

# EVALUATION *IN VITRO* ET *IN VIVO* DE TROIS FONGICIDES DE SYNTHÈSE ET D'UN FONGICIDE BIOLOGIQUE SUR LA CROISSANCE ET LA SEVERITE DE *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES* ET DE *PESTALOTIA HETERORNIS*, CHAMPIGNONS RESPONSABLES DE MALADIES FOLIAIRES DE L'ANACARDIER (*ANACARDIUM OCCIDENTALE* L.) EN COTE D'IVOIRE

N. SILUE<sup>1</sup>, K. ABO<sup>2</sup>, F. JOHNSON<sup>1</sup>, B. CAMARA<sup>1</sup>, M. KONE<sup>3</sup>, D. KONE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Physiologie Végétale, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>Laboratoire de Phytopathologie et de biologie végétale, Département de la formation et de la recherche en agriculture et des ressources animales, Institut national polytechnique Félix Houphouët-Boigny, B.P. 1313, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

<sup>3</sup>Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales, UFR des Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

Auteur correspondant : Silué Nakpalo, Laboratoire de Physiologie végétale, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody-Abidjan. siluenakpalo@gmail.com, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire, +22508797163

## RESUME

L'antracnose, maladie fongique, cause d'importantes baisses de rendements des anacardières (*Anacardium occidentale* L.) dans certains pays producteurs. En Côte d'Ivoire, l'antracnose est l'une des maladies les plus répandues dans le verger anacardier et se développe sur tous les organes de la plante. Cette étude a été conduite dans le but d'évaluer et de proposer des fongicides de synthèse et un fongicide biologique efficaces contre *Colletotrichum gloeosporioides* et *Pestalotia heterocornis*. L'étude a été réalisée *in vitro* sur la croissance de ces champignons et en serre sur le contrôle de l'antracnose par l'aspersion foliaire des fongicides sur des jeunes feuilles préalablement inoculées avec l'agent pathogène. Cette étude a permis de confirmer l'efficacité *in vitro* du Carbendazime à 1 ppm et du Prochloraze à 10 ppm contre *C. gloeosporioides* et *P. heterocornis*, les pathogènes fongiques les plus disséminés dans les vergers d'anacarde de Côte d'Ivoire. Le fongicide biologique NECO s'est également montré efficace *in vitro* en inhibant totalement la croissance mycélienne de *C. gloeosporioides* et de *P. heterocornis* respectivement à la concentration de 300 ppm et de 200 ppm. Le Propiconazole s'est montré le moins efficace. Carbendazime et NECO ont été les meilleurs fongicides contre *C. gloeosporioides*, en inhibant totalement l'expression des symptômes de l'antracnose en serre, aux concentrations de 50 et 3000 ppm, respectivement. Ces fongicides peuvent constituer une base pour la lutte intégrée contre l'antracnose de l'anacardier.

**Mots clés :** *Anacardium occidentale*, antracnose, contrôle, fongicide de synthèse, NECO.

## ABSTRACT

CHEMICAL AND BIOLOGICAL CONTROL OF CASHEW (*ANACARDIUM OCCIDENTALE* L.) ANTHRACNOSE IN CÔTE D'IVOIRE

Anthracnose, a fungal disease, causes significant declines in yields of cashew trees (*Anacardium occidentale* L.) in some producing countries. In Côte d'Ivoire, anthracnose is one of the most common diseases in the cashew tree orchard and attacks all organs of the plant. This study was conducted with the aim of selecting and proposing integrated control methods through the use of synthetic fungicides and an effective biological fungicide against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Pestalotia heterocornis*. The study was carried out *in vitro* and in a greenhouse by foliar spraying of fungicides on young leaves previously inoculated with the pathogenic agent. This study confirmed the *in vitro* efficacy of Carbendazim

at 1 ppm and Prochloraz at 10 ppm against *C. gloeosporioides* and *P. heterocornis*, the most common fungal pathogens found in cashew orchards of Côte d'Ivoire. NECO, a Biological Fungicide was also effective by completely inhibiting the *in vitro* growth of *C. gloeosporioides* at the concentration of 300 ppm and *P. heterocornis* at 200 ppm. Propiconazole was less effective than the other fungicides. Carbendazim and NECO were the best fungicides against *C. gloeosporioides*, completely stopping the expression of symptoms of anthracnose in the greenhouse, at concentrations of 50 and 3000 ppm, respectively. These fungicides provide a basis for integrated control of cashew anthracnose.

**Key words :** *Anacardium occidentale*, anthracnose, control, synthetic fungicide, NECO.

## INTRODUCTION

L'anacardier (*Anacardium occidentale* L.) est une plante tropicale originaire du Brésil (Coutinho et al., 2016). La noix de cajou, son principal produit valorisé, constitue une importante source de revenus pour les populations du Nord de la Côte d'Ivoire, région dont les conditions sont favorables à la production des fruits de bonne qualité (Sinan et Abou, 2016). En Côte d'Ivoire, la culture de l'anacardier a pris de l'ampleur grâce à son importance économique et sociale, encourageant ainsi les populations des régions favorables à étendre les superficies exploitées et également celles des régions pré forestières à s'y intéresser (CNRA, 2011). Cette augmentation de l'aire de culture de la noix de cajou a permis au pays de se hisser parmi les premiers pays producteurs de la noix de cajou ces dernières années, avec une production annuelle qui fluctue entre 600 000 et 700 000 tonnes selon le PNRA (2016). Cependant, les rendements demeurent faibles et se situent entre 350 et 500 kg/ha (CNRA, 2011). Cette faiblesse des rendements est en partie due aux effets néfastes des ravageurs et des maladies. En Côte d'Ivoire, l'anthracnose, due à *Colletotrichum gloeosporioides*, est l'une des contraintes majeures à l'expression des potentialités réelles des anacardiers (Silué et al., 2017a). Cette pathologie sévit dans la plupart des zones de production de la noix de cajou à travers le monde (Uaciquete et al., 2013 ; Afouda et al., 2013 ; Wonni et al., 2017). Le champignon infecte les feuilles, les fleurs et les fruits, diminuant ainsi les rendements des vergers et la qualité des fruits. Pour contribuer à l'amélioration des rendements et de la qualité des fruits de l'anacardier, l'élaboration et la mise en place des méthodes efficaces de lutte est nécessaire.

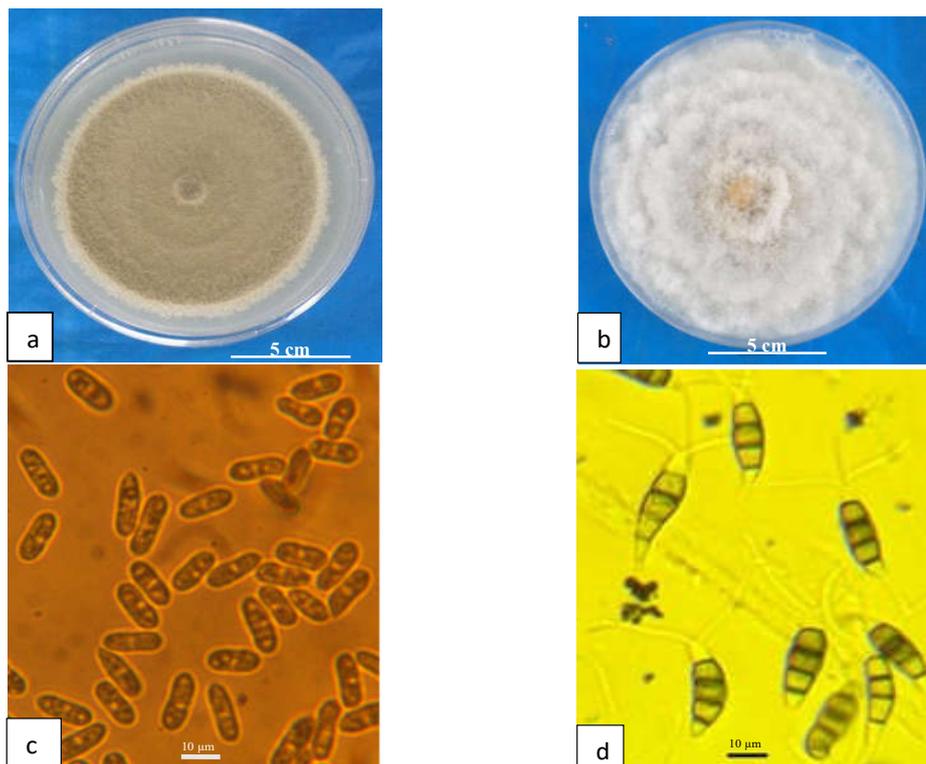
L'efficacité des traitements phytosanitaires nécessite l'utilisation des fongicides efficaces contre les pathogènes responsables des maladies, mais aussi et surtout à des doses appropriées. Ainsi, des fongicides de synthèse, appartenant à différentes familles chimiques et un fongicide d'origine biologique, ont été testés sur la croissance mycélienne, *in vitro*, de *C. gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis* puis sur le développement de l'anthracnose due à *C. gloeosporioides* en conditions semi-contrôlées (serre).

## MATERIEL ET METHODES

### ACTION DES FONGICIDES *IN VITRO*

#### Matériel fongique

Le matériel fongique est constitué de deux souches fongiques dont *Colletotrichum gloeosporioides* et *Pestalotia heterocornis* qui sont les deux espèces de pathogènes fongiques fréquemment isolées sur les feuilles d'anacardier en Côte d'Ivoire (Silué et al., 2017a). Ces souches ont été choisies grâce à leur capacité à induire les symptômes de l'anthracnose sur les feuilles d'anacardier. Ce sont les souches SEKA76 de *C. gloeosporioides* et P133 de *P. heterocornis* dont les caractéristiques morphologiques sont présentées à la figure 1. La souche SEKA76 a été isolée sur des feuilles symptomatiques provenant de Séguéla précisément de la localité de Kani et la souche P133 sur des feuilles provenant de Korhogo et plus précisément de la localité de Fapaha et présentant des nécroses dues à *C. gloeosporioides*.



**Figure 1 :** Caractéristiques morphologiques des souches de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis*.

*Morphological characteristics of Colletotrichum gloeosporioides and Pestalotia heterocornis strains.*

Aspect macroscopique du mycélium en boîte de Pétri (a) et microscopique des spores (c) de *C. gloeosporioides* ; Aspect macroscopique du mycélium (b) et microscopique des spores (d) de *P. heterocornis*.

*Macroscopic appearance of mycelium in Petri dish (a) and microscopic spores (c) of C. gloeosporioides; Macroscopic appearance of mycelium (b) and microscopic spores (d) of P. heterocornis.*

### Caractéristiques des fongicides utilisés

Trois fongicides de synthèse, le Carhino 50 WP, Mirage 450 EC et Référence 250 EC dont les matières actives sont respectivement le Carbendazime, le Prochloraze et le Propiconazole ont été évaluées au cours des tests *in vitro* et *in vivo*. Ces fongicides

systémiques sont capables de réduire la croissance *in vitro* du mycélium d'un grand nombre de champignons dont *Colletotrichum gloeosporioides* et *Pestalotia heterocornis* (Silué *et al.*, 2017b ; Filoda, 2008). Ces fongicides ont été utilisés en comparaison avec le NECO, un fongicide d'origine biologique. Les caractéristiques chimiques de ces fongicides sont présentées dans le tableau 1.

**Tableau 1 :** Caractéristiques des fongicides testés.

*Characteristics of the fungicides tested.*

Matière active	Nom commercial	Famille chimique	Type de formulation
Carbendazime	Carhino	Benzimidazole	50 WP
Prochloraze	Mirage	Imidazole	450 EC
Propiconazole	Référence	Triazole	250 EC
Huile essentielle de <i>Ocimum gratissimum</i>	NECO®	Biopesticide	50 EC

## Effet des fongicides sur la croissance du mycélium

Tous les fongicides utilisés se présentent sous forme concentrée. Ainsi pour chacun d'eux, une solution mère de 100 ml à 1000 ppm a été préparée, en les solubilisant dans l'eau distillée stérilisée. Des milieux de culture PDA (Potato Dextrose Agar) ont été préparés par autoclavage à la température de 121 °C, sous une pression de 1 bar pendant 30 minutes. Après refroidissement du milieu, à une température de 45 °C, les fongicides, à partir des solutions mères, ont été incorporés au milieu PDA afin d'obtenir les concentrations de 0,1 ; 1 ; 5 ; 10 ; 25 et 50 ppm. Le fongicide biologique NECO a été incorporé aux concentrations de 100, 200, 300, 400, 500 et 1000 ppm. Les milieux PDA additionnés de fongicides ont été homogénéisés et distribués dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, à raison de 18 ml par boîte. A l'aide d'un emporte-pièce, des rondelles mycéliennes de 7 mm de diamètre ont été prélevées sur des cultures âgées de 7 jours et déposées au centre des boîtes de Pétri contenant le mélange fongicide-PDA. Les cultures ont été incubées dans une chambre de culture à la température ambiante de 25 ± 2 °C, à une photopériode de 12 heures. Pour chacun des traitements, cinq boîtes de Pétri ont été utilisées et l'expérience a été répétée 3 fois. Un témoin sans fongicide a été réalisé dans les mêmes conditions de culture.

La croissance radiale du mycélium des colonies fongiques a été évaluée tous les trois jours, jusqu'au recouvrement total de la surface du milieu de culture dans la boîte de Pétri témoin, soit quinze jours après la mise en culture. Les mesures de la croissance radiale du mycélium ont été effectuées selon deux droites perpendiculaires tracées au bas de chaque boîte de Pétri et qui se coupent en un point au milieu du disque mycélien. L'effet des fongicides sur la croissance du champignon a été déterminé à partir du taux d'inhibition (Ic) de la croissance mycélienne calculé par la formule suivante (Hmouni et al., 1996) :

$$Ic = \frac{D0 - Dc}{D0} \times 100$$

avec D0 le diamètre du témoin sans fongicide et Dc le diamètre de croissance du champignon à une concentration (c) du fongicide.

A partir de l'équation de régression linéaire, entre les logarithmes décimaux des concentrations des fongicides et les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne, transformés en valeurs probit, les concentrations réduisant 50 % (CI<sub>50</sub>) de la croissance mycélienne ont été déterminées.

Après avoir calculé les CI<sub>50</sub>, les fongicides et les souches SEKA76 de *Colletotrichum gloeosporioides* et P133 de *Pestalotia heterocornis* ont été classés selon l'échelle suivante (Edgington et al., 1971) :

CI<sub>50</sub> < 1 ppm, fongicide très efficace et souche très sensible ;

1 < CI<sub>50</sub> < 10 ppm, fongicide modérément efficace et souche modérément sensible ;

10 < CI<sub>50</sub> < 50 ppm, fongicide peu efficace et souche faiblement sensible ;

CI<sub>50</sub> > 50 ppm, fongicide inefficace et souche insensible.

Après avoir évalué les effets de ces fongicides sur la croissance mycélienne *in vitro*, leur efficacité en serre a été étudiée. Au cours de cette étude, trois doses par fongicide ont été utilisées. Il s'agit de la moitié et le double de la dose homologuée et la dose homologuée par la firme phytosanitaire elle-même sur d'autres cultures.

## ACTION DU FONGICIDE *IN VIVO*

### Matériel végétal

Les jeunes plants d'anacardiens âgés d'un mois ont été utilisés pour cette étude. Ces plants ont un nombre de feuilles qui varie entre quatre et six. Les plants ont été placés dans une micro-serre faite avec du plastique blanc en polyéthylène et arrosés régulièrement avec de l'eau de robinet pendant quarante-huit heures afin de maintenir l'humidité relative élevée (95 - 100 %).

### Préparation de l'inoculum

La suspension de spores a été obtenue, en ajoutant à la culture fongique âgée de 28 jours, 5 ml d'eau stérile et en raclant, à l'aide d'une spatule métallique stérilisée, la surface. La concentration en spores est estimée à l'aide d'un hématimètre de Malassez. Celle-ci est ajustée à 10<sup>6</sup> spores/ml. Enfin, un millilitre (1 ml) d'une solution de glucose et d'agar 1 % est ajouté à

la suspension de spores, afin de faciliter leur adhésion à la feuille inoculée.

### Inoculation et traitement des plantes

Les plantes ont été inoculées par aspersion avec 1 ml de l'inoculum fongique par feuille et placées pendant 48 heures sous une micro-serre en plastique blanc en polyéthylène permettant ainsi le maintien de l'humidité relative élevée (95-100 %) pour faciliter la germination des spores. Après les 48 heures d'incubation, les plantes ont été traitées avec les fongicides.

### Paramètres mesurés et suivi de l'essai

Les plantes sont régulièrement suivies et un mois après chaque traitement, une évaluation a été faite. La capacité des fongicides à protéger les plantes ou à réduire les infections due aux pathogènes a été évaluée. Cette évaluation s'est faite à travers l'incidence et l'indice de sévérité de la maladie.

#### Evaluation de l'incidence

Le taux d'infection de la maladie a été évalué à travers le rapport entre le nombre de feuilles présentant des symptômes de la maladie et le nombre total de feuilles inoculées.

#### Evaluation de la sévérité

La sévérité de la maladie, sur les plantes inoculées, a été faite selon une échelle visuelle de notation allant de 0 à 9 (Groth *et al.*, 1999 ; Cardoso *et al.*, 2004), avec :

- 0 = Absence des symptômes ;
- 1 = 1 - 5 % de la surface foliaire infectée ;
- 3 = 6 - 10 % de la surface foliaire infectée ;
- 5 = 11 - 25 % de la surface foliaire infectée ;
- 7 = 26 - 50 % de la surface foliaire infectée ;
- 9 > 50 % de la surface foliaire infectée.

L'indice de sévérité de la maladie a été déterminé, pour chaque traitement, à partir de l'équation suivante (Kranz, 1988) :

$$I_s = \frac{\sum(x_i * n_i)}{NZ} \times 100$$

Avec  $x_i$  : la note  $i$  de la maladie ;  $n_i$  : le nombre de plantes ayant la note  $i$  ;  $N$  : le nombre total de plantes évaluées et  $Z$  : la note la plus élevée.

### Analyses statistiques

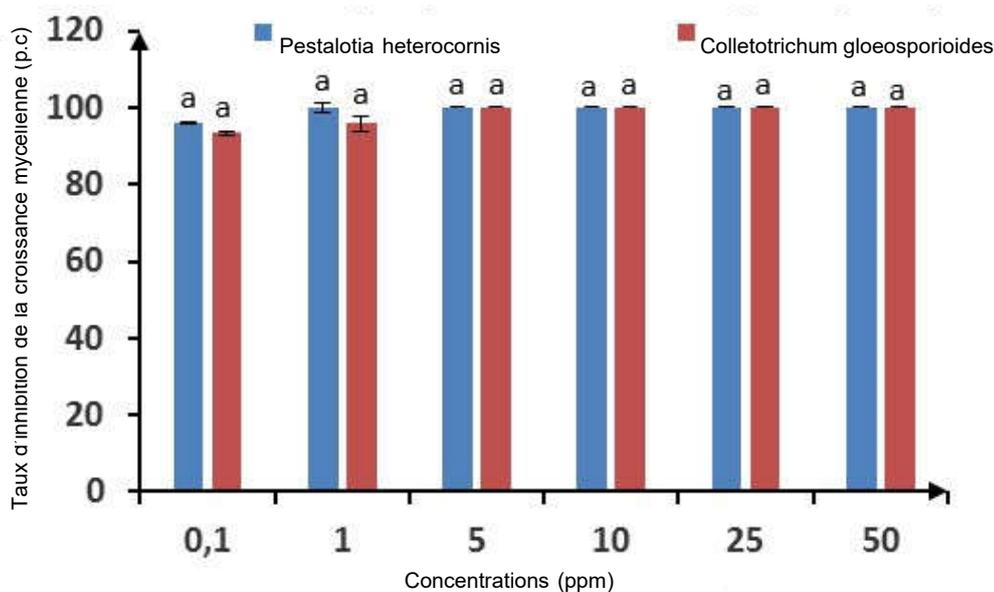
Le traitement des données obtenues s'est fait à l'aide du logiciel Statistica version 7.1 et a porté sur l'analyse de la variance (ANOVA I et II) entre les différentes moyennes. Lorsqu'une différence significative a été observée, le test statistique de Newman-Keuls, au seuil de 5 %, a été utilisé pour la séparation des moyennes.

## RESULTATS

### ACTION DES FONGICIDES *IN VITRO* SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE.

#### Effet des concentrations du Prochloraze sur la croissance mycélienne des souches de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis*

Toutes les concentrations utilisées ont eu des effets significatifs sur la croissance des deux pathogènes. A la concentration de 0,1 ppm, les taux d'inhibition ont été de 93,38 et 95,94 %, pour *Colletotrichum gloeosporioides* et *Pestalotia heterocornis*, respectivement (Figure 2). Ces chiffres sont statistiquement identiques selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. Les taux d'inhibition sont de 96,05 et de 97,56 %, pour *C. gloeosporioides*, aux concentrations de 1 et 5 ppm pendant que la croissance est totalement inhibée (100 %) pour *P. heterocornis*, avec ces mêmes concentrations. Avec la concentration de 10 ppm et au-delà, le Prochloraze agit de façon similaire sur les deux souches, en inhibant totalement leur croissance. Aucune reprise de la croissance du pathogène n'a été observée lorsque les pastilles de mycélium ont été remises sur des nouveaux milieux de culture PDA ne contenant aucun fongicide. La concentration minimale inhibitrice de *C. gloeosporioides* avec le Prochloraze est de 10 ppm pendant qu'elle est de 1 ppm chez *P. heterocornis*.



**Figure 2** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis* en fonction des concentrations du Prochloraze.

*Inhibition rate of mycelium growth of Colletotrichum gloeosporioides and Pestalotia heterocornis depending on Prochloraze concentrations.*

Les barres d'erreur surmontées des mêmes lettres sont statistiquement identiques selon le test de Newman-Keuls au seuil  $\alpha = 0,05$

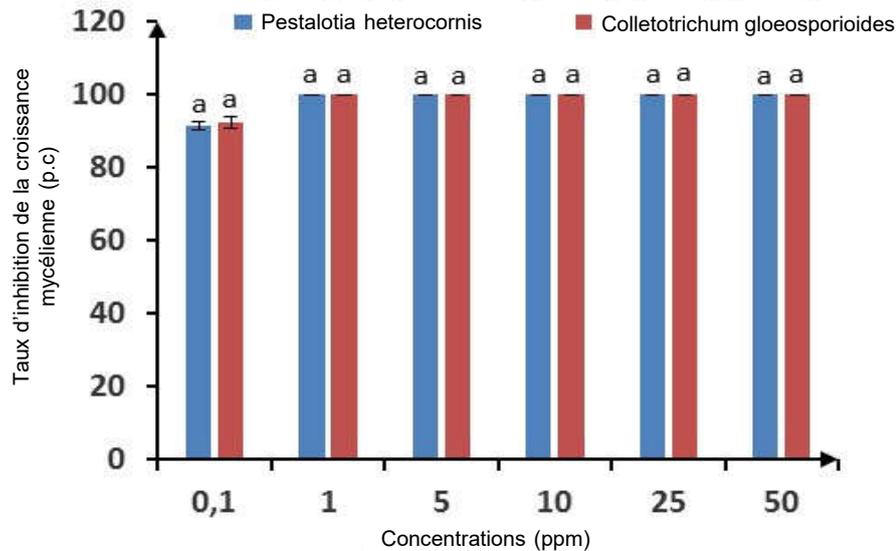
*Error bars topped by the same letters are statistically identical according to the Newman-Keuls test at the threshold  $\alpha = 0.05$*

### **Effet des concentrations du Carbendazime sur la croissance mycélienne des souches de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis***

Le fongicide a montré un effet similaire sur les deux souches. Pour la plus petite concentration utilisée (0,1 ppm), les taux d'inhibition ont été de 91,45 % pour la souche de *Pestalotia heterocornis* et de 92,31 % pour la souche de *Colletotrichum gloeosporioides* (Figure 3). Ces taux sont statistiquement identiques selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. A partir de la concentration de 1 ppm avec ce fongicide, aucune croissance mycélienne des deux

pathogènes n'a été observée. Avec les concentrations 1, 5, 10, 25 et 50 ppm, les taux d'inhibition ont été de 100 % pour les deux types de pathogènes. La concentration minimale inhibitrice avec le Carbendazime a été de 1 ppm pour *Colletotrichum gloeosporioides* et *Pestalotia heterocornis*. Aucune reprise de la croissance du mycélium n'a été observée avec les disques mycéliens issus de ces concentrations lorsqu'ils ont été remis sur milieu de culture.

La concentration de Prochloraze et de Carbendazime qui inhibe 50 % la croissance mycélienne des deux pathogènes est inférieur 0,1 ppm (Tableau 2). Ces fongicides ont favorisé, à 1 ppm, un taux de réduction de la croissance mycélienne supérieur à 50 %.



**Figure 3 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis* en fonction des concentrations du Carbendazime.

*Inhibition rate of mycelium growth of Colletotrichum gloeosporioides and Pestalotia heterocornis depending on Carbendazime concentrations.*

Les barres d'erreur surmontées des mêmes lettres sont statistiquement identiques selon le test de Newman-Keuls au seuil  $\alpha = 0.05$ .

Error bars topped by the same letters are statistically identical according to the Newman-Keuls test at the threshold  $\alpha = 0.05$

**Tableau 2 :** Concentrations des fongicides qui inhibent de 50 %, la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis*.

*Fungicides concentrations that inhibit 50 % of the mycelial growth of Colletotrichum gloeosporioides and Pestalotia heterocornis.*

Fongicides	CI <sub>50</sub> (ppm)	
	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Pestalotia heterocornis</i>
Prochloraze	0,08	0,08
Carbendazime	0,08	0,08
Propiconazole	4,2	3,21
NECO®	135,4	115,2

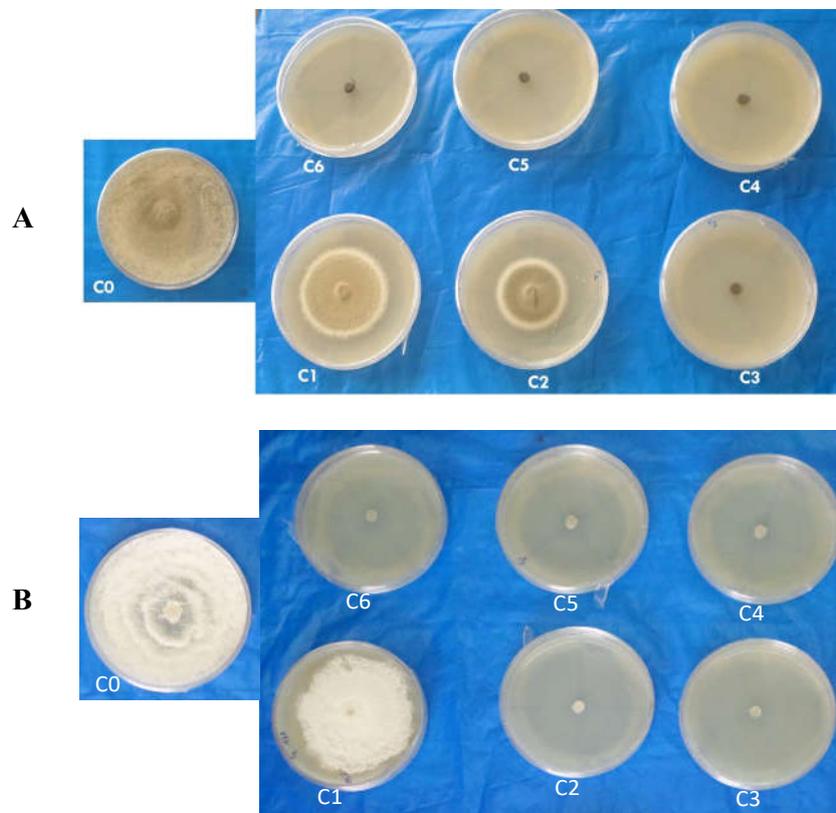
**Effet des concentrations du NECO sur la croissance mycélienne des souches de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis* et test de fongitoxicité**

Tout comme les fongicides de synthèse, le fongicide biologique NECO a réduit significativement la croissance des deux champignons. La sensibilité des pathogènes n'est pas la même avec les deux premières concentrations du fongicide. En effet, avec la concentration de 100 ppm, *Pestalotia heterocornis* a été plus sensible, avec un taux de réduction de 67,52 %, comparativement à *Colletotrichum gloeosporioides* dont le taux de

réduction est de 45,30 %. (Figure 4). Ces deux valeurs sont significativement différentes au seuil de 5 % du test de Newman-Keuls. Avec la concentration de 200 ppm, la croissance de *P. heterocornis* est totalement inhibée (100 %) alors que celle de *C. gloeosporioides* est réduite à 75,64 % (Figure 5). Ces taux de réduction sont statistiquement différents selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. Les concentrations de 300, 400, 500 et 1000 ppm ont totalement inhibée la croissance des deux champignons avec des taux d'inhibition de 100 %. Les concentrations qui réduisent de 50 % la croissance mycélienne sont 135,4 ppm pour *C. gloeosporioides* et de 115,2 ppm pour *P. heterocornis*. Ainsi *C gloeosporioides* paraît plus

résistant au NECO que *P. heterocornis*. Les disques mycéliens issus de ces quatre

concentrations n'ont pas eu de reprise de croissance sur les milieux PDA.

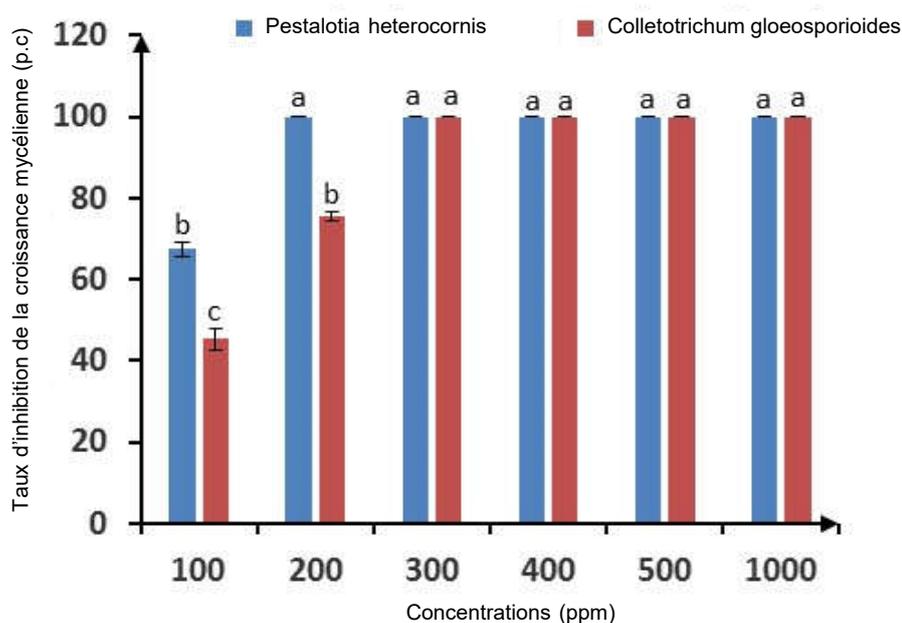


**Figure 4** : Pouvoir inhibiteur du fongicide biologique NECO sur *Colletotrichum gloeosporioides* et sur *Pestalotia heterocornis*.

*Inhibitory potency of the biological fungicide NECO on Colletotrichum gloeosporioides and Pestalotia heterocornis.*

A : action sur *Colletotrichum gloeosporioides* ; B : action sur *Pestalotia heterocornis*

A : action on *Colletotrichum gloeosporioides* ; B : action on *Pestalotia heterocornis*



**Figure 5 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis* en fonction des concentrations du fongicide biologique NECO.

*Inhibition rate of mycelium growth of Colletotrichum gloeosporioides and Pestalotia heterocornis depending on NECO concentrations.*

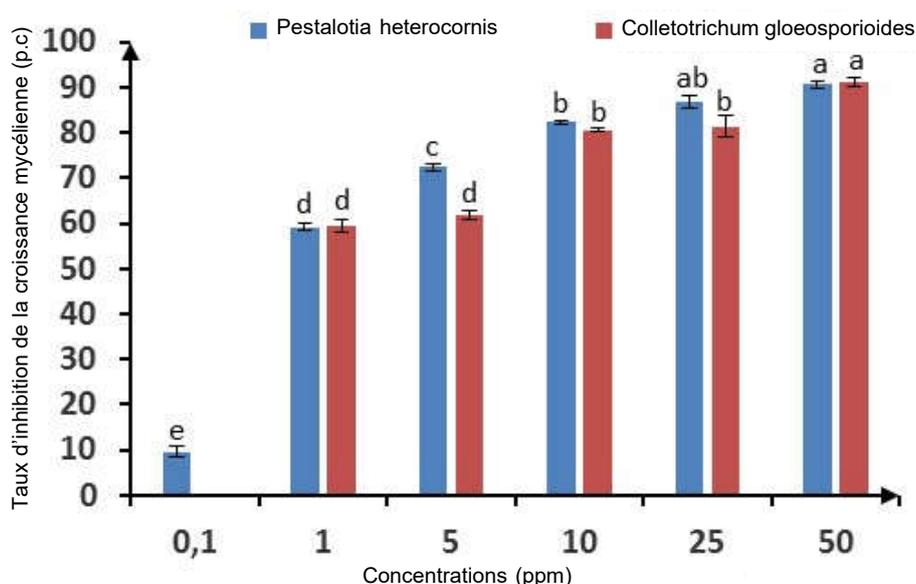
Les barres d'erreur surmontées des mêmes lettres sont statistiquement identiques selon le test de Newman-Keuls au seuil  $\alpha = 0,05$

*Error bars topped by the same letters are statistically identical according to the Newman-Keuls test at the threshold  $\alpha = 0.05$*

### Effet des concentrations du Propiconazole sur les souches de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis*

Avec le Propiconazole, aucune des concentrations utilisées n'a totalement inhibée la croissance mycélienne des deux pathogènes. Les taux d'inhibition ont varié de 0 à 91,24 %, avec *Colletotrichum gloeosporioides* et de 9,62 à 90,60 %, pour *Pestalotia heterocornis* (Figure 6). L'analyse de cette figure montre que la souche de *P. heterocornis* est plus sensible au Propiconazole que la souche de *C.*

*gloeosporioides*. Ainsi, avec la concentration de 0,1 ppm, le taux d'inhibition a été de 9,62 %, chez *P. heterocornis* pendant que chez la souche de *C. gloeosporioides*, aucune inhibition de la croissance n'a été notée (0 %). A 5 ppm, le taux d'inhibition a été de 72,44 % chez *P. heterocornis* pendant qu'il est de 61,97 % chez *C. gloeosporioides*. Ces chiffres sont significativement différents au seuil de 5 % du test de Newman-Keuls. La concentration qui inhibe 50 % de la croissance mycélienne est de 4,2 ppm pour *C. gloeosporioides* et de 3,21 ppm pour *P. heterocornis*.



**Figure 6** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis* en fonction des concentrations du Propiconazole.

*Inhibition rate of mycelium growth of Colletotrichum gloeosporioides and Pestalotia heterocornis depending on Propiconazole concentrations.*

Les barres surmontées des mêmes lettres sont statistiquement identiques selon le test de Newman-Keuls au seuil  $\alpha = 0,05$ .

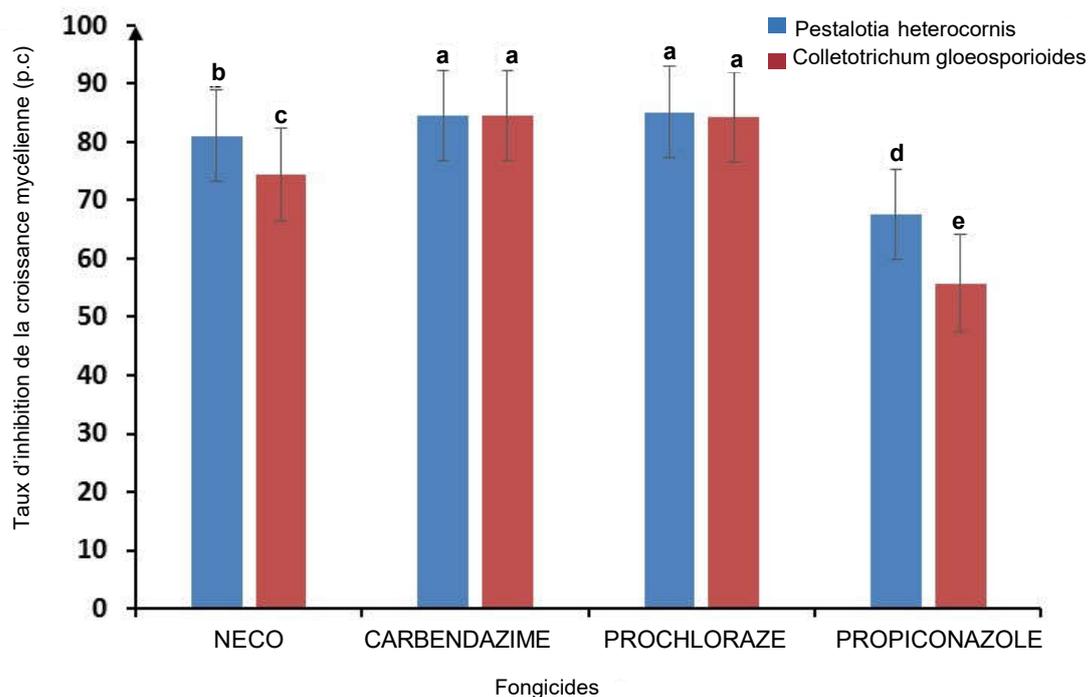
Error sbars topped by the same letters are statistically identical according to the Newman-Keuls test at the threshold  $\alpha = 0.05$ .

### Effet des quatre fongicides sur les souches de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis*

La capacité de chacun des fongicides à inhiber la croissance *in vitro* des deux champignons a été étudiée. D'une manière générale, les produits ont été très efficaces en inhibant la croissance mycélienne des deux pathogènes (Figure 7). Cependant, le Carbendazime et le Prochloraze ont eu des effets similaires sur la croissance des deux pathogènes. Carbendazime a eu les taux d'inhibition de 84,49 et 84,62 %, respectivement pour *Pestalotia heterocornis* et *Colletotrichum gloeosporioides*. Le Prochloraze a inhibé la croissance des champignons avec les taux de 85,15 et 84,19 % respectivement pour *P. heterocornis* et *C. gloeosporioides*. Les taux d'inhibition des deux pathogènes obtenus avec les deux fongicides ne présentent aucune

différence significative selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. Avec le fongicide biologique NECO, les taux d'inhibition sont de 81,07 % pour *P. heterocornis* et 74,42 % pour *C. gloeosporioides*. Ces valeurs sont statistiquement différentes, au seuil de 5 % du test de Newman-Keuls. Le Propiconazole a inhibé de 67,55 % la croissance mycélienne de *P. heterocornis* et de 55,80 % celle de *C. gloeosporioides*. Ces taux sont statistiquement différents selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %.

L'effet de ces quatre fongicides sur la croissance mycélienne *in vitro* des deux pathogènes les plus représentatifs dans le verger anacardier de Côte d'Ivoire montre que *C. gloeosporioides* est plus résistant aux fongicides comparativement à *P. heterocornis*. Ainsi, la souche de *C. gloeosporioides* a été utilisée pour l'évaluation des fongicides en condition semi-contrôlées (sous serre).



**Figure 7 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis* en fonction des fongicides 15 jours après culture.

*Inhibition rate of in vitro mycelium growth of Colletotrichum gloeosporioides and Pestalotia heterocornis depending on the fungicides 15 days after culture.*

Les barres d'erreur surmontées des mêmes lettres sont statistiquement identiques selon le test de Newman-Keuls au seuil  $\alpha = 0,05$ .

*Error bars topped by the same letters are statistically identical according to the Newman-Keuls test at the threshold  $\alpha = 0.05$ .*

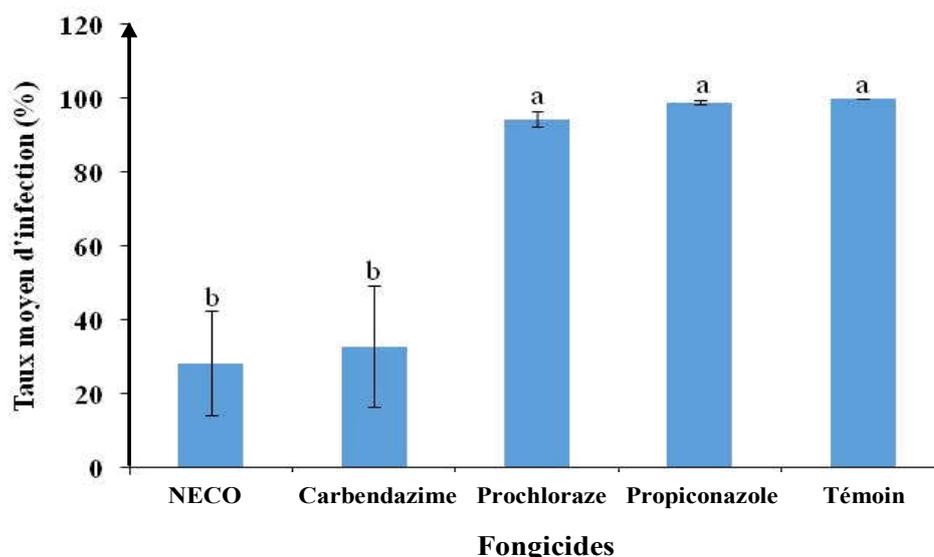
**ACTION *IN VIVO* DU NECO, DU CARBENDAZIME, DU PROCHLORAZE ET DU PROPICONAZOLE SUR LE DÉVELOPPEMENT DE L'ANTHRACNOSE DUE À COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES**

### **Effets des fongicides sur le taux d'infection des jeunes plants d'anacardier**

Les plants traités avec ces produits ont eu des taux d'infection variables selon le produit utilisé. L'analyse de la variance montre une différence significative, au seuil de 5 % du test de Newman-Keuls entre les différents traitements. Le classement des moyennes des taux d'infection indique deux groupes de fongicides. Le premier groupe est constitué du NECO et du Carbendazime qui ont des taux d'infection de

28,33 et 32,78 %, respectivement. Le Prochloraze et le Propiconazole forment le deuxième groupe de fongicides qui laisse apparaître les taux d'infection les plus élevés. Ces taux sont de 94,44 et 98,83 %, respectivement pour le Prochloraze et le Propiconazole et ne présentent pas de différence significative avec celui du témoin qui est de 100 % (Figure 8).

Les fongicides et leurs concentrations ont révélés des effets significatifs sur l'expression des symptômes de l'antracnose. En effet, les taux d'infection sont nuls avec le fongicide biologique NECO aux concentrations de 2000, 4000 ppm et le fongicide de synthèse Carbendazime aux concentrations de 50, 100 ppm. Avec le Propiconazole, la concentration la plus élevée (100 ppm) n'a pas été efficace *in vivo* pour inhiber totalement le développement de la maladie.



**Figure 8 :** Taux moyen d'infection des plantes d'anacardier traitées aux fongicides quarante-huit heures après inoculation avec *Colletotrichum gloeosporioides*.

Infection mean rate of cashew plants treated with fungicides 48 hours after inoculation with *Colletotrichum gloeosporioides*.

Les barres d'erreur surmontées des mêmes lettres sont statistiquement identiques selon le test de Newman-Keuls au seuil  $\alpha = 0,05$ .

Error bars topped by the same letters are statistically identical according to the Newman-Keuls test at the threshold  $\alpha = 0.05$ .

**Tableau 3 :** Taux d'infection des plantes inoculées avec la souche de *Colletotrichum gloeosporioides* puis traitées avec les fongicides à différentes concentrations.

Infection rate of plants inoculated with the *Colletotrichum gloeosporioides* and treated with fungicides at different concentrations.

Concentrations	Taux d'infection en fonction des différents produits			
	Carbendazime	NECO®	Propiconazole	Prochloraze
Témoin	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a
C1	98,33 ± 0,88 a	85,00 ± 2,88 c	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a
C2	0,00 ± 0,00 d	0,00 ± 0,00 d	99,33 ± 0,66 a	93,33 ± 4,40 ab
C3	0,00 ± 0,00 d	0,00 ± 0,00 d	97,16 ± 1,17 a	90,00 ± 2,88 bc

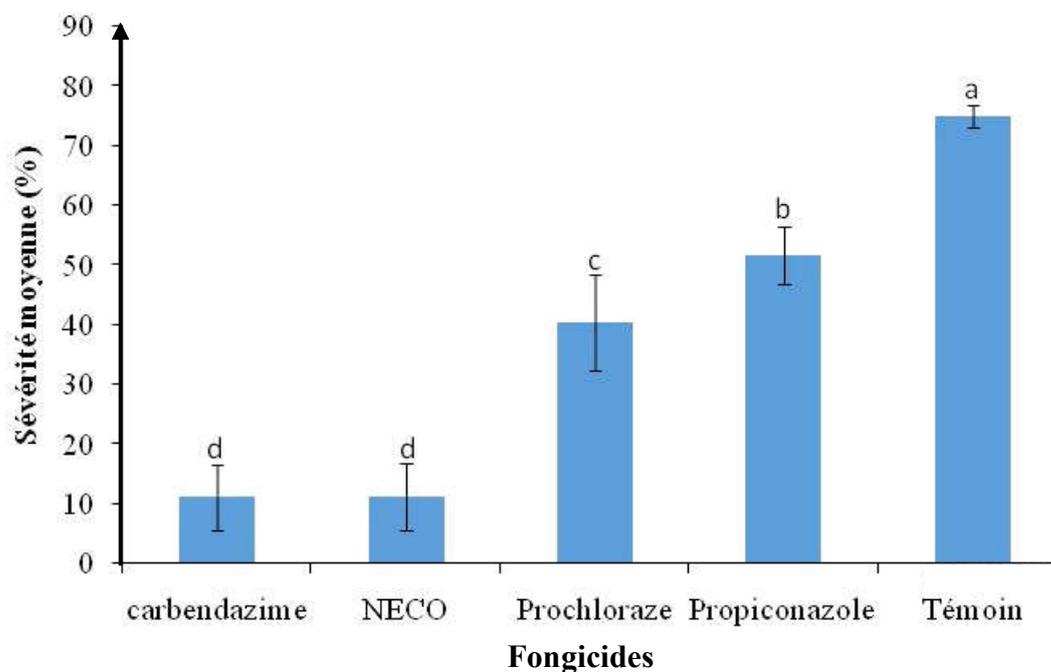
Les chiffres suivis de la même lettre ne présentent aucune différence statistique selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

Means followed by the same letter do not present any statistical difference according to the Newman-Keuls test at the 5% threshold.

### Effets des fongicides sur la sévérité de l'antracnose

Les fongicides utilisés réduisent significativement la sévérité de la maladie comparativement au témoin (Figure 9). L'analyse de la variance, à un critère de classification, du taux de sévérité de la maladie, a indiqué un effet fongicide significatif pour la réduction de l'intensité des symptômes. Les fongicides ont été alors classés en trois groupes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. Le Carbendazime et le NECO,

constituant le premier groupe, ont été plus efficaces sur l'expression des symptômes de la maladie, avec les sévérités moyennes de 10,99 et 11,08 % respectivement. Le Prochloraze, avec une sévérité moyenne de 40,24 %, s'est montré plus efficace que le Propiconazole dont la sévérité moyenne est 51,44 %. L'analyse statistique révèle une différence significative entre ces deux valeurs faisant ainsi du Prochloraze et du Propiconazole les deuxième et troisième groupes respectivement.



**Figure 9** : Sévérité moyenne des plantes d'anacardier traitées aux fongicides quarante-huit heures après inoculation avec *Colletotrichum gloeosporioides*.

*Mean severity of cashew plants treated with fungicides 48 hours after inoculation with Colletotrichum gloeosporioides.*

Les barres d'erreur surmontées des mêmes lettres sont statistiquement identiques selon le test de Newman-Keuls au seuil  $\alpha = 0,05$ .

*Error bars topped by the same letters are statistically identical according to the Newman-Keuls test at the threshold  $\alpha = 0.05$ .*

L'analyse de la variance, à deux critères de classification, montre des différences significatives entre les fongicides et les concentrations utilisées (Tableau 4). Le Carbendazime et le NECO ont réduit, significativement, les indices de sévérité de la maladie à des degrés variables. En effet, aux concentrations de 1000 ppm, pour le NECO et 25 ppm pour le Carbendazime, la sévérité de la maladie a été réduite de plus de la moitié, comparativement au témoin. Ces fongicides ont été efficaces, avec un taux de sévérité nul aux concentrations de 2000, 4000 ppm pour le NECO et 50, 100 ppm pour le Carbendazime. La concentration de 100 ppm n'a pas été efficace pour annuler la sévérité de la maladie avec le Prochloraze et le Propiconazole. Cependant, à 100 ppm, ces deux fongicides ont considé-

ablement réduit la sévérité de l'antracnose. Cette sévérité est de 21,35 % avec le Prochloraze et de 74,47 % pour le témoin, soit un taux de réduction de 53,12 %. Quant au Propiconazole, sa sévérité a été de 20,34 % comparativement au témoin dont la sévérité est 75,13 % soit une différence de 54,79 % de la sévérité.

Ces résultats démontrent que le traitement des plantes avec 2000 ppm du NECO et 50 ppm du Carbendazime est efficace contre le développement de l'antracnose de l'anacardier. Les fongicides Prochloraze et Propiconazole peuvent également être utilisés pour lutter efficacement contre l'antracnose des anacardiens, mais à des concentrations supérieures à 100 ppm.

**Tableau 4** : Sévérité moyenne de l'antracnose des plantes infectées et traitées aux fongicides à différentes concentrations.

*Mean anthracnose severity of infected plants and treated with fungicides at different concentrations.*

Concentrations	Sévérité en fonction des concentrations des produits			
	Carbendazime	NECO®	Propiconazole	Prochloraze
Témoin	73,46 ± 3,84 a	73,42 ± 3,76 a	75,13 ± 4,47 a	74,47 ± 4,54 a
C1	32,98 ± 1,39 e	33,25 ± 0,43 e	73,77 ± 1,04 a	52,80 ± 1,33 c
C2	0,00 ± 0,00 g	0,00 ± 0,00 g	60,23 ± 0,64 b	46,55 ± 0,44 d
C3	0,00 ± 0,00 g	0,00 ± 0,00 g	20,34 ± 0,58 f	21,35 ± 0,71 f

Les chiffres suivis de la même lettre ne présentent aucune différence statistique selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %.

*Means followed by the same letter do not present any statistical difference according to the Newman-Keuls test at the 5 % threshold.*

## DISCUSSION

Cette étude a mis en évidence l'effet comparé de trois fongicides de synthèse et d'un fongicide biologique, d'une part, sur la croissance *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* et de *Pestalotia heterocornis* et d'autre part, sur le développement des symptômes de l'antracnose due à *C. gloeosporioides*. Tous les fongicides utilisés ont significativement réduit *in vitro* la croissance mycélienne de *C. gloeosporioides* et de *P. heterocornis*. Le Carbendazime et le Prochloraze ont été les plus efficaces sur la croissance mycélienne *in vitro* des champignons. La fongitoxicité de ces deux matières actives réside dans leur caractère systémique (Davides, 1986) qui permet des applications curatives efficaces en début d'infection. L'efficacité du Carbendazime serait due au fait que les Benzimidazoles, famille chimique à laquelle le fongicide appartient, agissent en dissolvant les structures subcellulaires par liaison aux molécules de tubuline en provoquant la disparition des microtubules dont l'activité est essentielle dans le transport des nutriments et la division cellulaire. Nos résultats sont en accord avec ceux de Duamkhanmanee (2008) et de Chand *et al.* (2013) qui ont montré l'efficacité du Carbendazime à réduire les infections de l'antracnose des mangues due à *C. gloeosporioides*. En effet, ces auteurs, en utilisant des fongicides de différentes familles chimiques, ont montré que le Carbendazime a été le meilleur fongicide à réduire les symptômes de l'antracnose au champ et a permis d'obtenir le meilleur rendement. Aussi, Kumari *et al.* (2017) ont indiqué que le Carbendazime, à faible

dose, inhibe totalement *in vitro* la croissance mycélienne de *C. gloeosporioides* et réduit les symptômes de l'antracnose sur la mangue, comparativement au Propiconazole, l'Oxychloride de cuivre, le Captan et le Mancozèbe.

Le Fongicide biologique NECO s'est montré aussi efficace que le Carbendazime et le Prochloraze à inhiber la croissance mycélienne *in vitro* des pathogènes. En serre, l'application de NECO a contribué au maintien de la sévérité de l'antracnose à des niveaux très bas, comparativement aux plantes témoins et à ceux obtenus avec le Propiconazole et le Prochloraze. Avec ce fongicide, le taux d'infection a été nul aux concentrations de 2000 et 4000 ppm. L'activité antifongique d'un biopesticide comme le NECO dépend aussi bien de sa composition en composés aromatiques que de leurs structures. Ainsi, le produit agirait directement sur le pathogène et sur les organes de propagation (Camara *et al.*, 2007). Cet effet antifongique du NECO serait dû à l'action des composés phénoliques tels que le thymol qui est le composé majoritaire de l'huile essentiel de *Ocimum gratissimum* à partir de laquelle le NECO a été formulé (Kassi *et al.*, 2014). Le thymol est reconnu toxique et aurait pour cible la membrane cytoplasmique et la paroi des microorganismes (Uribe *et al.*, 1985). Aussi, le camphre et le 1,8- cinéole deux des constituants du NECO inhiberaient la germination des organes de propagation ou d'infection et la croissance des pathogènes issus de ces organes (Ishikawa *et al.*, 1986).

L'efficacité du Propiconazole s'expliquerait par son action sur une enzyme appelée la 14 alpha-dèlmeéthylase au niveau des cellules du

champignon en empêchant la synthèse de l'ergostérol, un des principaux constituants des membranes cellulaires, spécifique des champignons. Ainsi, la perméabilité des membranes augmente et les cellules se désagrègent ce qui provoque la mort prématurée de l'agent pathogène. Selon nos résultats, le Propiconazole a été moins efficace que le Carbendazime et le Prochloraze. Ces résultats sont contraires à ceux de Gopinath *et al.* (2006) qui ont montré que le Propiconazole a été meilleur que le Carbendazime en ayant le meilleur taux d'inhibition de la croissance mycélienne *in vitro* de *Colletotrichum capsici*. *In vivo*, l'incidence de la maladie a significativement diminué avec le Propiconazole et au champ les meilleurs rendements ont été obtenus avec le Propiconazole que le Carbendazime.

## CONCLUSION

Tous les produits utilisés ont agi en fonction des concentrations utilisées. *In vitro*, *Pestalotia heterocornis* a été plus sensible aux fongicides que *Colletotrichum gloeosporioides*. Parmi les trois fongicides de synthèse utilisés, le Carbendazime a été le meilleur fongicide en inhibant totalement la croissance mycélienne des champignons *in vitro* et *in vivo* dans la lutte contre *C. gloeosporioides*, l'agent responsable de l'antracnose de l'anacardier en Côte d'Ivoire. Le fongicide biologique NECO a été aussi meilleur que le Carbendazime dans la lutte contre *C. gloeosporioides* en empêchant l'apparition des symptômes de l'antracnose aux doses de 2000 et 4000 ppm. Ainsi, NECO peut être utilisé comme moyen de lutte biologique ou dans un système de lutte intégrée avec le Carbendazime, le Prochloraze ou le Propiconazole.

## REFERENCES

- Afouda L. C. A., Zinsou V., Balogoun R. K., Onzo A. et Ahohuendo B. C., 2013. Inventaire des agents pathogènes de l'anacardier (*Anacardium occidentale* L.) au Bénin. BRAB. 73 : 13 - 19.
- Camara B., Kone D., Coffi K. C., Abo A. et Aké S., 2007. Activité antifongique des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum* L., de *Monodora myristica* (Gaaertn) Dunal et de deux produits de synthèse (Impulse et Folicur), sur la croissance mycélienne et la production de spore *in vitro* de *Deightonella torulosa* (Syd.) Ellis. Rev. Ivoir. Sci. Technol. 09 : 187 - 201.
- Cardoso J.E., Santos A. A., Rossetti A. G. and Vidal J. C., 2004. Relationship between incidence and severity of cashew gummosis in semiarid north-eastern Brazil. Plant Pathol. 53 (3) : 363 - 367.
- Chand G., Srivastava J. N., Kumar S. and Kumar S., 2013. Efficacy of different fungicide against anthracnose of mango (*Mangifera indica* L.) in Eastern Bihar. Internat. J. Agric. Sci., 9 (1) : 204 - 206.
- CNRA (Centre National de Recherche Agronomique), 2011. Amélioration variétale de l'anacardier en Côte d'Ivoire. Rapport final. Décembre 2011. 16 p.
- Coutinho I. B. L., Freire F. C. O., Lima J. S., Gonçalves F. J. T., Machado A. R., Silva A. M. S. and Cardoso J. E., 2016. Diversity of genus *Lasiodiplodia* associated with perennial tropical fruit plant in northeastern Brazil. Plant Pathol. 66 (1) : 90 - 104.
- Davides L.C., 1986. Benzimidazole fungicides: mechanism of action and biological impact. Annu. Rev. Phytopathol. 24 : 43 - 65.
- Duamkhanmanee R., 2008. Natural essential oils from lemon grass (*Cymbopogon citratus*) to control postharvest anthracnose of mango fruit. Int. J. Biotechnol. 10 (1) : 104 - 108.
- Edgington L. V., Khew K. L. and Barron G. L., 1971. Fongitoxic spectrum of benzimidazoles compounds. Phytopathol. 61 : 42 - 44.
- Filoda, G., 2008. Impact of some fungicides on mycelium growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. Pesticides. 3-4 : 109 - 116.
- Gopinath K., Radhakrishnan N. V. and Jayaraj J., 2006. Effect of Propiconazole and Difenconazole on the control of anthracnose of Chilli fruits caused by *Colletotrichum capsici*. Crop Prot. 25 (9) : 1024 - 1031.
- Groth J. V., Ozmon, E. A. and Busch R. H., 1999. Repeatability and relationship of incidence and severity measures of scab of wheat caused by *Fusarium graminearum* in inoculated nurseries. Plant Dis. 83 : 1033 - 1038.
- Hmouni, A., Hajlaoui M.R. and Mlaiki A., 1996. Resistance of *Botrytis cinerea* to benzimidazoles and dicarboximides in sheltered tomato crops in Tunisia. OEPP/EPPO Bull., 26 : 697 - 705.

- Ishikawa M., Shuto Y. and Watanabe H., 1986.  $\beta$  myrcene, a potent attractant component of pine wood for the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Agric. Biol. Chem.* 50: 1863 - 1866.
- Kassi F. M., Badou O. J., Tonzibo Z. F., Salah Z. Amari L. D. G. E. et Koné D., 2014. Action du fongicide naturel NECO contre la cercosporiose noire (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) chez le bananier plantain (AAB) en Côte d'Ivoire. *J. Appl. Biosci.* 75 : 6183 - 6191.
- Kranz J., 1988. Measuring plant disease. *In*: Kranz, J., Rotem, J. (eds.). *Experimental techniques in plant disease epidemiology*. Springer, Berlin : 35 - 50.
- Kumari P., Singh R. and Punia R., 2017. Evaluation of Fungicides and Botanicals against Mango (*Mangifera indica*) Anthracnose. *Current J. of Appl. Sci. and Technol.* 23 (3) : 1 - 6.
- Silué N., Soro S., Koné T., Abo K., Koné M. and Koné D., 2017a. Parasitical fungi in Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Orchard of Côte d'Ivoire. *Plant Pathol. J.* 16 : 82 - 88.
- Silué N., Abo K., Camara B., Soro S., Ouattara G. M., Tuo S., Koné M. and Koné D., 2017b. Effect of some Synthetic Fungicides on the *in vitro* Growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, Causative Agent of Cashew Tree Anthracnose in Côte d'Ivoire. *Asian J. Crop Sci.* 9 : 149 - 158.
- Sinan A. and Abou N. K., 2016. Impacts Socio-Economiques De La Culture De L'anacarde Dans La Sous-Prefecture d'Odienné (Côte d'Ivoire). *Eur. Sci J.*, 12 (32) : 369 - 383.
- Uaciquete A., L. Korstenb and Van Der Waals J. E., 2013. Epidemiology of cashew anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) in Mozambique. *Crop Prot.* 49: 66 - 72.
- Uribe S., Ramirez J. and Pena A., 1985. Effet of apinen on Yeast membrane functions. *J. of Bacteriology.* 161 (3) : 1195 - 1200.
- Wonni I., Sereme D., Ouedraogo I., Kassankagno A.I., Dao I., Ouedraogo L. and Nacro S., 2017. Diseases of Cashew Nut Plant (*Anacardium occidentale* L.) in Burkina Faso. *Advances in Plants & Agric. Resea.* 6 (3) : 1 - 8.