

Réaction de deux espèces d'igname (*Dioscorea* spp.) traitées avec du vin de palme (*Elaeis guineensis* Jacq.), aux champignons responsables des pourritures d'igname

Patrice Kouamé Assiri (1), Attaky Hortense Diallo (1),
Andres Tschannen (2), Severin Ake (3)

- (1) Laboratoire de Biologie et Amélioration de la Production Végétale
Université d'Abobo-Adjamé, Côte d'Ivoire
 - (2) Centre Suisse de Recherche Scientifique, Côte d'Ivoire
 - (3) Laboratoire de Physiologie Végétale, Université de Cocody, Côte d'Ivoire
-

La sensibilité de *Dioscorea alata* var. bète-bète et de *D. cayenensis-rotundata* var. krenglè traitées avec du vin de palme extrait du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) à sept champignons isolés de tubercules d'igname pourris en post-récolte a été évaluée. Ces tubercules d'igname ont été collectés sur deux marchés de la ville d'Abidjan et sur les claies de stockage à Bringakro (à 180 km d'Abidjan, Côte d'Ivoire). A travers les tests de pathogénéicité, *Penicillium oxalicum* s'est révélé le plus pathogénique de tous les champignons isolés. Krenglè s'est montrée plus sensible aux champignons inoculés que bète-bète. *In vitro*, le vin de palme fermenté a inhibé totalement la croissance mycélienne de tous les champignons à l'exception de *P. oxalicum* et d'*Aspergillus niger*. Les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des différents champignons sont plus élevés sur krenglè que sur bète-bète. *In vivo*, quelque soit l'espèce d'igname testée, le vin de palme fermenté s'est montré plus efficace que le vin non fermenté lorsqu'il est utilisé à titre préventif.

Mots clés: biofongicide, vin de palme, gestion intégrée des maladies

The sensitivity of *Dioscorea alata* var. bète-bète and *D. cayenensis-rotundata* var. krenglè treated with palm wine obtained from oil palm trees (*Elaeis guineensis* Jacq.) to seven fungi isolated from yam rots was assessed. Yam tubers were collected from two markets in Abidjan and also from storage sites in Bringakro (at 180 km from Abidjan, Côte d'Ivoire). Pathogenicity tests showed that *Penicillium oxalicum* was the most pathogenic among all fungi isolated. Krenglè was more susceptible than bète-bète. *In vitro*, fermented palm wine totally inhibited mycelial growth of all fungi isolated with the exception of *P. oxalicum* and *Aspergillus niger*. Inhibition percentage of mycelial growth of all fungi was more important for krenglè than bète-bète. Regardless the yam species, *in vivo* tests showed that fermented palm wine was more effective than non fermented palm wines when used as a preventive treatment.

Key words: natural fungicide, palm wine, integrated disease management

Introduction

L'igname (*Dioscorea* spp.) est une plante alimentaire de première importance dans de nombreux pays tropicaux, qu'ils soient situés en Asie, en Amérique du Sud, en Afrique ou particulièrement en Afrique de l'Ouest. Le tubercule d'igname est riche en amidon et donc source d'énergie alimentaire. Il constitue également une importante source de revenus pour les populations qui le cultive (Babaleye, 2003).

En Côte d'Ivoire, la production d'igname se partage entre l'espèce *D. alata* (60%) qui représente la quasi-totalité de la consommation familiale et *D. cayenensis* (40%), plutôt destinée à la commercialisation (MINAGRA, 1991). La production annuelle d'igname dépasse les 200 kg par habitant, ce qui la place au premier rang des cultures vivrières du pays. Dans ces conditions, les pertes de conservation constituent un sérieux manque à gagner pour l'agriculture ivoirienne.

Les pertes post-récoltes sont généralement dues aux insectes, aux nématodes, aux rongeurs, aux pertes d'eau par évaporation et aux microorganismes (Coursey, 1967; Ikontun, 1986). Les pourritures dues aux champignons occasionnent les plus grosses pertes de stockage (Otusanya et Jeger, 1996). Les champignons généralement associés aux pourritures lors du stockage sont *Aspergillus flavus* Lark ex Fr., *A. niger* Van Tiegh, *Botryodiplodia theobromae* Pat, *Fusarium oxysporum* Schlecht ex Fr., *F. solani* (Mart.) Sacc., *Penicillium chrysogenum* Thom, *P. oxalicum* Currie et Thom, *Rhizoctonia* spp., *Trichoderma viride* Pers. ex S. F. Gray et *Rhizopus nodosus* N'amyslowski (Adeniji, 1970; Ogundana et al., 1970; Okigbo et Ikediugwu, 2000, 2001, 2002; Okigbo, 2004).

En Côte d'Ivoire, ce sont surtout les variétés du complexe *D. cayenensis-rotundata* qui sont à haut risque pour les pourritures (Girardin, 1996; Tschannen, 2003). Les *Penicillium* sont pour Noon (1978), Ricci et al. (1979) et Foua-Bi et al. (1979), les agents pathogènes qui globalement causent les dégâts les plus importants. Selon Degras (1986), *P. oxalicum* peut se manifester au-dessus de l'écorce apparemment indemne, par des conidies vertes recouvrant des lésions brunes à brun noirâtres avec des teintes violacées chez certaines espèces de *D. cayenensis-rotundata* et des traînées blanc verdâtres chez *D. alata* (Foua-Bi et al., 1979).

Pour lutter contre les champignons des tubercules d'igname, différents types de traitements sont utilisés. Il s'agit entre autre de fongicides tels que le bénomyl et le captan (Ogundana, 1981) ainsi que le thiabendazole (Foua-Bi et al., 1979) qui ont prouvés leur efficacité. Cependant, la lutte chimique présente de nombreux inconvénients tels que le coût élevé, la persistance des résidus sur les tubercules traités, l'apparition de souches résistantes aux fongicides utilisés et l'impact négatif des traitements chimiques sur la santé et l'environnement. Il y a également le manque d'expertise dans la manipulation des pesticides par les paysans.

Ces dernières années, une attention particulière est accordée aux méthodes de lutte non chimiques. C'est ainsi que des extraits de plantes sont de plus en plus utilisés pour lutter contre les champignons. *Xylopiya aethiopica* (Danul) A. Rich, *Zingiber officinale* Roscoe, *Ocimum gratissimum* L. et *Aframomum melegueta* (Roscoe) K. Schum (Okigbo et Nmeka, 2005; Okigbo et Ogonnaya, 2006) ont été testées pour leur action antifongique contre

les champignons des pourritures de l'igname. La lutte biologique utilisant des microorganismes non pathogènes pour lutter contre les pathogènes responsables de maladies au niveau des plantes est une alternative prometteuse qui peut être utilisée en post-récolte (Weller et al., 2002). Ces microorganismes sont capables d'inhiber la croissance de ces pathogènes (Jung et Kim, 2005). Il s'agit entre autre de levures telles que *Candida oleophila* Montrecher (Lima et al., 1997) et *C. sake* (Saito and Ota) Van Uden and Buckley (Vinas et al., 1998) et des bactéries telles que *Pseudomonas syringae* Van Hall (Northover et Zhou, 2002). Okigbo a testé en 2004, *in vitro* et au champ, l'efficacité de *Bacillus subtilis* Cohn contre les champignons responsables des pourritures de l'igname.

Le vin de palme extrait du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) est couramment utilisé comme boisson en Afrique. Il contient des levures en particulier les *Saccharomyces* et des bactéries constituées à majorité des genres *Zymomonas* et *Lactobacillus* (Assi, 2003; Nwachukwu et al., 2006). Mascher et Défago (2000) ont montré que le vin de palme possède une activité antifongique naturelle et que cette activité serait due à des bactéries du genre *Zymomonas*. Ils ont pu mettre en évidence trois types d'inhibition sur certains champignons des pourritures de l'igname (*D. alata*) à savoir, une inhibition de la croissance mycélienne, de la sporulation et une inhibition des deux à la fois. A ce jour, très peu d'études ont porté sur l'efficacité de ces méthodes de lutte biologique contre les champignons responsables de pourritures sur *D. alata* et *D. cayenensis-rotundata*.

L'objectif de ce travail est de tester la sensibilité de deux variétés d'igname les plus cultivées en Côte d'Ivoire (*D. alata* var. bètè-bètè et *D. cayenensis-rotundata* var. krenglè), traitées avec du vin de palme fermenté et non fermenté, vis à vis de champignons isolés de pourritures de tubercules d'igname.

Les hypothèses de travail sont les suivantes:

- des champignons sont associés aux pourritures observées sur les tubercules de *D. alata* et *D. cayenensis-rotundata*;
- les champignons isolés causent des pourritures;
- les vins de palme fermentés et non fermentés possèdent une activité antifongique contre les champignons isolés des tubercules d'igname; et
- *D. alata* et *D. cayenensis-rotundata* réagissent différemment contre les champignons isolés lorsqu'ils sont traités au vin de palme.

Matériels et méthodes

Matériels

Le matériel utilisé est constitué de deux espèces d'ignames: *Dioscorea alata* var. bètè-bètè et *Dioscorea cayenensis-rotundata* var. krenglè dont certains tubercules présentent des pourritures (figure 1) et d'autres sont sains. Ces ignames ont été collectées dans les claies de stockage dans la station de recherche du Centre Suisse de Recherche Scientifique situé à Bringakro dans la sous-préfecture de Toumodi (à 180 km d'Abidjan, Côte d'Ivoire) et sur deux marchés de la ville d'Abidjan. Le choix de ces deux marchés a été guidé par le fait que la plupart des tubercules d'igname en provenance des zones de production et desti-

nés à la commercialisation y sont stockés. Les vins de palme fermenté et non fermenté utilisés ont été collectés dans la palmeraie de l'Université d'Abobo-Adjamé (Abidjan, Côte d'Ivoire) selon la méthode d'Obire (2005). Le vin de palme collecté a été mis dans des bouteilles en plastique stériles. Ensuite ces bouteilles ont été immédiatement plongées dans une solution constituée de chlorure de sodium et de morceaux de glace. Puis ces bouteilles ont été apportées au laboratoire pour analyse. Cette méthode de collection a pour objectif de freiner la fermentation.

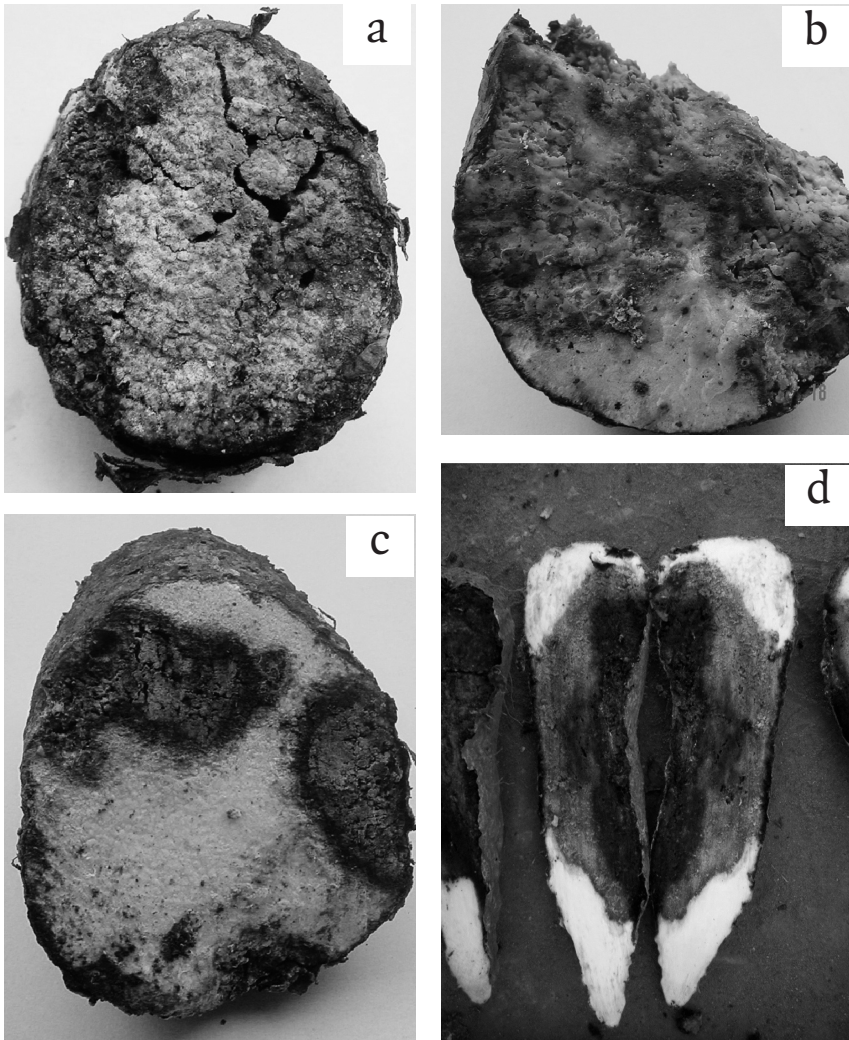


Figure 1. Tubercules d'igname (*Dioscorea* spp.) présentant des pourritures. a: pourriture avec coloration verte; b: pourriture brune; c: pourriture sèche; d: pourriture molle.

Méthodes

Isolement des champignons des pourritures d'igname, désinfection, ensemencement et purification

Des morceaux d'ignames pourris, prélevés à la marge des pourritures, ont été désinfectés à l'eau de javel 10% pendant 3 minutes et rincés successivement trois fois dans de l'eau distillée stérile pendant 3 minutes (Davet et al., 1997). Après élimination de l'excès d'eau sur du papier buvard stérile, les morceaux d'igname étaient ensemencés sur un milieu pomme de terre enrichi au glucose ou Potato Dextrose Agar (PDA) contenu dans des boîtes de Pétri. Ces boîtes ont été incubées ensuite pendant 48 à 72 heures, à la température ambiante (26 à 27° C). Les colonies issues des isollements primaires ont été repiquées plusieurs fois sur des milieux de culture neufs de sorte à obtenir une seule coloration de champignon par boîte de Pétri au terme de la purification (Davet et al., 1997). Pour chaque espèce d'igname, trente tubercules ont été utilisés pour l'isolement des champignons. Cette expérience a été répétée trois fois.

Identification des champignons

Les différentes colonies de champignons ainsi obtenues ont été décrites macroscopiquement puis observées au microscope optique afin de les identifier. Les observations ont porté sur les caractéristiques telles que la coloration, la forme des spores, le cloisonnement et la ramification ou non du mycélium. Cette identification s'est faite grâce aux clés d'identification de Botton et al. (1990).

Pathogénéicité des champignons isolés

La méthode d'Okigbo et Ikediugwu (2000) a été utilisée pour tester la pathogénéicité des différents champignons isolés. Avant d'être inoculées avec les champignons, les ignames saines ont été lavées puis désinfectées à l'alcool 90° et ensuite coupées en rondelles de quatre cm d'épaisseur sous une hotte à flux laminaire (LFM 8472S). Avec un emporte-pièce de 0,5 cm de diamètre (Inox Nature), un trou de 1 cm de profondeur a été fait au centre de la rondelle d'igname. Un inoculum fongique de 0,5 cm provenant d'une culture âgée d'une semaine sur milieu PDA a été introduit dans le trou fait dans l'igname de telle sorte que la face portant le mycélium soit orientée vers le bas. Le trou a été refermé par le cylindre d'igname préalablement retiré. Les ignames ainsi traitées ont été conservées dans des bacs stériles en plastique contenant du papier buvard imbibé d'eau distillée stérile afin de maintenir une forte humidité relative. Ces bacs ont été enfin conservés au laboratoire, à la température ambiante (26 à 30° C). Pour chacun des champignons testés, trente rondelles d'igname ont été utilisées pour chaque espèce d'igname. Pour le témoin, un disque de milieu PDA stérile solidifié a été introduit dans l'ouverture faite dans l'igname (Mascher et Défago, 2000).

La coloration interne et externe des pourritures causées par les champignons a été décrite dix jours après inoculation, de même que celle des champignons isolés des pourritures d'igname. Afin de déterminer le volume des pourritures, dix jours (correspondant à l'envahissement total de la surface des rondelles d'igname par les champignons) après

inoculation, les rondelles d'igname ont été coupées en se servant d'un couteau stérile. La hauteur et le diamètre de chaque pourriture ont été mesurés puis le volume calculé selon la formule de Mascher et Défago (2000):

$$\text{volume de pourriture} = \pi r^2 \times h$$

avec r = rayon et h = hauteur de la pourriture.

Collecte du vin de palme

Deux palmiers à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) ont été utilisés pour la production du vin de palme. Après l'abattage des palmiers à huile, les feuilles et les épiphytes ont été larguées afin de dégager le bourgeon terminal où une cavité a été creusée. Une tige de roseau (*Phragmites australis* (Cav) Trin. ex Steud.) a été placée en-dessous de la cavité pour conduire le liquide jusqu'à un récipient située en-dessous de cette tige. La coulée de sève a été réactivée à chaque collecte par une flamme, puis la cavité a été nettoyée et rafraîchie par des incisions (Okafor, 1975; Uzogara et al., 1990). Des collectes de vin ont été effectuées quotidiennement à partir du cinquième jour après l'abattage des palmiers, pendant 4 semaines selon la méthode d'Obire (2005). Les collectes de la même semaine ont été mises ensemble pour former un seul échantillon. Les échantillons des deux palmiers à huile ont été par la suite combinés. Une partie a été laissée à la température ambiante pendant 24 heures pour favoriser la fermentation avant d'être conservée au congélateur (-20° C). L'autre partie a été directement conservée à -20° C.

Activité in vitro du vin de palme

La méthode de Amadioha et Obi (1999) a été utilisée pour évaluer l'effet du vin de palme sur la croissance mycélienne des champignons isolés, *in vitro*. Elle consiste à tracer deux droites perpendiculaires sur le revers de chaque boîte de Pétri avant de couler le milieu de culture en condition stérile, leur point d'intersection indiquant le centre de la boîte. Ainsi, dans une boîte de Pétri contenant un milieu PDA solidifié, 0,9 ml de la suspension (volume déterminé à la suite de tests préliminaires) de vin de palme a été introduit et réparti sur toute la surface du milieu de culture. Puis, un disque de 0,5 cm de diamètre d'une culture de champignon ayant passé 7 jours de culture sur milieu PDA, a été déposé au centre de la boîte contenant le milieu de culture. Dans la boîte témoin, 0,9 ml d'eau distillée stérile a été introduite au lieu du vin de palme puis le même champignon a été déposé à l'intersection des deux axes. Enfin, les boîtes de Pétri ont été scellées avec de la paraffine et incubées à la température ambiante (26 à 30° C). Trois boîtes de Pétri ont été utilisées par champignon. Ces tests ont été réalisés aussi bien avec le vin de palme non fermenté qu'avec celui ayant fermenté.

Des mesures de la croissance mycélienne des champignons ont été effectuées suivant les deux droites précédemment tracées au revers des boîtes de Pétri à l'aide d'une règle graduée en cm, et ce dès l'apparition du mycélium. Ces mesures ont été faites quotidiennement pendant dix jours. Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule de Amadioha et Obi (1999):

inhibition de croissance (%) = $[(DC-DT)/DC] \times 100$, avec

DC = diamètre moyen du témoin et

DT = diamètre moyen de l'échantillon traité.

L'aspect de chaque colonie mycélienne a été également observé et décrit afin de confirmer l'effet du vin de palme sur le mycélium.

Activité in vivo du vin de palme sur rondelle d'igname saine

La méthode de Amadioha et Obi (1999) a été également utilisée pour évaluer l'effet du vin de palme sur la croissance mycélienne des champignons sur les rondelles d'igname. Ces tests ont été réalisés en fonction du type de vin de palme. Sur des rondelles d'igname d'environ 9 cm de diamètre et 4 cm d'épaisseur, obtenues à partir de tubercules entiers, deux droites perpendiculaires ont été tracées sur l'une des deux faces de chaque rondelle. Puis, elles ont été trempées dans une suspension de vin de palme pendant 3 minutes. Quant aux témoins, ils ont été trempés dans de l'eau distillée stérilisée pendant une même durée de trempage. Puis, un disque de 0,5 cm de diamètre d'une culture de champignon de 7 jours de culture sur milieu PDA, a été déposé à l'intersection des deux droites précédemment tracées. Les rondelles d'ignames ainsi traitées ont été conservées dans des bacs stériles en plastique contenant du papier buvard imbibé d'eau distillée stérile afin de maintenir une humidité relative élevée, et les bacs conservés à la température du laboratoire. Pour chacun des champignons, trente rondelles d'igname ont été utilisées.

A partir d'un jour après inoculation des rondelles d'igname, la croissance mycélienne du champignon a été mesurée quotidiennement sur chaque rondelle jusqu'à ce que celui-ci colonise toute la surface de la rondelle d'igname. Le pourcentage d'inhibition a également été calculé.

Activité in vivo du vin de palme sur rondelle d'igname infectée artificiellement

Dans l'optique de tester la capacité du vin de palme à ralentir ou à freiner l'évolution des champignons sur des ignames déjà infectées, des morceaux d'igname apparemment sains ont été artificiellement infectés par les champignons isolés selon la méthode précédemment décrite. Puis 0,9 ml de vin de palme a été pulvérisé sur les différents échantillons dès l'apparition des premiers mycéliums. Ce traitement s'est fait séparément avec chacun des deux types de vin de palme (fermenté et non fermenté). Le pourcentage d'inhibition a également été calculé.

Analyse statistique

Une analyse de variance (anova) à un critère de classification a été effectuée pour classer les différents champignons inoculés selon leur pathogénéicité. Ensuite, une autre anova à 2 critères de classification a été réalisée pour comparer la réaction des 2 espèces d'igname inoculées par les champignons et évaluer l'effet du type de vin de palme sur la croissance mycélienne des champignons isolés des pourritures d'ignames. En cas de différence significative, le classement des moyennes a été fait selon le test de newman-keuls au seuil de 5%. Le logiciel utilisé était statistica 6.0.

Résultats

Champignons isolés

Plusieurs champignons ont été isolés des pourritures d'ignames. Il s'agit de *Trichoderma* spp., *Mucor* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* (*P. oxalicum* et *P. spp.* 2), *Curvularia* spp. et *Aspergillus* (*A. niger*, *A. spp.* 2 et *A. spp.* 3). Tous ces champignons ont été isolés aussi bien sur *D. cayenensis-rotundata* var. krenglè que sur *D. alata* var. bètè-bètè. *S. rolfsii*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *P. oxalicum*, *Curvularia* et *Aspergillus* (*A. niger*, *A. spp.* 2) ont été utilisés pour la suite des travaux en raison de leurs fréquences d'isolement plus élevées que les autres.

Test de pathogénéicité

Les tests de pathogénéicité ont été effectués avec les champignons suivants: *S. rolfsii*, *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *P. oxalicum*, *Curvularia* spp. et *A. niger*. Tous ces champignons inoculés ont causé des pourritures au niveau des deux variétés. Cependant, les volumes de pourriture varient significativement en fonction de chaque variété d'igname et en fonction des différents champignons inoculés.

Des deux variétés inoculées, la variété krenglè s'est montrée plus sensible par rapport à la variété bètè-bètè. En effet, les différents volumes de pourritures varient respectivement de 11,86 à 1,63 cm³ pour krenglè et de 8,74 à 1,47 cm³ pour bètè-bètè. Ainsi, le plus grand volume de pourriture a été observé au niveau de la variété krenglè (tableau 1).

Variété d'igname	Volume de pourriture* (cm ³)					
	<i>A. niger</i>	<i>P. oxalicum</i>	<i>S. rolfsii</i>	<i>Rhizoctonia</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Curvularia</i> spp.
krenglè	8,42 b	11,86 a	6,24 c	4,75 d	2,34 e	1,63 f
bètè-bètè	7,84 a	8,74 a	5,42 b	4,35 c	1,72 d	1,47 d

* Les chiffres suivis de la même lettre sur la même ligne ne sont pas significativement différents au seuil de 5% selon le test de Newman-Keuls.

Tableau 1. Volume de pourriture causé par les champignons sur *Discorea* spp. variété krenglè et *Discorea* spp., variété bètè-bètè.

Concernant les champignons inoculés, une différence significative a été observée entre eux quelle que soit la variété d'igname. Ainsi, *P. oxalicum* et *A. niger* causent les plus grands volumes de pourritures sur les deux variétés d'igname. En revanche, les plus faibles volumes de pourriture ont été enregistrés avec *Fusarium* spp. et *Curvularia* spp.

Activité in vitro du vin de palme sur les champignons

Les deux types de vin de palme utilisés inhibent la croissance mycélienne de tous les champignons isolés des pourritures d'igname. Toutefois, l'effet antifongique du vin de palme varie selon le type de vin de palme utilisé. Ainsi, pour le vin de palme non fermenté, les pourcentages d'inhibition les plus élevés ont été obtenus sur *Fusarium* spp. et

Curvularia spp. Ils sont de 55,69 et 54,26% respectivement. Par ailleurs, le pourcentage d'inhibition le plus bas a été observé sur *A. niger* (tableau 2). Contrairement au vin de palme non fermenté, celui ayant fermenté s'est montré plus efficace quant à l'inhibition des champignons. Ainsi, une inhibition totale de la croissance mycélienne de *S. rolfsii*, *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Curvularia* spp. et *Aspergillus* spp. 2 a été observée. Le pourcentage d'inhibition le plus bas a été observé sur *P. oxalicum* (tableau 2).

Pathogènes	Pourcentage d'inhibition* (%)	
	Vin de palme non fermenté	Vin de palme fermenté
<i>A. niger</i>	23,95 ± 0,87 a	84,60 ± 0,70 b
<i>P. oxalicum</i>	25,90 ± 1,27 a	61,91 ± 1,03 a
<i>S. rolfsii</i>	29,94 ± 1,18 bc	100 c
<i>Rhizoctonia</i> spp.	27,70 ± 0,78 ab	100 c
<i>Fusarium</i> spp.	55,69 ± 1,91 d	100 c
<i>Aspergillus</i> spp. 2	32,07 ± 0,76 c	100 c
<i>Curvularia</i> spp.	54,26 ± 0,96 d	100 c

* Les moyennes sur la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5% selon le test de Newman-Keuls.

Tableau 2. Pourcentage d'inhibition *in vitro* du vin de palme sur les différents champignons isolés des pourritures d'igname.

Activité *in vivo* du vin de palme sur les champignons en fonction de différentes variétés d'igname saines

Vin de palme non fermenté

Le vin de palme non fermenté inhibe la croissance mycélienne de différents champignons inoculés sur les deux variétés d'igname. Cependant, le pourcentage d'inhibition de ces champignons par ce vin varie en fonction de la variété d'igname utilisée (tableau 3). En effet, les pourcentages d'inhibition les plus élevés ont été observés sur la variété krenglè. Ce pourcentage varie de 54,94 à 65,49% pour tous les champignons à l'exception de *S. rolfsii* dont le pourcentage d'inhibition est de 11,91%. A la différence de la variété krenglè, l'activité antifongique de ce vin sur la variété bètè-bètè est très faible. Ce pourcentage d'inhibition oscille entre 9,10 et 1,44%.

Pathogènes	Pourcentage d'inhibition* (%)	
	krenglè	bètè-bètè
<i>A. niger</i>	55,49 ± 1,86 b	7,13 ± 0,89 bc
<i>P. oxalicum</i>	65,49 ± 2,16 d	9,10 ± 1,42 c
<i>S. rolf sii</i>	11,91 ± 0,76 a	4,12 ± 1,07 ab
<i>Rhizoctonia spp.</i>	62,42 ± 1,36 c	3,13 ± 0,84 a
<i>Fusarium spp.</i>	63,66 ± 2,34 c	1,44 ± 1,36 a
<i>Aspergillus spp.</i> 2	57,10 ± 0,54 bc	3,24 ± 0,16 a
<i>Curvularia spp.</i>	54,94 ± 0,64 b	4,16 ± 0,34 ab

* Les moyennes sur la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5% selon le test de Newman-Keuls.

Tableau 3. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des différents champignons sur deux variétés d'igname saines par le vin de palme non fermenté.

Vin de palme fermenté

Une inhibition de la croissance mycélienne est observée sur les deux variétés d'igname inoculées. Mais contrairement au vin de palme non fermenté, le pourcentage d'inhibition sur la variété krenglè se situe au-delà de 50% pour tous les champignons à l'exception de *S. rolf sii*. Mieux, un pourcentage de 79,07% est observé sur *Rhizoctonia spp.* D'autre part, sur la variété bètè-bètè, ces pourcentages sont supérieurs à ceux enregistrés avec le vin de palme non fermenté pour la plupart des champignons, exception faite de *P. oxalicum* et de *S. rolf sii*. Un pourcentage d'inhibition de 38,28% est même atteint sur la croissance mycélienne de *Fusarium spp.* (tableau 4).

Pathogènes	Pourcentage d'inhibition* (%)	
	krenglè	bètè-bètè
<i>A. niger</i>	52,57 ± 1,09 b	29,09 ± 0,36 f
<i>P. oxalicum</i>	65,49 ± 0,47 cd	6,89 ± 0,44 b
<i>S. rolf sii</i>	11,91 ± 1,12 a	3,51 ± 0,76 a
<i>Rhizoctonia spp.</i>	79,07 ± 0,85 d	25,24 ± 0,89 d
<i>Fusarium spp.</i>	54,79 ± 0,70 b	38,28 ± 1,13 g
<i>Aspergillus spp.</i> 2	58,15 ± 1,41 bc	27,44 ± 0,42 e
<i>Curvularia spp.</i>	62,01 ± 1,12 c	21,05 ± 0,76 c

* Les moyennes sur la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5% selon le test de Newman-Keuls.

Tableau 4. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des différents champignons sur deux variétés d'igname saines par le vin de palme fermenté.

L'analyse de la variance indique que la différence entre les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne de différents champignons est significative quelle que soit la variété d'igname utilisée.

Par ailleurs, l'activité antifongique du vin de palme est plus élevée sur la variété kren-glè que sur la variété bètè-bètè.

Activité *in vivo* du vin de palme sur rondelle d'igname naturellement infectée par les champignons

Le potentiel antifongique du vin de palme fermenté et non fermenté à réduire ou à contrôler la pourriture d'un champignon sur l'igname a été évalué au cours de cette étude. Il ressort des tests effectués que le pourcentage d'inhibition engendré par ces deux types de vin est très faible quelle que soit la variété d'igname infectée. Cependant, sur la variété kren-glè un pourcentage d'inhibition de 7,67 et 11,58% est respectivement atteint sur *Fusarium* spp. et *Curvularia* spp. avec du vin de palme non fermenté (tableau 5). Quant à la variété bètè-bètè, à l'exception de *Fusarium* spp. et de *S. rolfsii*, ces pourcentages d'inhibition sont inférieurs à 4% avec les autres champignons.

Pathogènes	Pourcentage d'inhibition* (%)	
	kren-glè	bètè-bètè
<i>A. niger</i>	2,29 ± 0,89 ab	3,24 ± 0,56 b
<i>P. oxalicum</i>	1,75 ± 0,74 a	3,53 ± 1,07 b
<i>S. rolfsii</i>	1,66 ± 0,52 a	5,26 ± 0,47 bc
<i>Rhizoctonia</i> spp.	2,97 ± 0,42 ab	3,85 ± 1,26 b
<i>Fusarium</i> spp.	7,67 ± 1,36 b	7,20 ± 1,47 c
<i>Aspergillus</i> spp. 2	2,60 ± 0,22 ab	1,20 ± 0,68 a
<i>Curvularia</i> spp.	11,58 ± 1,24 c	2,83 ± 0,36 ab

* Les moyennes sur la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5% selon le test de Newman-Keuls.

Tableau 5. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des différents champignons sur deux variétés d'igname naturellement infectées en fonction du vin de palme non fermenté.

Avec le vin de palme fermenté, le pourcentage d'inhibition le plus élevé a été observé sur *P. oxalicum* aussi bien sur la variété krenglè que sur bète-bète (tableau 6).

Pathogènes	Pourcentage d'inhibition* (%)	
	krenglè	bète-bète
<i>A. niger</i>	7,11 ± 0,96 c	6,12 ± 1,63 c
<i>P. oxalicum</i>	15,76 ± 0,76 d	13,98 ± 1,22 e
<i>S. rolfsii</i>	2,89 ± 0,36 ab	1,63 ± 0,47 a
<i>Rhizoctonia</i> spp.	1,89 ± 0,42 a	1,62 ± 0,18 a
<i>Fusarium</i> spp.	3,45 ± 0,82 b	2,57 ± 0,36 b
<i>Aspergillus</i> spp. 2	7,84 ± 1,23 c	8,41 ± 1,23 d
<i>Curvularia</i> spp.	2,47 ± 0,74 ab	1,03 ± 0,16 a

* Les moyennes sur la même colonne affectées de lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5% selon le test de Newman-Keuls

Tableau 6. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des différents champignons sur deux variétés d'igname naturellement infectées en fonction du vin de palme fermenté.

Discussion

Douze champignons ont été isolés des pourritures d'igname au cours de cette étude. Ces champignons sont généralement associés aux pourritures d'igname en post-récolte (Ogun-dana *et al.*, 1970; Ikotun, 1986; Ogalie *et al.*, 1991; Okigbo, 2002, 2005). Ce résultat confirme l'implication des champignons dans les pertes post-récolte. Généralement, ces pourritures observées lors du stockage débutent dans le sol et se poursuivent pendant le stockage. Cette situation s'observe lorsque les tubercules infectés ne présentent pas encore des symptômes externes manifestes (Booth, 1974; Jones, 1986).

Tous les champignons inoculés causent des pourritures sur les deux variétés d'igname. Cela montre la capacité de ces champignons à utiliser les éléments nutritifs présents dans l'igname pour leur croissance et leur développement, quelque soit la variété. Cette même observation a été faite par Okigbo et Ikediugwu en 2000.

Au cours de cette étude, *P. oxalicum* a engendré le volume de pourriture le plus élevé sur les deux variétés d'igname, se montrant ainsi le plus virulent de tous les champignons inoculés. Un tel résultat a déjà été mentionné par Noon en 1978 et Ricci *et al.* en 1979. Pour ces auteurs, les *Penicillium* spp. sont les pathogènes qui causent globalement les dégâts les plus graves. En effet, selon Degras (1986), *P. oxalicum* peut se manifester au-dessus de l'écorce, apparemment indemne, par des conidies vertes recouvrant des lésions brunes à brun noirâtre avec des teintes violacées chez *D. taylorensis-rotundata* et des traînées blanc verdâtre chez *D. alata* (Foua-Bi *et al.*, 1979). Contrairement à *P. oxalicum*, *Fusarium* spp. et *Curvularia* spp. se sont montrés les moins pathogéniques de tous les champignons inoculés. Cela pourrait être dû au fait qu'ils soient classés par certains auteurs comme des champignons secondaires qui s'installent à la suite d'attaques d'autres pathogènes (Ikediobi et Oti, 1983; Ikotun, 1986).

Cette étude a révélé une différence au niveau de la pathogénéité de différents champignons. Cette différence a déjà été mentionnée par certains auteurs. En effet, Okigbo (2002) a rapporté qu'*A. niger* s'est montré plus pathogénique comparé à *F. oxysporum* et à *A. flavus*. Dans une autre étude, Morse et al. (1999) ont montré que *Fusarium* spp. et *Penicillium* spp. se sont révélés plus pathogéniques qu'*Aspergillus* spp., *Curvularia* spp., *Epitocum* spp., et *Helminthosporium* spp.

D. cayenensis-rotundata var. krenglè s'est montré plus sensible aux champignons que *D. alata* var. bètè-bètè. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Girardin (1996) et Tschannen (2003). Ils ont montré qu'en Côte d'Ivoire, ce sont surtout les variétés du complexe *D. cayenensis-rotundata* qui sont à haut risque pour les pourritures. Degras (1986) a également observé que *D. cayenensis-rotundata* était plus sensible aux champignons que *D. alata*.

Le vin de palme utilisé inhibe la croissance mycélienne des champignons inoculés *in vitro*, montrant ainsi une certaine activité antifongique contre ces champignons. Cette activité antifongique pourrait être due à la présence de levures (Onyedinma, 1983; Ogbonna, 1984) et de bactéries (Assi, 2003) dans le vin de palme. L'activité antagoniste de ces microorganismes peut être due à la sécrétion d'antibiotiques (Van Loon et al., 1998), à la compétition pour la colonisation des sites et des micronutriments (El Hassani et al., 2004; Handelsman et Stabb, 1996), au parasitisme par la production d'enzymes telles que les glucanases et les chitinases capables de digérer les parois cellulaires des pathogènes (Whipps, 2001; Chernin et Chet, 2002, De Souza et al., 2003). Des résultats similaires ont été obtenus par plusieurs auteurs avec des extraits de plantes (Okigbo et Ogbonnaya, 2006).

Le vin de palme fermenté a montré une activité antifongique supérieure à celle du vin n'ayant pas fermenté. Cela pourrait s'expliquer par l'effet de la fermentation. En effet, pendant la fermentation, le nombre de microorganismes dans le vin de palme augmente considérablement (Ogbulie et al., 2007) et pourrait agir en synergie contre les pathogènes. Une telle observation a été faite par Calvo et al. (2003). Ils ont montré une synergie entre deux souches de levures (*Rhodotorula glutinis* et *Cryptococcus albidus*) isolées de la pomme 'Red delicious', contre *P. expansum*, avec un pourcentage d'inhibition de 76%.

In vivo, sur des rondelles d'igname saines, les deux types de vin (fermenté et non fermenté) inhibent la croissance mycélienne des champignons sur les deux variétés d'igname, confirmant ainsi l'activité antifongique du vin de palme. Cependant, cette activité est plus prononcée sur la variété krenglè.

La capacité à ralentir ou à supprimer l'évolution des champignons sur les tubercules déjà infectés par le vin de palme a aussi été évaluée. Il ressort de cette expérience que l'activité antifongique des deux types de vin est très faible. En effet, dès que la pourriture est causée par les champignons, la réduction voir la suppression de l'infection devient quasi impossible. Un tel résultat a déjà été mentionné par Okigbo et Ikediugwu (2000). En effet, ils ont étudié l'activité antifongique de *T. viride* sur deux lots de tubercules d'igname. Le premier lot a d'abord été inoculé par *A. niger*, *Botryodiplodia theobromae* et *P. oxalicum* avant l'inoculation par *T. viride*. Le deuxième lot a d'abord été inoculé par *T. viride* avant les

champignons. Au niveau du premier lot, le pourcentage d'inhibition était très faible alors qu'un pourcentage de 52% a été observé au niveau du deuxième lot.

Conclusion

Les champignons suivants ont été isolés des pourritures d'igname: *Mucor* spp., *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp., *S. rolfsii*, *Rhizoctonia* spp., *Penicillium* (*P. oxalicum* et *P. spp. 2*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. spp. 2* et *A. spp. 3*) et *Curvularia* spp. Tous les champignons inoculés ont causé des pourritures sur les deux variétés d'igname analysées ici. La variété krenglè s'est montrée plus sensible aux champignons inoculés par rapport à la variété bètè-bètè. Les deux types de vin de palme (fermenté et non fermenté) ont inhibé la croissance mycélienne de la plupart des champignons in vitro et in vivo. Cependant, le vin de palme fermenté a montré une activité antifongique nettement supérieure à celle du vin n'ayant pas fermenté. Cette étude a également montré que lorsque la pourriture est déjà installée sur les rondelles d'igname, l'activité antifongique du vin de palme est très faible.

Références

- Adeniji, M.O. (1970). Influence of moisture and temperature on yam decay organisms. *Journal of Phytopathology* 60: 1698-1699.
- Amadioha, A.C., Obi, V.I. (1999). Control of Anthracnose disease of cowpea by *Cymbopogon citratus* and *Ocimum gratissimum*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 34 (1-2): 85-89.
- Assi, C. (2003). Etude socio-économique et caractérisation génomique des levures isolées du "vin" de palme (bangui). Mémoire de DEA. Université d'Abobo-Adjamé, Abidjan, Côte d'Ivoire: 45 p.
- Babaleye, T. (2003). An important success story of the International Institute of Tropical Agriculture (IITA) which has existed in Nigeria since its inception 36 years ago, is that of raising the status of the yam, a major food crop in West Africa. ANB-BIA SUPPLEMENT ISSUE/EDITION. n° 463, 01/10/2003: 1-3 p.
- Booth, R.H. (1974). Postharvest deterioration of tropical root crops. Losses and their control. *Tropical science* 2 (16): 49-63.
- Botton, B., Breton, A., Fevrem, M., Gauthiers, S., Guy, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y., Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. Masson. Paris 1248 p.
- Calvo, J., Cavente, V., De Orellano, M.E., Benuzzi, D., De Tosetti, M.I.S. (2003). Improvement in the biocontrol of postharvest diseases of apples with the use of yeast mixtures. *BioControl* 48: 579-593.
- Coursey, D.G. (1967). *Yams*. Longmans London: 230 p.
- Chernin, L., Chet I. (2002). Microbial enzymes in biocontrol of plant pathogens and pests. In: Burns, R., Dick, R. (eds.), *Enzymes in the Environment: Activity, Ecology, and Applications*. Marcel Dekker Inc., New York, USA: 171-225.
- Davet, P., Rouxel, H. (1997). Détection et isolement des champignons du sol. Inra. Techniques et pratiques, 203 p.
- Degras, L. (1986). *L'igname: plante à tubercule tropicale*. Maisonneuve et Larousse et ACCT. Paris, France: 407 p.
- De, Souza J.T., De Boer, M., De Waard, P., Van Beek, T.A., Raaijmakers, J.M. (2003). Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 7161-7172.
- El Hassni, M., J'Aiti, F., Dihazi, A., Ait Barka, E., Daayf, F., El Hadrami, I. (2004). Enhancement of induced defense responses against Bayoud disease by treatment of date palm seedlings with a hypoaggressive *Fusarium oxysporum* isolate. *Journal of Phytopathology* 152: 182-189.

- Foua-BI, K., Babacauh, K.D., Demeaux, M. (1979). Pertes sur les ignames au cours du stockage : causes et méthodes de lutte. In: *La conservation des denrées alimentaires cultivées en climat chaud et humide. Actes du premier colloque international de technologie (CIT), Yaoundé 5-10 novembre 1979* Anonymous :395-412. AUPELF: Paris.
- Girardin, O. (1996). *Technologie après récolte de l'igname: étude de l'amélioration du stockage traditionnel en Côte d'Ivoire*. Thèse n° 11710. Ecole Polytechnique Fédérale de Zürich, Suisse: 136 p.
- Handelsman, J., Stabb, E.V. (1996). Biocontrol of soilborne plant pathogen. *The Plant Cell* 8: 1855-1869.
- Ikediodi, C.O., Oti, E. (1983). Some biochemical changes associated with postharvest storage of white (*Dioscorea rotundata*) tuber. *Journal of Sciences of Food and Agriculture* 34: 1123-1129.
- Ikotun, T. (1986). Microbial rot of tuber of chinese yams (*Dioscorea esculenta*) in storage. *Fitopatologia Brasileira* 11: 241-244.
- Jones, R.K. (1986). Fungicides for bedding plant. *News*. 16, 1985: 3-4.
- Jung, H.K., Kim, S.D. (2005). An antifungal antibiotic purified from *Bacillus megaterium* KL39, a biocontrol agent of red pepper *Phytophthora* blight disease. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 15: 1001-1010.
- Lima, G., Ippolito, A., Nigro, F., Salerno, M. (1997). Effectiveness of *Aureobasidium pullulans* and *Candida oleophila* against postharvest strawberry rots. *Postharvest Biology and Technology* 10: 169-178.
- Mascher, F., Defago, G. (2000). Biocontrol of yam tuber post harvest rot in western Africa. Institut for plant sciences, ETA Zürich-zentrum, Zürich. Scientific report 27 p.
- MINAGRA (Ministère de l'Agriculture et des Ressources Animales,) (1991). *Annuaire des statistiques Agricoles, Côte d'Ivoire*: 23 p.
- Morse, S., Acholo, M., McNamara, N., Oliver, R. (1999). Control of storage insects as a means of limiting yam tuber fungal rots. *Journal of Stored Products Research* 36: 37-45.
- Northover, J., Zhou, T. (2002). Control of *Rhizopus* rot of peaches with postharvest treatments of tebuconazole, flu-dioxonil, and *Pseudomonas syringae*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 24: 144-153.
- Noon, P.A. (1978). Storage and market diseases of yams. *Tropical Science* 20: 177-188.
- Nwachukwu, IN, Ibekwe, VI, Anyanwu, BN (2006). Investigaton of some Physicochemical and Microbial Seccesion Parameter of Palm wine. *Journal of Food Technology* 4: 304-312.
- Ogali, E.L., Opadokun, J.S., Okobi, A.O. (1991). Effect of lime and local gin on post-harvest rot of yams. *Tropical Agriculture* 31: 365-370.
- Obire, O (2005). Activity of *Zymomonas* species in palm-sap obtained from three areas in Edo State, Nigeria. *Journal of Applied Sciences and Environment Management* 9: 25-30.
- Ogbonna, A. (1984). *Isolation of yeast from raffia wine*. Thesis, University of Nigeria.
- Ogbulie, T.E., Ogbulie, J.N., Njoku, H.O. (2007). Comprative study on the microbiology and self life stability of palm wine from *Elaeis guineensis* and *Raphia hookeri* obtained from Okigwe, Nigeria. *African Journal of Biotechnology* 6 (7): 914-922.
- Ogundana, S.K., Naqvi, S.H.Z., Ekundayo, J.A. (1970). Fungi associated with soft rot yam (*Dioscorea* spp.) in Nigeria. *Transactions of the British Mycology Society* 54: 445-451.
- (1981). Assessment of fongicides for the prevention of storage rot of yam tubers. *Pesticides Sciences* 12: 491-494.
- Okafor, N. (1975). *Microbiology of Nigeria Palm wine with particular reference to bacteria*. *Journal of Applied Bacteriology* 38: 81-88
- Okigbo, R.N. (2002). Mycoflora of tuber surface of white yam (*Dioscorea rotundata*) and Postharvest control of pathogens with *Bacillus subtilis*. *Mycopathologia* 156: 81-85.
- (2004). A review of biological control methods for post harvest yams (*Dioscorea* spp.) in storage in South Eastern Nigeria. *KMITL Science Journal* 4 (1): 207-215.
- (2005). Biological control of postharvest fungal rot of yams (*Dioscorea* spp.) with *Bacillus Subtilis*. *Mycopathologia* 159 (2): 307-314.

- Okigbo, R.N., Ikediugwu, F.E.O. (2000). Studies on biological control of postharvest rot of yams (*Dioscorea* spp.) with *Trichoderma viride*. *Journal of Phytopathology* 148: 351-355.
- (2001). Biological control of tuber surface mycoflora of yam (*Dioscorea rotundata*). *Tropical Science* 41: 85-89.
- (2002). Evaluation of water losses in different regions of yam (*Dioscorea* spp.) tuber in storage. *Nigeria Journal of Experiment and Applied Biology* 3: 317-321.
- Okigbo, R.N., Nmeke, I.A. (2005). Control of yam tuber with leaf extracts of *Xylopia aethiopica* and *Zingiber officinale*. *African Journal of Biotechnology* 4 (8): 804-807.
- Okigbo, R.N., Ogbonnaya, U.O. (2006). Antifungal effects of two tropical plant leaf extracts (*Ocimum gratissimum* and *Aframomum melegueta*) on postharvest yam (*Dioscorea* spp.) rot. *African Journal of Biotechnology* 5 (9): 727-731.
- Onyedimma, J. (1983). Production of palm wine analogue from synthetic medium. Thesis, University of Nigeria Nsukka: 46 p.
- Otusanya, M.O., Jeger, M.J. (1996). Effect of *Aspergillus niger* on shoot emergence and vine development in field-sown yams (*Dioscorea* spp.) and rot development under long-term storage conditions. *International Biodeterioration and Biodegradation* 38: 89-100.
- Ricci, P., Torregrossa, J.P., Arnolin, R. (1979). Storage problems in the Cush-Cush Yam. I.- Postharvest decay. *Tropical Agriculture* 56 (1): 41-48.
- Tschannen, A.T. (2003). Controlling post-harvest losses of yam (*Dioscorea* spp.) by application of gibberillic acid. Dissertation n° 14942, Swiss Federal Institute of Technology (ETH), Zurich, Suisse: 138 p.
- Uzogara, S.G., Agu, L.N., Uzogara, E.O. (1990). A review of traditional fermented food condiments and beverages in Nigeria. Their Benefits and possible problems. *Ecological Food Nutrient* 24: 267-288.
- Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 36: 453-483.
- Vinas, I., Usall, J., Teixido, N., Sanchis, V. (1998). Biological control of major postharvest pathogens on apple with *Candida sake*. *International Journal of Food Microbiology* 40: 9-16.
- Weller, D.M., Raaijmakers, J.M., McSpadden, Gardener, B.B., Thomashow, L.S. (2002). Microbial Populations Responsible for specific soil suppressiveness plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 40: 309-48.
- Whipps, J.M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52: 487-511.