation**

Isolats Fv	B03-15-1	B27-01-1	B03-04-1	B03-06-2	B36-01-2	B29-01-1	B26-01-1	B03-07-1	B03-11-1	B03-12-1
Traitements	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
TE	6,4 e	7,17 f	7,06 e	8,12 e	7,01 e	7,55 d	5,96 d	6,03 d	6,65 f	7,41 f
TF	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
EC	4,96 d	6,45 e	5,01 c	5,32 d	5,15 c	4,7 c	4,7 c	6,60 d	4,61 de	5,15 d
EN	1,25 b	1,55 b	1,33 b	1,47 b	1 a	1,2 b	0 a	2,11 b	1,55 b	1,46 b
ES	3,55 c	3,07 c	3,96 c	3,48 c	3,48 b	4,81 c	4,23 bc	3,48 c	4,08 d	4,16 c
HC	4,06 d	5,85 d	4,70 c	4,57 c	5,71 de	4,5 c	4,16 bc	5,78 d	5,13 e	6,35 e
HL	2,96 c	4,98 d	5,68 d	5,63 d	4 bc	4,23 c	3,21 b	4,50 c	3,05 c	3,93 c

Dans une même colonne, les moyennes affectées de la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Duncan) ; TE : Témoin eau, TF : Témoin fongicide, EC : extrait aqueux de Citronnelle ; EN : extrait aqueux de Neem ; ES : extrait aqueux de Sisal ; HC : huile essentielle de Citronnelle ; HL : huile essentielle de *Lippia multiflora*, Fv : *Fusarium verticillioides*, 0a : pas de développement mycélien.

**Tableau XII : Effet des extraits de plantes sur la croissance mycélienne des dix isolats de *F. verticillioides* à 10 JAI**

Isolats Fv	B03-15-1	B27-01-1	B03-04-1	B03-06-2	B36-01-2	B29-01-1	B26-01-1	B03-07-1	B03-11-1	B03-12-1
Traitements	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
TE	8,48 e	8,78 e	8,83 f	9 e	8,58 e	8,71 d	6,98 c	7,18 e	7,91 e	8,90 e
TF	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
EC	6,11 d	8,30 e	5,95 cd	6,48 d	6,46 cd	5,75 c	5,48 b	8,41 e	5,26 d	6,72 d
EN	1,43 b	3,52 b	1,58 b	2,37 b	1,16 a	1,41 b	0,75 a	2,58 b	1,71 b	1,95 b
ES	4,78 cd	3,75 b	5,55 c	4,52 c	4,35 b	6,75 c	4,55 b	4,35 c	5,80 d	5,77 cd
HC	5,96 d	7,37 c	7,20 de	7,22 de	7,31 de	6,3 c	5,43 b	7,68 e	7,11 e	8,30 e
HL	4,30 c	6,57 c	7,38 e	7,47 de	5,36 bc	5,81 c	4,5 b	6,13 d	4 c	5,40 c

Dans une même colonne, les moyennes affectées de la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test de Duncan) ; TE : Témoin eau, TF : Témoin fongicide, EC : extrait aqueux de Citronnelle ; EN : extrait aqueux de Neem ; ES : extrait aqueux de Sisal ; HC : huile essentielle de Citronnelle ; HL : huile essentielle de *Lippia multiflora*, Fv : *Fusarium verticillioides*, 0a : pas de développement mycélien.

### 3.5. Discussion

Les extraits de plantes testés réduisent significativement la croissance mycélienne des dix (10) isolats de *Fusarium verticillioides*. L'efficacité de l'extrait aqueux de Neem a été prouvée pour tous les isolats testés aux différentes dates d'évaluation. Après quatre jours d'incubation, le champignon arrive à s'adapter à l'extrait. Par conséquent, la croissance mycélienne reprend. Cependant, elle reste faible comparativement au témoin eau à 7 et 10 jours après incubation. Les extraits aqueux de Citronnelle et de Sisal ont également influencé significativement l'évolution de tous les isolats. Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que ces extraits possèdent des propriétés antifongiques vis-à-vis des isolats. Mais la toxicité des plantes n'est pas suffisante pour inhiber de façon continue la croissance mycélienne. Ces résultats corroborent avec ceux de Rajesh Kannan *et al.* (2009) qui ont montré l'activité antifongique (pourcentage d'inhibition 94%) des noix de *Anacardium occidentale* L. extraits à l'éthanol sur *Aspergillus flavus in vitro*. Thembo *et al.* (2010) ont mis en exergue une forte activité antifongique des extraits de *Tagetes minuta*, de *Lippia javanica* et de *Vigna unguiculata*. Ils ont montré que ces espèces végétales extraites avec du dichlorométhane sont efficaces contre *F. verticillioides* et *F. proliferatum in vitro*. Cependant la Citronnelle semble stimuler l'isolat B03-07-1 1. Nous pouvons dire que cette plante se comporte comme une substance nutritive ou que l'effet de la matière active de l'extrait aqueux se trouve être amenuisé par une autre réaction qui semble stimuler la croissance du champignon. Ce développement mycélien pourrait aussi avoir pour cause la capacité de l'isolat à s'adapter à l'extrait.

Les huiles essentielles de *Lippia multiflora* et de *C. citratus* réduisent de façon significative la croissance mycélienne des différents isolats. Ces huiles essentielles contiennent des principes actifs toxiques au développement des isolats de *F. verticillioides*. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Nébié (2007) qui atteste que l'huile essentielle de *Lippia multiflora* a des propriétés antifongiques. Les travaux de Fandahan *et al.* (2004) ont montré que les huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum*, *O. gratissimum* réduisent significativement la croissance mycélienne *in vitro* de *Fusarium verticillioides*.

### 3.6. Conclusion partielle

Les extraits aqueux et huiles essentielles des plantes testées ont des effets réducteurs sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium verticillioides*. En effet, l'extrait de Neem à l'éthanol inhibe la croissance mycélienne de tous les isolats à 4 jours après incubation. A 7 et

10 jours après incubation, il a un effet réducteur tout comme le Sisal et la Citronnelle comparativement au témoin eau et au témoin fongicide. Les huiles essentielles réduisent également la croissance radiale du mycélium des isolats testés. L'huile essentielle de *Lippia multiflora* réduit plus la croissance mycélienne des isolats de *F. verticillioides* que l'huile essentielle de la Citronnelle. L'efficacité des plantes démontrée permettra d'orienter des travaux futurs sur le champignon afin de minimiser ou d'arrêter son effet sur les cultures ou sur les grains en conservation.

## Conclusion générale et perspectives

Le maïs est une céréale prometteuse. Sa culture regorge de nombreux avantages compte tenu de la large gamme de variétés performantes mise à la disposition des paysans. Cependant, il est sujet à de nombreuses adversités dont les plus importantes sont la gestion de l'eau et des maladies causées par les microorganismes notamment les champignons. C'est dans l'espoir de trouver des solutions aux diverses maladies du maïs que cette étude a été entreprise. Des échantillons de semences de maïs ont été collectés dans onze (11) provinces du Burkina Faso et analysés. La variabilité morphologique des isolats de *Fusarium verticillioides* a été étudiée et l'efficacité de certains extraits de plantes testée sur la croissance mycélienne de dix isolats significativement différents les uns des autres.

L'évaluation sanitaire de cent seize (116) échantillons collectés dans onze (11) provinces a permis d'identifier dix sept (17) espèces de champignons. Parmi les espèces fongiques les plus fréquentes, nous pouvons citer *F. verticillioides*, *Acremonium strictum*, *Botryodiplodia theobromae*, *Curvularia lunata*, *Bipolaris maydis*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium sp.* Ces champignons ont tous des incidences soit sur les cultures où ils causent des mortalités pré- et post-émergence (*F. verticillioides*, *A. strictum*, *B. theobromae*, *B. maydis*), soit sur les grains stockés. En stockage, l'infection des grains par les agents de moisissures altère la qualité des grains. Ces agents peuvent aussi sécréter des mycotoxines nuisibles à la santé humaine (*F. verticillioides*, *Aspergillus flavus*). Au regard de ces résultats, nous suggérons que, pour des études futures, un nombre de grains plus important (400) soit analysé par échantillon testé. Il serait par ailleurs souhaitable d'augmenter le nombre d'échantillons collectés en vue d'appréhender la prévalence de *F. verticillioides* dans les cultivars locaux et/ou des variétés améliorées de maïs.

La caractérisation morphologique des isolats de *F. verticillioides* obtenus des semences analysées a révélé une grande variabilité inter-isolats. Les isolats diffèrent par la couleur des colonies mycéliennes, par l'aspect du mycélium et par la croissance appréciée par le diamètre de la colonie mycélienne. L'analyse de la variabilité morphologique observée serait liée à la nature génotypique des cultivars locaux et à l'hétérogénéité génétique au sein d'un même isolat. Par conséquent, il s'avère nécessaire d'apprécier non seulement la variabilité des populations de *F. verticillioides* provenant d'une même variété de maïs mais aussi celles des populations issues d'un même isolat de *F. verticillioides*. L'évaluation du pouvoir pathogène des isolats *F. verticillioides* issus des dix groupes d'isolats identifiés sur la base des caractères cultureux pourrait permettre de mettre en évidence d'éventuelles corrélations entre critères

morphologiques et la pathogénie. Par ailleurs, une caractérisation moléculaire et biochimique (Production de toxines) des isolats et souches bien caractérisés de *F. verticillioides* permettra de mieux appréhender la variabilité génétique des populations de *F. verticillioides* au Burkina Faso. Dans l'optique de proposer des stratégies de lutte appropriée, efficaces, respectueuses de l'environnement et à la portée de nos paysans, nous avons entrepris de tester *in vitro* l'efficacité de trois (03) extraits aqueux et deux (02) huiles essentielles de plantes contre *F. verticillioides*.

Les extraits aqueux de Neem, de sisal et de citronnelle testés réduisent significativement la croissance mycélienne des isolats comparativement aux témoins eau et fongicide. L'étude de l'efficacité comparée des extraits montre que l'extrait de Neem est plus efficace dans la réduction de la croissance mycélienne des isolats. Il est suivi par le sisal puis par *C. citratus*. Les huiles essentielles de *Lippia multiflora* et de citronnelle baissent significativement la croissance mycélienne des isolats testés comparativement aux témoins eau et fongicide. En perspective, il faudra tester ces extraits de plantes en traitement de semences de maïs et évaluer leurs effets sur la transmission de *F. verticillioides*.

## Références bibliographiques

- Alberts J. F., Gelderblom W. C. A., Thiel P. G., Marasas W. F. O., Van Schalkwyk D. J. & Behrend Y.**, 1990. Effects of temperature and incubation period on production of Fumonisin B1 by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, vol, p. 1729-1733.
- Anonyme 1**, 2009. Les maladies des grandes cultures. [www.omafra.gov.on.ca](http://www.omafra.gov.on.ca), téléchargé le 20 novembre 2012.
- Arbonnier M.**, 2002. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Deuxième édition, CIRAD et MNHM, 173p.
- Arbonnier M.**, 2009. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Troisième édition MNHN et Quae, 573p.
- Asrani R. K., Katoch R. C., Gupta V. K, Deshmukh S., Jindal N., Ledoux D. R., Rottinghaus G. E. & Singh S. P.**, 2006. Effects of feeding *Fusarium verticillioides* (Formerly *Fusarium moniliforme*) culture material containing known levels of Fumonisin B1 in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Poultry Science* 85: 1129-1135.
- Balali G. R. & Iranpoor M.**, 2006. Identification and genetic variation of *Fusarium* species in Isfahan, Iran, using pectic zymogram technique. *Iranian Journal of Science & Technology, Transaction A*, vol. 30: 91-102.
- Brasak A. B. & Lee M. W.**, 2002. Prevalence and transmission of seed-borne fungi of maize grown in farm in Korea. *The Korea society of mycology* 30: 47-50.
- Boiron P.**, 2006. Champignons toxigènes et mycotoxicoses. Laboratoire de Mycologie, Faculté de Pharmacie, Lyon, France, 71p.
- Bonzi S.**, 2005. Efficacité des extraits aqueux de plantes dans la lutte contre les champignons transmis par les semences de maïs (*Zea mays* L.): Cas particulier de *Bipolaris maydis* (Nisikado et Miyaké) Shoen., agent de l' helminthosporiose. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement Rural, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso 58p.
- Bonzi S.**, 2007. Efficacité des extraits aqueux de quatre plantes dans la lutte contre les champignons transmis par les semences de sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench): cas particulier de *Colletotrichum graminicola* (Ces) Wilson et *Phoma sorghina* (Sacc.)Boerema, Dorenbosch et Van Kesteren Mémoire de DEA, Institut du Développement Rural, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 39p.

- Bradet C., Salay E., Silva O. F., Alves A. F, Machinski Jr M., Vargas E. A. & Rozis N. Z., 2005.** Maîtrise des mycotoxines dans la filière maïs au Brésil : Transformation et qualité des produits. *Cahiers Agricultures* 14: 164-168.
- Burgess L. W., Summerll B. A., Bullock S., Gott K. P. & Backhouse D., 1994.** Laboratory manual for Fusarium research, 3<sup>rd</sup> edition, Fusarium research laboratory department of crop sciences; University of Sydney and Royal botanic gardens. 133p.
- Champion R., 1997.** Identification des champignons transmis par les semences. Techniques et pratiques, édition INRA, France, 398p.
- CIRAD-CA, 1994,** Agriculture et développement Revue n°2, 8p.
- Czembor E., Posta K., Oldenburg E. & Schürch S., 2010.** Prévention de la fusariose des épis de maïs et de l'accumulation de mycotoxines dues aux Fusarium spp. [www.endure-network.eu](http://www.endure-network.eu), téléchargé le 12 décembre 2012.
- Dao K., 2010.** Les agents de moisissures des semences de sorgho au Burkina Faso : transmission, localisation et efficacité de quelques extraits aqueux en traitement de semences. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement Rural, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 63p.
- DGPER/MAHRH, 2009:** Statistiques agricoles au Burkina Faso. [www.DGPER/MAHRH](http://www.DGPER/MAHRH) Burkina Faso. Fichier téléchargé le 25 mars 2010 à la direction régionale du MAHRH/Hauts-Bassins.
- Fondahan P., Gbenou J. D., Gnonlonfin B., Hell K., Marasas W. F. O. & Wingfield M. J., 2004.** Effect of essential oils on development of *Fusarium verticillioides* and fumonisin contamination in maize. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 52 n°22: 6824-6829.
- Garrier E., 2009.** Protection des plantes, fiche PRIV n°6, version 1, 4p.
- Gonzales H. H. L., Resnik S. L., Boca R. T. & Marasas W. S. O., 1995.** Mycoflora of Argentinian corn harvested in the main production area in 1990. *Mycopathologia*, vol. 130: 29-36.
- Iddi A. O., 1987.** Contribution à l'étude d'une technique de criblage pour la résistance du maïs (*Zea mays* L.) à *Helminthosporium maydis*. Mémoire de fin d'étude, Institut des Sciences et Techniques. Université de Ouagadougou, Burkina Faso, 110p.
- IITA, 1981.** Manuel de production:le maïs. Ibadan, Nigeria, Volume 1(12p).

- Ishrat N. & Shahnaz D.**, 2009. Detection of seed borne mycoflora in maize (*Zea mays* L.), *Pakistan Journal of Botany* , 41(1): 443-451.
- ISTA**, 1999. International Rules for Seed Testing. *Seed Science and Technology*, 23: 269p.
- Karimou I.**, 1999. Effet des extraits des essences ligneuses sur le développement des cercosporioses de l'arachide (*Arachis hypogaea* L.) au Niger. Mémoire de DEA, Biologie et Ecologies Végétales, Faculté des sciences et techniques, Université de Ouagadougou, Burkina Faso, 68p.
- Marchand J., Berthaud J., Clerget B., Dintinger J., Reynaud B. & Dzido J.**, 1997. Le maïs. In: L'amélioration des plantes tropicales, CIRAD, ORSTOM, pp : 401-428.
- Mathur S. B. & Kongsdal O.**, 2003. Common laboratory seed health testing methods for detection fungi. First edition, Kandrup's Bogtrykkeri edition. 436p.
- Métoui O. & Zarrouk M.**, 2007. Caractérisation morphologique et culturale du champignon *Verticillium dahliae* responsable du dépérissement de l'olivier en Tunisie. *Revue des régions arides* (1) : 294-298.
- Millogo G.**, 2010. Création et évaluation d'hybrides et de matériels introduits performants en vue d'une intensification de la culture du maïs au Burkina Faso. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement Rural, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 62p.
- Montel S.**, 2004. Evaluation de l'effet de quelques substances naturelles face aux champignons phytopathogènes les plus courants du riz. Rapport de stage BTS en productions végétales. INERA, Station de Farako-bâ, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. 44p.
- Munkvold G. P. & Desjardins A. E.**, 1997. Fumonisins in maize, *The American Phytopathological Society* vol. 81 N° 6: 556-565
- Nébié R. C. H.**, 2006. Etudes des huiles essentielles de plantes aromatiques du Burkina Faso : Production, Composition chimique et Propriétés insecticides. Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences Physiques (Chimie Organique: structure et réactivité), Unité de Formation et de Recherche/ Sciences Exactes et Appliquées, Université de Ouagadougou, Burkina Faso. 175p.
- Park I. K., Choi K. S., Kim D. H., Choi I. H., Kim L. S., Bak W. C., Choi J. W. & Shin S. C.**, 2006. Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). *Pest Manage. Sci.* 62: 723-728.
- PDSA**, 2012. Manuel de pathologie des semences. Agence Internationale de Coopération Japonaise (JICA) et Ministère de l'Agriculture et de l'Hydraulique, Ouagadougou, Burkina Faso, 77p.

- Puryilé Médah B.**, 2009. Evaluation de l'effet des extraits de plantes locales sur le développement de plantes de sorgho et la transmission de *Phoma sorghina*, agent de moisissure des grains. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement Rural, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 61p.
- Rajesh Kannan V., Sumathi C. S., Balasubramanian V. & Ramesh N.**, 2009. Elementary chemical profiling and antifungal properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) nuts. *Botany Research International* 2 (4): 253-257.
- Richarson M. J.**, 1990. An annotated list of seed-borne diseases. Forth edition, The International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland
- Rossi V., Scandolara A. & Battilani P.**, 2008. Effect of environmental conditions on spore production by *Fusarium verticillioides*, the causal agent of maize ear rot. *European Journal of Plant Pathology* 123:159-169.
- Rouanet G.**, 1984. Le maïs: Le technicien d'Agriculture tropicale. Édition Maisonneuve et Larose, Paris, France, 142p.
- Sanou J.**, 1996. Analyse de la variabilité génétique des cultivars locaux de maïs de la zone de savane Ouest Africaine en vue de sa gestion et de son utilisation. Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieur Agronomique. Montpellier, France, 98 p.
- Sanou J.**, 2003. Programme d'activités de recherches 2003. Génétique et amélioration du maïs (zone ouest et centre du Burkina Faso). INERA/Ouagadougou, 10p.
- Sanou J.**, 2009. Variétés de maïs vulgarisées au Burkina Faso, actualisation 2009. INERA/CT, 2p.
- Sanou J. & Gouesnard B.**, 2011. Collecte de cultivars locaux de maïs au Burkina Faso, INERA/CT et INRA/ ARCAD, 11p.
- Sanou P.**, 2004. Les champignons transmis par les semences de maïs: détection, identification et méthodes de lutte. Rapport de fin de cycle de technicien supérieur en technologie des semences. Centre Agricole Polyvalent de Matourkou, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 41p.
- Seyed A. G., Parivash K. B., Seyed M. R., Amir H. M. & Heshmatallah T.**, 2004. Mycoflora of Iranian maize harvested in the main production areas of 2000. *Mycopathologia* 158: 113-121.
- Sivakumar M. V. K. & Gnoumou F.**, 1987. Agro climatologie de l'Afrique de l'ouest: Burkina Faso. ICRISAT, Bulletin d'information n°23. 192p.
- Soalla W. R.**, 2011. Efficacité d'extraits aqueux de plantes contre les champignons pathogènes du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) au Burkina Faso. Mémoire de fin de

cycle, Institut du Développement Rural, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. 59p.

**Soltner D.**, 1986. Les grandes productions végétales. 14<sup>e</sup> édition. 142-195p.

**Somda I., Leth V. & Sérémé P.**, 2007. Antifungal Effect of *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Azadirachta indica* Oil Extracts on Sorghum Seed-Borne Fungi. *Asian Journal of Plant Sciences* 6 (8): 1182-1189.

**Somda I., Sanou P., Michaud J. M. & Sanou J.**, 2003. 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* 27 (1-2): 29-40.

**Thembo K. M., Vismer H. F., Nyazema N. Z., Gelderblom W. C. A. & Katerere D. R.**, 2010. Antifungal activity of four weedy plant extracts against selected mycotoxigenic fungi. *Journal of Applied Microbiology* 109: 1479-1486.

**Tiendrebéogo A.**, 2011. Etude de l'efficacité des extraits de plantes locales (*Eclipta alba* L., *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf, *Agavae sisalana* Perr. et *Lippia multiflora* Moldenke) contre les principaux champignons seminicoles du riz. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement Rural, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. 67p.

**White D. G. & Carson M. L.**, 1999. History of corn. In: Compendium of corn diseases, edited by White D.G. *American Phytopathological Society*, USA 3e edition: pp1-2.

**Wopereis M. C. S., Defoer T., Idinoba P., Diack S. & Dugue M. J.**, 2009. Curriculum d'apprentissage participatif et recherche action (APRA) pour la gestion intégrée de la culture de riz de bas-fonds (GIR) en Afrique subsaharienne, *Manuel technique*, Centre du riz pour l'Afrique (ex ADRAO) Bénin, 124 p.

**Zida P. E., Somda I., Sérémé P., Neya A., Neya J. B., Leth V., Torp Ole J. & Lund S.**, 2010. Les maladies fongiques transmises par les semences de sorgho au Burkina Faso: Importance, Méthodes de détection et moyens de lutte, Bulletin techniques, Burkina Faso, 39p.

# **Annexes**



Annexe 2 : Caractéristiques des isolats de *Fusarium verticillioides*

Isolats	Echantillon	Localité	Province
B01-01-1 1	B01-01-1	Yendéré	Comoé
B01-02-1 2	B01-02-1	Yendéré	Comoé
B01-07-1 1	B01-07-1	Yendéré	Comoé
B01-07-1 2	B01-07-1	Yendéré	Comoé
B03-01-1 1	B03-01-1	Lahirasso	Houet
B03-01-1 2	B03-01-1	Lahirasso	Houet
B03-03-1 1	B03-03-1	Lahirasso	Houet
B03-03-1 2	B03-03-1	Lahirasso	Houet
B03-04-1 1	B03-04-1	Lahirasso	Houet
B03-04-1 2	B03-04-1	Lahirasso	Houet
B03-05-1 1	B03-05-1	Lahirasso	Houet
B03-06-1 1	B03-06-1	Lahirasso	Houet
B03-06-1 2	B03-06-1	Lahirasso	Houet
B03-07-1 1	B03-07-1	Lahirasso	Houet
B03-07-1 2	B03-07-1	Lahirasso	Houet
B03-08-1 1	B03-08-1	Lahirasso	Houet
B03-09-1 1	B03-09-1	Lahirasso	Houet
B03-10-1 1	B03-10-1	Lahirasso	Houet
B03-10-1 2	B03-10-1	Lahirasso	Houet
B03-11-1 1	B03-11-1	Lahirasso	Houet
B03-11-1 2	B03-11-1	Lahirasso	Houet
B03-12-1 1	B03-12-1	Lahirasso	Houet
B03-12-1 2	B03-12-1	Lahirasso	Houet
B03-13-1 1	B03-13-1	Lahirasso	Houet
B03-14-1 2	B03-14-1	Lahirasso	Houet
B03-15-1 1	B03-15-1	Lahirasso	Houet
B03-15-1 2	B03-15-1	Lahirasso	Houet
B03-16-1 1	B03-16-1	Lahirasso	Houet
B03-16-1 2	B03-16-1	Lahirasso	Houet

Suite annexe 2

Isolats	Echantillon	Localité	Province
B03-17-1 1	B03-17-1	Lahirasso	Houet
B03-17-1 2	B03-17-1	Lahirasso	Houet
B03-18-1 1	B03-18-1	Lahirasso	Houet
B03-18-1 2	B03-18-1	Lahirasso	Houet
B03-19-1 1	B03-19-1	Lahirasso	Houet
B03-19-1 2	B03-19-1	Lahirasso	Houet
B04-02-1 1	B04-02-1	Yabasso	Houet
B04-03-1 1	B04-03-1	Yabasso	Houet
B04-03-1 2	B04-03-1	Yabasso	Houet
B05-01-2 1	B05-01-2	Bâh	Houet
B05-01-2 2	B05-01-2	Bâh	Houet
B05-01-3 1	B05-01-3	Bâh	Houet
B05-01-3 2	B05-01-3	Bâh	Houet
B07-01-1 1	B07-01-1	Toungouana	Houet
B07-01-2 1	B07-01-2	Toungouana	Houet
B08-01-1 1	B08-01-1	Pandema	Houet
B08-01-1 2	B08-01-1	Pandema	Houet
B08-02-1 1	B08-02-1	Pandema	Houet
B08-02-1 2	B08-02-1	Pandema	Houet
B08-03-1 1	B08-03-1	Pandema	Houet
B08-03-1 2	B08-03-1	Pandema	Houet
B08-04-1 1	B08-04-1	Pandema	Houet
B08-04-1 2	B08-04-1	Pandema	Houet
B08-05-1 1	B08-05-1	Pandema	Houet
B08-05-1 2	B08-05-1	Pandema	Houet
B08-06-1 1	B08-06-1	Pandema	Houet
B09-02-2 1	B09-02-2	Nasso	Houet
B09-03-1 1	B09-03-1	Nasso	Houet
B09-03-1 2	B09-03-1	Nasso	Houet
B09-04-1 1	B09-04-1	Nasso	Houet
B09-04-1 2	B09-04-1	Nasso	Houet

## Suite annexe 2

Isolats	Echantillon	Localité	Province
B09-05-1 1	B09-05-1	Nasso	Houet
B09-05- 1 2	B09-05-1	Nasso	Houet
B09-06-1 1	B09-06-1	Nasso	Houet
B09-06-1 2	B09-06-1	Nasso	Houet
B09-07-1 1	B09-07-1	Nasso	Houet
B09-07-1 2	B09-07-1	Nasso	Houet
B11-01-2 1	B11-01-2	Wempéa II	Houet
B11-01-2 2	B11-01-2	Wempéa II	Houet
B12-01-1 1	B12-01-1	Pouanya	Houet
B12-01-1 2	B12-01-1	Pouanya	Houet
B13-01-1 1	B13-01-1	Tago	Houet
B13-02-1 1	B13-02-1	Tago	Houet
B13-02-2 2	B13-02-2	Tago	Houet
B13-03-1 2	B13-03-1	Tago	Houet
B13-04-1 1	B13-04-1	Tago	Houet
B13-04-1 2	B13-04-1	Tago	Houet
B13-05-1 1	B13-05-1	Tago	Houet
B13-06-1 1	B13-06-1	Tago	Houet
B13-06-1 2	B13-06-1	Tago	Houet
B13-06-2 1	B13-06-2	Tago	Houet
B14-01-1 1	B14-01-1	Zangoma	Houet
B15-01-1 1	B15-01-1	Téwoulé	Houet
B16-01-1 1	B16-01-1	Fara	Houet
B17-01-1 1	B17-01-1	Soumorodougou	Houet
B17-01-1 2	B17-01-1	Soumorodougou	Houet
B18-01-1 1	B18-01-1	Hapirkuy	Mouhoun
B18-01-1 2	B18-01-1	Hapirkuy	Mouhoun
B19-01-1 1	B19-01-1	Doubasso	Nayala
B19-01-1 2	B19-01-1	Doubasso	Nayala
B20-01-1 1	B20-01-1	Soro	Sourou

Suite annexe 2

Isolats	Echantillon	Localité	Province
B20-01-1 2	B20-01-1	Soro	Sourou
B22-01-1 1	B22-01-1	Gouran	Yatenga
B22-01-1 2	B22-01-1	Gouran	Yatenga
B26-01-1 1	B26-01-1	Bonou	Sourou
B26-01-1 2	B26-01-1	Bonou	Sourou
B27-01-1 1	B27-01-1	Djigouéma	Houet
B28-01-1 1	B28-01-1	N'Dorola	Kéné Dougou
B29-01-1 1	B29-01-1	Dingasso 1	Kéné Dougou
B29-01-1 2	B29-01-1	Dingasso 1	Kéné Dougou
B30-01-1 1	B30-01-1	Dingasso 2	Kéné Dougou
B30-01-1 2	B30-01-1	Dingasso 2	Kéné Dougou
B32-01-1 2	B32-01-1	Kopoi	Balé
B33-01-1 1	B33-01-1	Pâ	Balé
B33-01-1 2	B33-01-1	Pâ	Balé
B35-01-2 1	B35-01-2	Oury	Balé
B35-02-1 1	B35-02-1	Oury	Balé
B35-02-1 2	B35-02-1	Oury	Balé
B36-01-1 1	B36-01-1	Siou	Balé
B36-01-1 2	B36-01-1	Siou	Balé
B36-01-2 1	B36-01-2	Siou	Balé
B36-01-2 2	B36-01-2	Siou	Balé
B36-01-3 1	B36-01-3	Siou	Balé
B36-01-3 2	B36-01-3	Siou	Balé
B37-01-1-1	B37-01-1	Seyou	Balé
B37-01-1 2	B37-01-1	Seyou	Balé
B38-01-1 1	B38-01-1	Mahon	Balé
B38-02-1 1	B38-02-1	Mahon	Balé
B38-02-1 2	B38-02-1	Mahon	Balé
B39-01-1 1	B39-01-1	Sala	Houet
B39-01-1 2	B39-01-1	Sala	Houet

Suite annexe 2

Isolats	Echantillon	Localité	Province
B39-02-1 1	B39-02-1	Sala	Houet
B39-02-1 2	B39-02-1	Sala	Houet
B39-03-1 2	B39-03-1	Sala	Houet
B39-04-1 1	B39-04-1	Sala	Houet
B39-04-1 2	B39-04-1	Sala	Houet
B40-01-1 1	B40-01-1	Ramatoulaye	Houet
B40-02-1 1	B40-02-1	Ramatoulaye	Houet
B41-01-1 1	B41-01-1	Nefrelaye	Houet
B41-01-1 2	B41-01-1	Sindou	Léréba
B42-03-1 1	B42-03-1	Sindou	Léréba
B42-03-1 2	B42-03-1	Sindou	Léréba
B42-04-1 1	B42-04-1	Sindou	Léréba
B42-04-1 2	B42-04-1	Sindou	Léréba
B43-01-1 1	B43-01-1	Sindou	Léréba
B43-01-1 2	B43-01-1	Sindou	Léréba

Annexe 3 : Codification des valeurs qualitatives basées sur l'aspect et la couleur des colonies mycéliennes

1 : cercle

2 : tache

3 : Cercle et tache

4 : Rose

5 : Rose clair

6 : Rose violet

7 : Violet

8 : Rose à bordure blanche

9 : Rose clair à bordure blanche

10 : Rose violet à bordure blanche

11 : Violet à bordure blanche

12 : Rose orangé à bordure blanche

13 : rose fond jaune

Annexe 4: Analyse factorielle des cent trente cinq isolats en dix classes

---

Classes	1	2
	2	16
	3	15
	4	2
	5	31
	6	1
	7	30
	8	8
	9	24
	10	6
Valides		135
Manquantes		,000

---

Annexe 5: Analyse de variance de l'efficacité des extraits de plantes sur les dix isolats de *F. verticillioides in vitro* à quatre (4) jours après incubation

Isolats	Degré de liberté	Moyenne des carrées	Test de F	Probabilité.
B03-15-1 1	6	6,263	62,410	,000
B27-01-1 1	6	6,450	356,443	,000
B03-04-1 1	6	8,294	61,332	,000
B03-06-2 1	6	9,698	34,933	,000
B36-01-2 1	6	7,541	56,153	,000
B29-01-1 1	6	9,415	76,118	,000
B26-01-1 1	6	9,791	40,042	,000
B03-07-1 1	6	8,446	52,511	,000
B03-11-1 1	6	7,698	56,975	,000
B03-12-1 1	6	9,007	156,001	,000

Annexe 6 : Analyse de variance de l'efficacité des extraits de plantes sur les dix isolats de *F. verticillioides in vitro* à 7 jours après incubation

Isolats	Degré de liberté	Moyenne des carrées	Test de F	Probabilité.
B03-15-1 1	6	14,120	38,685	,000
B27-01-1 1	6	21,565	87,259	,000
B03-04-1 1	6	18,433	35,825	,000
B03-06-2 1	6	22,153	38,007	,000
B36-01-2 1	6	19,128	24,568	,000
B29-01-1 1	6	18,939	67,295	,000
B26-01-1 1	6	16,192	34,210	,000
B03-07-1 1	6	17,050	41,902	,000
B03-11-1 1	6	15,192	55,532	,000
B03-12-1 1	6	20,468	220,138	,000

Annexe 7: Analyse de variance de l'efficacité des extraits de plantes sur les dix isolats de *F. verticillioides in vitro* à 10 jours après incubation

Isolats	Degré de liberté	Moyenne des carrées	Test de F	Probabilité.
B03-15-1 1	6	25,191	44,765	,000
B27-01-1 1	6	30,241	105,012	,000
B03-04-1 1	6	31,386	60,028	,000
B03-06-2 1	6	30,383	25,068	,000
B36-01-2 1	6	30,086	32,707	,000
B29-01-1 1	6	28,813	65,698	,000
B26-01-1 1	6	20,129	29,112	,000
B03-07-1 1	6	29,312	37,881	,000
B03-11-1 1	6	24,515	74,102	,000
B03-12-1 1	6	31,753	100,387	,000