



Original Paper

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Efficacité *in vitro* et *in vivo* des extraits de plantes contre le mildiou (*Phytophthora infestans*) de la morelle noire

J. F. DJEUGAP^{1,2*}, D. A. FONTEM¹ et A. L. TAPONDJOU³

¹Laboratoire de Phytopathologie, Département de Protection des Végétaux, Faculté d'Agronomie et des Sciences Agricoles, Université de Dschang, B.P. 222 Dschang, Cameroun.

²Laboratoires de Pathologie forestière et de Biologie Moléculaire, Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes (IBIS), Faculté de Foresterie, de Géographie et de Géomatique (G1V 0A6), CEF, Université Laval, Québec, Canada.

³Laboratoire de Chimie Organique Appliquée, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Dschang, B.P. 67 Dschang, Cameroun.

*Auteur correspondant, E-mail : jdjeugapfovo@yahoo.fr; joseph.djeugap-fovo.1@ulaval.ca; Fax : (237) 33 45 15 66, BP 222 Dschang, Cameroun.

RESUME

La lutte contre les maladies des plantes par l'utilisation des fongicides de synthèse, lorsqu'ils sont appliqués sur les fruits et légumes pose le plus souvent de problèmes de toxicité aux consommateurs. La présente étude a pour objectif de tester l'efficacité *in vitro* et *in vivo* des extraits de plantes (substances naturelles) contre le mildiou de la morelle noire, un légume très consommé dans la sous-région Afrique centrale. L'évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes a été faite par la méthode de dispersion sur milieu gélosé. Les concentrations équivalentes pour l'inhibition de 50% et 90% de la croissance du pathogène (CE₅₀ et CE₉₀), les concentrations minimales inhibitrices (CMI), et les aires standardisées sous la courbe de progression de la maladie (ASSCPM) ont été utilisées pour évaluer l'efficacité des extraits. L'extrait à l'acétone des feuilles de *Syzygium aromaticum* a donné la CMI la plus faible (60 µg/ml). Aucune différence significative n'a été observée entre l'extrait de *Callistemon viminalis* (ASSCPM=11,5%) et le manèbe (ASSCPM=7,3%). L'extrait de *S. aromaticum* a perdu son efficacité *in vivo*. L'étude montre que l'extrait de *C. viminalis* peut davantage être étudié pour ses propriétés antifongiques dans un programme de lutte contre le mildiou.

© 2011 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés: substance naturelle, contrôle du mildiou, *Phytophthora infestans*, *Solanum scabrum*.

INTRODUCTION

Solanum scabrum Mill. (morelle noire) est un légume africain dont la culture et la commercialisation suscitent de nos jours un intérêt particulier auprès des petits agriculteurs des régions urbaines et périurbaines des grandes villes camerounaises

et d'ailleurs dans les sous-régions Afrique centrale et occidentale (Edmonds et Chweya, 1997 ; Fontem et al., 2003). La principale raison est liée à la situation économique de ces pays d'Afrique subsaharienne; les populations ne disposent plus assez d'argent pour s'approvisionner en légumes exotiques

de plus en plus chers et préfèrent se reporter aux cultures locales (Fontem et Schippers, 2004). Au Cameroun, sa culture permet aux producteurs d'obtenir un rendement en pousses fraîches variables de 54,14 à 238,33 t/ha et de réaliser une augmentation en revenu net de 340.340,89 à 4.151.957,93 FCFA à l'hectare selon la variété utilisée, la période de plantation et en utilisant le métalaxyle comme fongicide pour protéger les plants contre le mildiou (Fontem et al., 2003) qui constitue la principale contrainte agronomique de production de la morelle noire au Cameroun (Fontem et Gumedzoe, 1999). Par ailleurs, des études antérieures ont révélé des résistances du *P. infestans* (agent du mildiou) au métalaxyle et la toxicité des fongicides de synthèse sur les fruits et légumes (Davidse et al., 1983 ; Zhang et al., 1997). En cas de fortes infections, les plants sont défoliés et détruits en pépinières (Fontem et Schippers, 2004). Face à ce problème de toxicité et compte tenu de l'essor et de la promotion de l'agriculture biologique par les principaux importateurs d'Afrique (Union Européenne) dans ce nouveau monde soucieux de la santé des consommateurs et de la préservation de l'équilibre des écosystèmes, l'idéal serait que les pesticides de l'avenir soient des produits naturels biodégradables et capables d'interférer directement ou indirectement avec le métabolisme des pathogènes (Valnet, 1980). C'est ainsi que de plus en plus les recherches sur la protection des cultures portent sur la valorisation du potentiel végétal en utilisant les molécules organiques naturelles qu'elles synthétisent pour lutter contre les phytovirus. En France par exemple, depuis janvier 2006, l'utilisation du cuivre en phytoprotection contre le mildiou a été limitée à 6 kg/ha/an de cuivre métal afin de réduire son accumulation dans les sols et les végétaux, qui s'avère toxique vis-à-vis des microorganismes (flore et faune) des sols; il est d'ailleurs prévu une réduction progressive de cette dose avec le temps (Lambion, 2006). En Amérique du Nord, diverses études ont

montré l'efficacité fongicide des extraits de plantes et dont certains ont fait l'objet d'une formulation biologique efficace contre le mildiou de la pomme de terre. C'est le cas de l'extrait à base de thé de compost commercial (Jolly Farmer) et du Varech (100% à base d'algue) (Sturz et al., 2006). Le but de cette recherche est d'évaluer l'activité antifongique des extraits (substances naturelles) de quatre plantes localement disponible contre le mildiou.

MATERIEL ET METHODES

Isolement et purification de *P. infestans*

L'isolement du pathogène s'est fait suivant le protocole décrit par Zhu et al. (2001). Des fragments issus de jeunes lésions de mildiou ont été désinfectés avec de l'eau de Javel diluée à 5% pendant 5 min puis déposés sous des tranches de pommes de terre dépourvues de maladies. Après 4 jours d'incubation à 18 °C, le mycélium développé au dessus des tranches de pomme de terre a été prélevé aseptiquement et repiqué sur le milieu organique V₈ agar modifié (milieu V₆) fraîchement préparé et supplémenté en antibiotiques (Zhu et al., 2001; Djeugap et al., 2009). L'identification du pathogène s'est faite sur la base de la description microscopique des sporanges (mesuration), de la structure du mycélium (siphon) en se référant aux documents de systématiques fongiques (Alexopoulos, 1979 ; Viennot-Bourgin, 1980). Des repiquages successifs sur milieu dépourvu d'antibiotique ont permis de purifier le pathogène et les cultures pures obtenues ont été conservées à 4 °C.

Matériel végétal et extraction aux solvants organiques

Les feuilles de trois espèces végétales de la famille des Myrtaceae à savoir : *S. aromaticum* (L.) Merr & L.M.Perry, *C. viminalis* G. Don ex Loudon et *Eucalyptus saligna* Smith et les rhizomes d'une Poaceae (*Cymbopogon citratus* L. (DC) Stapf.) ont été récoltés dans le campus de l'Université de

Dschang et séchés individuellement dans une étuve à la température de 30 °C pendant 10 jours. Les clés de systématique botanique ont été utilisées pour l'identification des espèces (Spichiger et al., 2002) en se référant à la version récente du code international de nomenclature botanique (Greuter et al., 2003). Les rhizomes ont été préalablement découpés avant le séchage. Tous les organes ont été ensuite écrasés et pour chacun d'eux, 300 g de poudre a été introduite dans un bocal d'une capacité de 2 litres contenant 1 litre de solvant organique (méthanol ou acétone). Le mélange obtenu a été régulièrement agité pendant quatre jours puis filtré ; le solvant a été évaporé dans un évaporateur rotatif et l'extrait brut, récupéré au fond du bocal (Ciulei, 1980).

Activités antifongiques des extraits

L'évaluation de l'activité *in vitro* des extraits s'est faite aux concentrations de 100, 50, 25, 12,5 et 6,25 µg/ml. Le témoin positif considéré était le manèbe, l'un des fongicides de synthèse couramment utilisé par les maraîchers pour lutter contre le mildiou. La croissance radiale (C) du pathogène a été évaluée par la relation $C = (d_1 + d_2 - 2d_0) / 2$ en mesurant tous les jours les diamètres de croissance à partir de deux lignes orthogonales tracées au revers des boîtes et se croisant au niveau du point de dépôt de l'explant. Dans cette formule, d_0 est le diamètre de l'explant, d_1 et d_2 les deux diamètres orthogonaux mesurés de la culture. Les pourcentages d'inhibition (%I) ont été déterminés par la relation $\%I = 100 \times (D_t - D_x) / D_t$ où D_t est le diamètre moyen de la culture sans extrait ni manèbe, et D_x , le diamètre moyen de la culture avec extrait ou manèbe (Pandey et al., 1982). Les explants de mycélium issus des boîtes où la croissance a été totalement inhibée ont été repiqués de nouveau sur le milieu organique gélosé frais dépourvu d'extrait. L'activité fongicide ou fongistatique de l'extrait végétal a été évaluée sur des cultures âgées de 10 jours selon qu'il y ait eu reprise de croissance fongique ou non

(Pandey et al., 1982). Parallèlement, un inoculum a été préparé à partir des cultures fructifères âgées de 14 jours sur le milieu dépourvu d'extrait, quantifié à 50.000 sporanges/ml à l'aide d'un hémacytomètre et pulvérisé sur tous les plants et, 30 min après, les extraits et le manèbe ont été appliqués par pulvérisation foliaire à la concentration de 4 mg/ml (concentration recommandée pour le manèbe) au laboratoire sur des plants dans des pots en plastique de polyéthylène noir de 15 cm de diamètre et âgés de 30 jours. 24 heures après adhésion des extraits sur les organes, les plants ont été ensuite installés en plein air dans un enclos entouré de grillage à maille fine infranchissable aux insectes et dont le toit était recouvert d'un plastique transparent. La sévérité de la maladie a été évaluée en se référant à l'échelle modifiée de Horsfall-Barrat (Berger, 1980). L'ASSCPM a été calculée par la formule $ASSCPM = \frac{\sum (y_i + y_{i+1})}{2 (t_n - t_1) \times (t_{i+1} - t_i)}$ où y_i est la sévérité du mildiou au temps t_i après inoculation (Campbell et Madden, 1990). L'essai a été répété quatre fois.

Analyse des données

Les pourcentages d'inhibition du pathogène ont été transformés en logarithme décimal aux fins d'analyses statistiques (Finney, 1971). Les CE_{50} et CE_{90} , la sévérité de la maladie et les valeurs des ASSCPM ont fait l'objet des analyses de la variance et les moyennes obtenues, comparées par le test multiple de Duncan au seuil de probabilité de 5% en utilisant le logiciel d'analyse SAS, version 6 (SAS, 1973).

RESULTATS

Rendement des extractions

Le rendement et la couleur des extraits varient en fonction de la plante, de l'organe utilisé et du solvant d'extraction. L'extrait à l'acétone des feuilles de *S. aromaticum* a donné le rendement le plus élevé (35,0%) alors que celui de l'extrait au méthanol des rhizomes de *C. citratus* a été le plus faible

(8,1%). Le rendement d'extraction des feuilles de *E. saligna* au méthanol a été plus élevé (11,0%) comparé à celui de l'extrait à l'acétone du même organe de cette plante (8,5%). L'extrait à l'acétone des feuilles de *C. viminalis* a donné un rendement intermédiaire.

Activité *in vitro* des extraits végétaux

Les concentrations minimales inhibitrices ont été de 60 µg/ml pour *S. aromaticum* et 85 µg/ml pour *E. saligna* au méthanol. Il y a eu reprise de croissance mycélienne à partir des fragments prélevés des milieux supplémentés aux extraits de *C. citratus*, *C. viminalis* et *E. saligna* à l'acétone à 100 µg/ml lorsque ceux-ci ont été repiqués sur le milieu organique frais dépourvu d'extrait, suggérant que ces extraits sont fongistatiques à cette concentration. Par contre, il n'y a pas eu reprise de croissance fongique pour les explants issus des milieux amandés aux extraits de *S. aromaticum* et de *E. saligna* au méthanol à 100 µg/ml. Ceci suggère qu'à cette concentration, ces deux extraits ont des propriétés fongicides vis-à-vis de *P. infestans*. L'analyse de variance des CE₅₀ n'a pas révélé de différences

significatives d'activité antifongique entre le manèbe et l'extrait de *S. aromaticum* ($p > 0,05$). L'extrait de *C. viminalis* a été le moins efficace *in vitro* (Tableau 1).

Activité *in vivo* des extraits végétaux

La sévérité de la maladie a significativement variée en fonction du traitement appliqué et de l'essai. Toutefois, l'extrait à l'acétone des feuilles de *C. viminalis* et l'extrait au méthanol des rhizomes de *C. citratus* ont préservé leur activité durant les quatre essais. L'extrait à l'acétone des feuilles de *S. aromaticum* a été le moins efficace durant les deux premiers essais tandis que celui de *E. saligna* a été le moins efficace lors des deux derniers essais. L'extrait à l'acétone des feuilles de *C. viminalis* a présenté une efficacité comparable à celle du manèbe lors des quatre essais (Tableau 2). Les valeurs des ASSCPM montrent que tous les extraits testés ont réduit significativement la sévérité du mildiou par rapport au témoin non traité. Les extraits de *C. viminalis* (ASSCPM = 11,5%) et de *C. citratus* (ASSCPM = 12,8%) ont été les plus efficaces *in vivo* (Tableau 3).

Tableau 1 : CE₅₀ et CE₉₀ des extraits végétaux vis-à-vis de *P. infestans* exprimées en µg/ml.

| Manèbe/extraits | CE ₅₀ | CE ₉₀ |
|--|------------------|------------------|
| Manèbe | 5,45 ± 1,2a | 13,27 ± 0,7a |
| <i>S. aromaticum</i> (acétone) | 10,02 ± 0,8ab | 27,80 ± 1,1b |
| <i>C. citratus</i> (rhizome, méthanol) | 14,71 ± 3,3b | 34,02 ± 1,4b |
| <i>E. saligna</i> (méthanol) | 13,35 ± 1,6b | 30,78 ± 0,5b |
| <i>E. saligna</i> (acétone) | 13,49 ± 2,0b | 33,15 ± 1,9b |
| <i>C. viminalis</i> (acétone) | 21,06 ± 2,1c | 42,77 ± 1,4c |

Les moyennes dans la colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test multiple de Duncan ($p = 0,05$): CE₅₀ et CE₉₀ = concentration équivalente pour l'inhibition de 50% (CE₅₀) et de 90% (CE₉₀) de la croissance fongique.

Tableau 2 : Sévérité du mildiou (%) après application des extraits de plantes au cours de quatre essais.

| Manèbe/extraits | Essai 1 | Essai 2 | Essai 3 | Essai 4 |
|-----------------------------------|----------|---------|---------|---------|
| Manèbe | 24±3,5a | 30±3,8a | 31±2,9a | 33±3,1a |
| <i>C. viminalis</i> (acétone) | 25 ±3,1a | 39±2,2b | 36±3,7b | 40±4,5a |
| <i>C. citratus</i> (rhizome, mét) | 37±2,0b | 62±4,2e | 40±2,8b | 52±2,3b |
| <i>E. saligna</i> (méthanol) | 40±1,2b | 38±3,6b | 55±4,3c | 73±3,4c |
| <i>E. saligna</i> (acétone) | 45±3,4b | 49±2,2c | 65±3,2d | 83±3,5c |
| <i>S. aromaticum</i> (acétone) | 54±1,9c | 72±3,5d | 45±2,6b | 55±4,2b |

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

Tableau 3 : Valeurs des aires standardisées sous la courbe de progression de la maladie (ASSCPM).

| Fongicide/Extraits | ASSCPM (%) |
|--|-------------|
| Manèbe | 7,3 ±2,6a |
| <i>C. viminalis</i> (acétone) | 11,5 ±3,3ab |
| <i>C. citratus</i> (rhizome, méthanol) | 12,8 ±2,7b |
| <i>S. aromaticum</i> (acétone) | 16,2 ±3,1c |
| <i>E. saligna</i> (méthanol) | 17,6 ±2,8c |
| <i>E. saligna</i> (acétone) | 19,5 ±3,5c |
| Témoin non traité | 30,2 ±2,2d |

Les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test multiple de Duncan à 5%.

DISCUSSION

Les rendements d'extraction variables d'une plante à une autre et pour la même plante, d'un organe à un autre s'expliqueraient par le fait que le rendement d'extraction des composés organiques des végétaux est fonction de la famille botanique à laquelle appartient l'espèce considérée. Certaines familles végétales offrent des rendements élevés et d'autres, des rendements faibles.

C'est ainsi que les Annonaceae, les Myrtaceae, les Asteraceae et les Zingiberaceae offrent généralement des rendements d'extraction élevés tandis que les Poaceae par contre, donnent des rendements très faibles. La différence de rendement au sein du même organe d'une plante en relation avec le solvant utilisé s'expliquerait par le fait que la fixation des composés chimiques de la plante par un solvant donné peut dépendre de

sa polarité et/ou de la teneur en composés apolaires ou de l'organe végétal considéré. Les solvants polaires tels que le méthanol et l'éthanol, ont l'aptitude à fixer plus de composés ce qui augmente conséquemment le rendement d'extraction (Ciulei, 1980).

L'inhibition de la croissance du pathogène par les extraits serait dû au fait que ces extraits posséderaient des composés organiques naturels ayant des activités antimicrobiennes reconnues comme signalés chez d'autres plantes. Ainsi, les études similaires ont montré que des molécules comme la biflorine, la kaempferole, rhamnocitrine et l'acide gallique isolées des extraits foliaires de *S. aromaticum* ont des effets inhibiteurs contre *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia* (Caï et Wu, 1999). Les huiles essentielles de *S. aromaticum* présentent des activités fongistatiques et fongicides sur *Colletotrichum musae* (agent de l'anthracnose de la banane) et sur *Lasiodiplodia theobromae* responsable de la pourriture de la couronne du bananier (Ranasinghe et al., 2002). C'est également le cas de l'extrait à l'hexane des feuilles de *C. viminalis* qui a une activité antifongique contre *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus sp* et *Penicillium sp* (Audy et al., 2000) ; des huiles essentielles de *E. saligna* à activité antibactérienne contre *Escherichia coli* (Sartorelli et al., 2007).

L'extrait de *S. aromaticum*, efficace *in vitro*, s'est montré moins actif en conditions de tests *in vivo* et, à contrario, celui de *C. viminalis* de moindre efficacité *in vitro* a été le plus efficace *in vivo*. Cette tendance nous laisse penser qu'en conditions de tests *in vitro*, sur le milieu de culture, l'effet des molécules actives contre *P. infestans* de l'extrait de *C. viminalis* aurait été masqué par d'autres molécules présentes dans cet extrait et que sur *planta*, la morelle noire aurait métabolisé ces dernières. Ainsi, les composés actifs restant seuls sur la plante agiraient. En effet, les principes actifs des extraits végétaux peuvent agir sur les pathogènes individuellement ou en synergie et inhiber le

développement des agents pathogènes. À l'inverse, il peut exister entre eux une action antagoniste. Ce qui malheureusement, sera bénéfique pour les parasites (Eloff, 1998). À la lumière de cette information, on pourrait penser que dans le cas de l'extrait de *S. aromaticum* c'est plutôt les molécules actives en conditions *in vitro* qui auraient été métabolisées une fois que cet extrait est appliqué sur la plante. Il convient tout de même de signaler que certains composés bioactifs sont instables à la chaleur et par conséquent rapidement dégradables sous le soleil. C'est par exemple le cas de la roténone issue des feuilles de *Tephrosia vogelii* (Ratman, 2001). De ce point de vue, l'on pourrait penser que les principes actifs en conditions de tests *in vitro* de l'extrait de *S. aromaticum* auraient été dégradés sous l'effet de facteurs environnementaux tels que le soleil. L'efficacité de *C. citratus* avait été également signalée en testant l'extrait aqueux des feuilles de cette plante sur le développement du mildiou de la pomme de terre ; cette efficacité s'était révélée comparable à celle du manèbe. Des résultats analogues sur l'activité fongicide des substances naturelles ont été obtenus en utilisant des suspensions à base de racine de rhubarbe médicinale (*Rheum palmatum*) et d'écorce de bourdaine (*Frangula alnus*) qui ont donné des résultats semblables à ceux du Kocide DF, fongicide de synthèse à base de cuivre utilisé en Amérique du Nord contre le mildiou de la pomme de terre (Krebs et al., 2006). Hélas, les suspensions et les extraits les plus performants en chambre humide ne se sont pas avérés aussi satisfaisants en plein champ. Des essais similaires réalisés avec du métalaxyle sur six isolats de *P. infestans* prélevés dans les champs de pomme de terre et de tomate dans l'État de la Caroline du Nord aux USA ont donné des CE₅₀ variant de 0,15 à 1,63 µg/ml (Fraser et al., 1999) qui sont nettement très faibles par rapport à celles obtenues avec le manèbe dans cette étude suggérant que le métalaxyle inhibe mieux la croissance du pathogène que le manèbe. Cependant, les mêmes auteurs dans une étude

parallèle ont pu inventorier 60 isolats issus de la pomme de terre et de la tomate qui ont développé une résistance à ce fongicide (Fraser et al., 1999). Parallèlement, des essais réalisés en Irlande en milieu réel sur le cultivar Kerr's Pink de la pomme de terre ont montré l'existence d'isolats résistants au métalaxyle à toutes les doses testées (de 50 à 700 µl/l). En revanche, des résultats satisfaisants ont été obtenus avec du mancozèbe (6000 µl/l) pulvérisé sur le même cultivar après inoculation artificielle (250.000 sporanges/ml); en effet, les sévérités moyennes de la maladie (10 jours après inoculation) sur les plantes traitées au métalaxyle et au mancozèbe étaient respectivement de 75 et 5% (Dowley et O'sullivan, 1981). Le métalaxyle, bien qu'efficace deviendrait donc de nos jours peu recommandable dans des programmes de gestion durable et raisonnée contre cette maladie. Dans le cadre de cette étude sur le mildiou de la morelle noire, la sévérité moyenne obtenue 15 jours après le traitement au manèbe pour les 4 essais était en moyenne de 30%. Ces statistiques suggèrent que le manèbe et le mancozèbe semblent être parmi les fongicides de synthèse les mieux indiqués pour un contrôle durable du mildiou puisqu'aucune résistance à ces fongicides n'a encore été observée. Les valeurs des ASSCPM du témoin (0,302) sont inférieures à celles qu'avaient obtenues Fontem et Gumedzoe (1999) sur les plants de pomme de terre non traité (0,467); les mêmes auteurs obtinrent 0,09 comme valeur de l'ASSCPM pour le métalaxyle qui se rapproche de celle obtenue avec le manèbe (0,073) dans cette étude. En d'autres termes, le mildiou se développe plus rapidement chez la pomme de terre, l'hôte de prédilection de longue date de cette maladie, cette culture étant plus sensible au mildiou que la morelle noire (Fontem et Schippers, 2004). Pour réduire le risque de pollution que pourrait engendrer l'application des extraits organiques en plein champ, et du coût lié à leur production (prix élevé de ces solvants organiques), il serait souhaitable

d'orienter dans l'avenir les recherches sur le potentiel fongicide des extraits aqueux.

Conclusion

Les résultats obtenus montrent que les extraits testés ont réduit à des degrés variables le développement du mildiou à la concentration de 4 mg/ml. L'extrait à l'acétone des feuilles de *S. aromaticum* et l'extrait des feuilles au méthanol de *E. saligna* ont été fongicides à 60 et 85 µg/ml respectivement. Les extraits à l'acétone des rhizomes de *C. citratus*, des feuilles de *C. viminalis* et des feuilles de *E. saligna* ont été fongistatiques à 100 µg/ml. L'activité antifongique *in vivo* de l'extrait de *C. viminalis* a été significativement comparable à celle du manèbe. Ces résultats suggèrent la possibilité d'exploiter les extraits à l'acétone des feuilles de *C. viminalis* pour ses propriétés antifongiques dans la lutte contre le mildiou.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les responsables des laboratoires de Chimie organique appliquée et de Phytopathologie de l'Université de Dschang qui ont mis à leur disposition les équipements nécessaires pour l'aboutissement de ce travail. Ils témoignent également leur gratitude à l'endroit du professeur Louis Bernier du laboratoire de Pathologie forestière de l'Université Laval (Canada) pour les corrections apportées à ce manuscrit.

REFERENCES

- Alexopoulos CJ, Mims CW. 1979. *Introductory Mycology* (3rd edn). John Wiley & Sons: New York.
- Audy P, Broger L, Jennings J, Somerville T, Goyer C. 2000. Extraits protéiques avec activité antimicrobienne contre les agents de la brûlure tardive et de la gale commune de la pomme de terre. In Résumés des Communications de la 92^e Assemblée Annuelle de la Société de Protection des Plantes du Québec, 78-80.

- Berger RD. 1980. Measuring disease intensity. In *Proc. EC. Stakman Commemorative Symposium on Crop Loss Assessments*, St. Paul (ed). University of Minnesota Misc : Minnesota.
- Campbell CL, Madden LV. 1990. *Introductory to Plant Disease Epidemiology* (2nd edn). John Wiley & Sons: New York.
- Cai L, Wu CD. 1999. Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *J. Nat. Prod.*, **59**: 987-990.
- Ciulei I., 1980. *Methodology for Analysis of Vegetable Drugs. Practical Manuals on the Industrial Utilization of Medicinal and Aromatic Plants* (3rd edn). Arta Grafica: Romania.
- Davidse LC, Hofman AE, Velthuis GCM. 1983. Specific interference of metalaxyl with endogenous RNA polymerase activity in isolated nuclei from *Phytophthora megasperma*. *Experimental Mycology*, **7**: 344-361.
- Djeugap FJ, Fontem DA, Tapondjou AL. 2009. Évaluation des milieux de culture pour la croissance de *Phytophthora infestans*. *Cameroon Biosciences Proceedings*, **15**: 85-92.
- Dowley LJ, O'sullivan E. 1981. Metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Ireland. *Potato Resources*, **24**: 85-92.
- Edmonds JM, Chweya JA. 1997. *Blacknightshades. Solanum nigrum L. and related species. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected species* (1st edn). IPGRI: Rome.
- Eloff JN. 1998. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethnopharmacology*, **8**: 35-38.
- Finney DF. 1971. *Probit Analysis* (3rd edn). University Press : Cambridge.
- Fontem DA, Gumedzo WYD. 1999. Analyse temporelle des épidémies du mildiou de la pomme de terre au Cameroun. *Journal de la Recherche Scientifique Universitaire*, **3**(2): 84-90.
- Fontem DA, Songwalang AT, Berinyuy JE, Schippers RR. 2003. Impact of fungicide applications for late blight management on huckleberry yields in Cameroon. *African Crop Sciences Journal*, **11**(3): 163-170.
- Fontem DA, Schippers RR. 2004. *Solanum scabrum* Mill. In *Plant Resources of Tropical Africa 2. Vegetables*, Grubben GJH, Denton OA (eds). PROTA Fondation : Wageningen ; 193-498.
- Fraser DE, Shoemaker PB, Ristaino JB. 1999. Characterization of isolates of *Phytophthora infestans* from tomato and potato in North Carolina from 1993 to 1995. *Plant Disease*, **83**: 633-638.
- Greuter W, McNeill J, Barrie FR, Burdet H-M, Demoulin V, Filgueiras TS, Nicolson DH, Silva PC, Skog JE, Treharne P, Turland NJ, Hawksworth DL. 2003. *International Code of Botanical Nomenclature (St. Louis Code). Adopted by the Sixteenth International Botanical Congress St Louis*. Koeltz Scientific Books: Königstein.
- Krebs H, Dorn B, Forrer HR. 2006. Lutte contre le mildiou de la pomme de terre avec des préparations à base de plantes. *Revue Suisse d'Agriculture*, **38**(4): 203-207.
- Lambion J. 2006. Protection phytosanitaire en agriculture biologique de la pomme de terre. *Lettre d'Information de l'Institut Technique d'Agriculture Biologique News*, **5**(1): 1-2.
- Pandey DK, Chandra H, Tripathi NN. 1982. Volatile fungitoxicity activity in higher plants special reference to that of *Callistemon lanceolatus* D.C. *Phytopathology*, **105**: 175-182.
- Ranasinghe L, Jayawardena B, Abeywickrama K. 2002. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M.Perry against crown rot and anthracnose

- pathogens isolated from banana. *Letters in Applied Microbiology*, **35**: 208-211.
- Ratman S. 2001. *Tephrosia vogelii*. *Bulletin d'Information du CIEPNA*, **7**: 3-4.
- SAS 1993. *Statistical Analysis System or User's Guide, Project Management, version 6* (1st edn). Cary, NC : SAS Institute Inc.
- Sartorelli P, Marquioreto AD, Amaral-Baroli A, Lima ME, Moreno PR. 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus*. *Phytotherapy Resources*, **21**: 231-233.
- Spichiger R-E, Savolainen VV, Figeat M, Jeanmonod D. 2002. *Botanique Systématique des Plantes à Fleurs. Une Approche Phylogénétique Nouvelle des Angiospermes des Régions Tempérées et Tropicales* (2^e edn). Collection Biologique : Amazone.
- Sturz AV, Lynch DH, Martin RC, Driscoll AM. 2006. Les effets d'un thé de compost, de la poudre de varech et du Manzate® 75 sur la composition des communautés bactériennes et leur capacité d'antibiose contre *Phytophthora infestans* dans la phyllosphère de la pomme de terre. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **28**: 52-62.
- Valnet J. 1980. *Aromathérapie: Traitement des Maladies par les Essences des Plantes* (9^e edn). Vigot Maloine: Paris.
- Viennot-Bourgin G. 1980. *Systématique des Champignons Parasites des Plantes* (5^e edn). Centre de Documentation Universitaire et SEDES réunis : Place de la Sorbonne, Paris V^e.
- Zhang S, Panaccione DG, Callegly ME. 1997. Metalaxyl stimulation of growth of isolates of *Phytophthora infestans*. *Mycologia*, **89**: 289-292.
- Zhu J, Zhang Z, Yang Z. 2001. General research methods on pathogen of potato late blight (*Phytophthora infestans*). *Journal of Agricultural Sciences*, **24**: 112-114.