

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

CENTRE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCES DE LA VIE- SANTE
ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCES DE LA VIE-SANTE



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCES

POST-GRADUATE AND TRAINING
SCHOOL OF LIFE SCIENCES-HEALTH
AND ENVIRONMENT

POST-GRADUATE AND TRAINING
UNIT OF LIFE SCIENCES-HEALTH

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

LABORATOIRE DE PHYTOBIOCHIMIE ET D'ÉTUDE DES PLANTES MÉDICINALES

LABORATORY FOR PHYTOBIOCHEMISTRY AND MEDICINAL PLANTS STUDIES

UNITÉ DES AGENTS ANTIMICROBIENS ET DE BIOCONTRÔLE

ANTIMICROBIAL AND BIOCONTROL AGENTS UNIT

**Identification des champignons responsables
des pourritures de *Dioscorea* spp. dans le
Mbam et Kim et activité bioprotectrice des
Combinaisons d'huiles essentielles de
Cymbopogon citratus et *Syzygium aromaticum***

THÈSE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du diplôme de **Doctorat/Ph.D** en
Biochimie Par

NGUEMNANG MABOU Lile Christèr

Matricule: 05X206

(Master en Biochimie)

Sous la codirection de:

SAMEZA Modeste Lambert

Professeur

Université de Douala

FEKAM BOYOM Fabrice

Professeur

Université de Yaoundé I

Année Académique
2021-2022



UNIVERSITE DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCE DE
LA VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DOCTORALE EN SCIENCE DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING
IN GRADUATE STUDIES IN LIFE, HEALTH
AND ENVIRONMENTAL SCIENCES

RESEARCH DOCTORATE TRAINING UNIT
IN LIFE SCIENCES

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, **Pr. AMBANG Zachée** et **Pr. MOUNDIPA FEWOU Paul** respectivement Examineur et Président du jury de Thèse de Doctorat/PhD en Biochimie, spécialité Biochimie Industrielle/Phytopathologie soutenue par **Mme NGUEMNANG MABOU Lile Christère** (matricule: **05x206**) le 17 janvier 2022 à 11h dans la salle S01/02 du Nouveau Bloc Pédagogique de la Faculté de Sciences de l'Université de Yaoundé I sur le thème intitulée « Identification des champignons responsables des pourritures de *Dioscorea* spp. dans le Mbam et Kim et activité bioprotectrice des combinaisons d'huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et *Syzygium aromaticum* » attestons que la candidate a effectué les corrections conformément aux exigences du jury.

En foi de quoi la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le **24 JAN 2022**.....

Examineur


AMBANG Zachée
Professeur

Président du Jury


Moundipa Fewou Paul
Président du Jury
Enzymologie - Toxicologie

Le Chef de Département





LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS
LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNEE ACADEMIQUE 2021/2022
(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION: Septembre 2021

ADMINISTRATION

DOYEN: TCHOUANKEU Jean- Claude, Maître de Conférences

VICE-DOYEN / DPSAA: ATCHADE Alex de Théodore, Maître de Conférences

VICE-DOYEN / DSSE: NYEGUE Maximilienne Ascension, Professeur

VICE-DOYEN / DRC: ABOSSOLO Monique, Maître de Conférences

Chef Division Administrative et Financière: NDOYE FOE Marie C. F., Maître de
Conférences

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR:
AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (40)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
17	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
18	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

23	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
26	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
27	DJUUKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
28	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
20	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
35	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
36	FOUPOUPOUOGNIGNI Yacouba	Assistant	En poste
37	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Assistant	En poste

38	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
39	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
40	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste
2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (51)			
1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UYI</i>
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
9	KEKEUNOU Sévior	Professeur	En poste
10	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
11	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
12	NOLA Moïse	Professeur	En poste
13	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
14	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
15	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>
16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
19	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
21	MONY Ruth épse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
22	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
23	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste

31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
34	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
35	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
40	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste

42	AMPON NSANGO Indou	Assistant	En poste
43	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
44	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
45	FEUGANG YOUNSSI François	Assistant	En poste
46	FOKAM Alvine Christelle Epse KEGNE	Assistante	En poste
47	GONWOUO NONO Legrand	Assistant	En poste
48	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
49	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
50	NWANE Philippe Bienvenu	Assistant	En poste
51	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (31)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6	YOUNBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
13	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste

14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
17	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
21	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
22	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
25	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Assistant	En poste
26	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
27	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
28	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
29	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
30	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
31	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste
4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (32)			
1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>
10	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
11	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
12	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
13	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
14	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste

15	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
16	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
17	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
18	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
19	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
20	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
21	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
22	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
23	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
24	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
25	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
26	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
27	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINPROFF
28	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
29	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
30	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
31	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
32	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste
5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (40)			
1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/FSE/UYI
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
5	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/</i> Chef de Département
6	WANDJI Jean	Professeur	En poste
7	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
8	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste

13	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	C.E/ MINESUP
20	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	C.S/ MINESUP
21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
26	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
27	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

28	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
29	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
30	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
31	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
32	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste

33	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
34	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
35	NONO NONO Éric Carly	Assistant	En poste
36	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Assistante	En poste
37	TCHAMGOUE Joseph	Assistant	En poste
38	TSAFFACK Maurice	Assistant	En poste
39	TSAMO TONTSA Armelle	Assistante	En poste
40	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
5	AMINOU Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
7	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
11	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
12	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	Directeur adjoint Enset. Ebolowa
14	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

18	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)

1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>
3	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste

6	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes/FS/UWI</i>
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
10	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste
11	BOGSO ANTOINE MARIE	Chargé de Cours	En poste
12	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
13	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
15	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
16	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
17	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
18	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
21	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
23	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
24	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
25	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste
26	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
29	LOUMNGAM KAMGA Victor	Assistant	En poste
30	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
31	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
32	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
33	OGADOA AMASSAYOGA	Assistant	En poste
34	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste
35	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (21)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste
4	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste

7	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

9	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
10	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
14	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
15	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
16	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
17	MONI NDEDI Esther Del Florence	Assistante	En poste
18	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
19	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
20	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Assistante	En poste
21	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (44)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. UN</i>
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen FS Univ/Bda
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	ENYEGUE A NYAM épse	Maître de	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste

21	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
23	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25	SAIDOU	Maître de Conférences	Chef de centre/IRGM/MINRESI
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UJI</i>
30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MEL'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
37	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
39	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
40	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Assistante	En poste
41	LAMARA Maurice	Assistant	En poste
42	OTTOU ABE Martin Thierry	Assistant	En poste
43	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste
44	WANDJI NYAMSI William	Assistant	En poste
10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)			
1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épse YONGUE	Professeur	En poste
3	NDAM NGOUPA YOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>

9	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
12	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
13	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
14	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
17	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel/UYII</i>
18	TCHAKOUNTE J. épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMID T</i>
29	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	CD/Uma
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
41	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
42	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

**REPARTITION CHIFFREE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES
SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE YAOUNDE I**

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	14 (10)	13 (05)	05 (02)	40 (18)
BPA	15 (01)	8 (06)	18 (05)	10 (03)	51 (15)
BPV	07 (01)	9 (01)	8 (06)	07 (01)	31 (9)
CI	10 (01)	09 (02)	10 (02)	03 (0)	32 (5)
CO	6 (0)	21 (05)	05 (02)	08 (02)	40 (9)
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	08 (01)	25 (2)
MAT	2 (0)	8 (0)	15 (01)	09 (02)	34 (7)
MIB	3 (0)	5 (03)	06 (01)	06 (02)	20 (6)
PHY	15 (0)	14 (02)	09 (03)	08 (03)	46 (8)
ST	7 (1)	15 (01)	18 (05)	02 (0)	42 (7)
Total	75 (5)	104 (30)	116 (31)	66 (16)	361 (86)

Soit un total de **361 (86)** dont:

- Professeurs **75 (5)**
- Maîtres de Conférences **104 (30)**
- Chargés de Cours **116 (31)**
- Assistants **66 (16)**

() = Nombre de Femmes **86**

DEDICACE

À mes parents bien-aimés, Monsieur Mabou
Antoine et Madame Mandom Honorée épouse,
Mabou

REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche, au-delà de l'effort personnel, est le fruit d'une longue formation, des encouragements, des bons conseils et de plusieurs collaborations. Aussi m'est-il particulièrement agréable d'évoquer ici ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à son aboutissement. Je tiens à remercier

Tout d'abord, Dieu Notre Père, à travers son fils Jésus-Christ pour m'avoir donné le courage, la patience et la force nécessaire pour l'accomplissement de ce travail.

Le Gouvernement Roumain, pour le financement de trois mois de recherche à l'Université de Dunarea Jos din Galati en Roumanie à travers le programme de bourse «Eugen Ionescu», piloté par l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF).

Le COIMBRA GROUP SCHOLARSHIP à travers l'Université de Pavia en Italie, pour le financement de trois mois de recherche, au Laboratoire de Biologie Moléculaire et Microbiologie.

Le Laboratoire SION pour la lecture au spectrophotomètre.

L'Herbier National du Cameroun pour l'identification des plantes.

Le Laboratoire de Science Alimentaire et de Nutrition de l'UYI pour l'étuvage.

Le Centre de Recherche en Alimentation et Nutrition de l'Institut de Recherche Médicinal et d'Etude des Plantes Médicinales pour les analyses nutritionnelles.

Le Laboratoire de Pédologie de l'UYI pour l'analyse du Kaolin, et les cultivateurs d'ignames des localités du Mbam et Kim pour leur accueil et pour avoir accepté de répondre au questionnaire.

Mes Directeurs de thèse, le Pr Fekam Boyom Fabrice, et le Pr Sameza Modeste Lambert pour m'avoir aidé à réaliser ce travail avec rigueur et patience. Vos qualités scientifiques et humaines, et vos conseils judicieux m'ont été profitables au plus haut point. En témoignage de ma profonde gratitude, veuillez trouver ici mes remerciements les plus sincères.

Le Pr Dinica Rodica Mihaela de la Faculté de Science et Environnement à l'Université de Dunarea Jos din Galati de la Roumanie pour l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles et qui a été très édifiante d'un point de vue aussi bien scientifique que humain.

Le Pr Alessandra Albertini et son équipe à l'Université de Pavia qui m'ont permis de réaliser l'identification moléculaire des pathogènes de l'igname.

Le Pr Moundipa Fewou Paul, Chef de Département de Biochimie de l'UYI, pour n'avoir ménagé aucun effort pour la bonne marche de ce Département. J'exprime aussi ma gratitude à tous les enseignants du Département de Biochimie de la Faculté des Sciences de l'UYI, pour leur formation académique.

Les Drs Eke Pierre et Toghueo Kouipou Rufin Marie, pour leurs conseils, leurs soutiens indéniables et leur disponibilité.

Dr Bédiné Boat Marie-Ampères, Ngongang Tchouang Marie Daniele, Kamdem Thedi Hermann, Ghomsi Tamghe Pierre Gilbert, Nya Dinango Vanessa, Yimta Yombi Diane pour leurs assistances et leurs participations à la réalisation de ce travail.

Pr Tchameni Nguemezi Severin, Dr Tshou Fokou Patrick valère et Dr Fokom Raymond pour leurs conseils constructifs tout au long de ce travail.

Mes aînés et étudiants du Laboratoire de Phytobiochimie et d'Etudes des Plantes Médicinales, pour l'assistance et la contribution durant ce travail.

La grande famille TETIOGWE plus particulièrement ma grand-mère Kuisseu Madeleine pour leurs chaleureux conseils et leurs soutiens multiformes.

Mes Mamans Koudji Brigitte, Tchachouang Josiane et Ndoumi Bertheline pour leurs soutiens indéfectibles et leurs encouragements.

Tous les membres de la famille Mabou qui ont compris et acceptés mon absence durant les années de préparation de ce document plus particulièrement Megaptche Minette Didiane, Cheno Mabou Sidonie Flore, Kamnang Mabou Pascale Carole, Mboumda Mabou Josiane, Kuisseu Mabou Madeleine Lore, Nankam Ange Blanche, Yombi Dinosophe Majoir et Nono Hugues Raoul. Qu'ils trouvent tous ici des raisons fondées de satisfaction et une réelle justification de tous les sacrifices consentis à mon égard.

Toutes les personnes dont les noms ne sont pas mentionés ici mais qui m'ont accompagnés, soutenus et encouragés de près ou de loin pour que ce travail puisse aboutir.

TABLE DES MATIÈRES

DEDICACE.....	X
REMERCIEMENTS	XI
TABLE DES MATIÈRES.....	XXIV
LISTE DES FIGURES	XXVIII
LISTE DES TABLEAUX	XXIX
LISTE DES ANNEXES	XXX
LISTE DES ABREVIATIONS	XXXI
RÉSUMÉ.....	XXXII
ABSTRACT	XXXIV
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	4
I.1. Généralités sur les ignames.....	4
I.1.1. Définition, écologie et espèces cultivées	4
I.1.2. Description et caractérisation de <i>Dioscorea rotundata</i>	4
I.1.4. Importances des ignames	5
I.1.4.1. Importance nutritionnelle.....	5
I.1.4.2. Importance industrielle de l'igname	6
I.1.4.3. Importance médicinale et pharmacologique	6
I.1.4.4. Importance économique.....	6
I.1.5. Production des ignames	7
I.1.6.1. Facteurs causant les pertes post-récoltes.....	8
I.1.6.1.1. Facteurs physiques	8
I.1.6.1.2. Facteurs microbiens	9
I.1.6.2. Les types de pourritures post-récoltes de <i>Dioscorea</i> spp.....	9
I.1.6.2.1. Pourriture sèche	9
I.1.6.2.2. Pourriture molle	10
I.1.6.2.3. Pourriture humide	10
I.1.6.3. Mécanisme général de pourrissement de l'igname	10
I.1.6.3.1. Multiplication par voie asexuée	10
I.1.6.3.2. Reproduction par voie sexuée	10
I.1.6.5. Méthodes de contrôles des pertes post-récoltes	12
I.1.6.5.1. Le curing	12
I.1.6.5.3. Contrôle par abaissement de la température	12
I.1.6.5.4. Contrôle biologique	13
I.1.6.5.5. Contrôle par les substances naturelles	13
I.2. Généralités sur les champignons.....	13

I.2.1. Définition, morphologie et classification.....	13
I.2.2. Mode de vie	14
I.2.3. Impact des champignons.....	15
I.2.4. Les méthodes d'identification des champignons	15
I.2.4.1. Identification morphologique.....	15
I.2.4.1.1. Critères d'identification macroscopique	15
I.2.4.1.2. Critères d'identification microscopique.....	16
I.3. Généralités sur les huiles essentielles	17
I.3.1. DEFINITION ET LOCALISATION	18
I.3.2. Extraction des huiles essentielles.....	18
I.3.3. Composition chimique des huiles essentielles	18
I.3.4. Rôles et propriétés des huiles essentielles.....	19
I.3.4.1. Rôles des huiles essentielles dans la plante	19
I.3.4.2. Propriétés biologiques des huiles essentielles.....	19
I.4. Généralités sur les plantes étudiées.....	20
I.4.1. <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. et L. M. Perry.....	20
I.4.1.1. Description et taxonomie	20
I.4.1.2. Ecologie et botanique.....	20
I.4.1.3. Utilisation et quelques travaux antérieurs	21
I.4.2. <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	21
I.4.2.1. Description et taxonomie	21
I.4.2.2. Ecologie et botanique.....	21
I.4.2.3. Utilisation et quelques travaux antérieurs	22
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES	23
II.1. Matériel.....	23
II.1.1. Site d'étude.....	23
II.1.2. Matériel végétal	24
II.1.2.1. Plantes aromatiques utilisées	24
II.1.3. Supports de formulation et caractéristiques.....	25
II.2.1. Enquête sur les pertes post-récoltes des ignames dans le Mbam et Kim et identification des champignons associés aux pourritures d'ignames	25
II.2.1.1. Collecte d'informations	25
II.2.1.2. Evaluation de l'incidence et de la sévérité de la pourriture.....	26
II.2.1.3. Identification des types de pourriture	27
II.2.1.4. Isolement et test de pathogénicité.....	27
II.2.1.4.1. Isolement	27
II.2.1.4.2. Test de pathogénicité.....	28

II.2.1.4.3. Production des enzymes hydrolytiques par les agents pathogènes.....	29
II.2.1.4.3.1. Amylases	29
II.2.1.4.3.2. Cellulases.....	29
II.2.1.4.3.3. Lipases	30
II.2.1.4.3.4. Proteases	30
II.2.1.4.3.5. Détermination des index enzymatiques	30
II.2.1.4.4. Identification des phytopathogènes	30
II.2.1.4.4.1. Identification morphologique.....	30
II.2.1.4.4.2. Identification moléculaire des pathogènes	30
II.2.1.4.4.2.1. Extraction de l'ADN génomique	30
II.2.1.4.4.2.2. Amplification par <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	31
II.2.1.4.4.2.3. Electrophorèse sur gel d'agarose	31
II.2.1.4.4.2.4. Séquençage des amplicons et analyse phylogénétique.....	31
II.2.2. Etude de la composition chimique des HE de <i>Cymbopogon citratus</i> et <i>Syzygium aromaticum</i> et activité antifongique vis-à-vis des phytopathogènes	32
II.2.2.1. Extraction et analyse des huiles essentielles.....	32
II.2.2.1.1. Extraction des huiles essentielles.....	32
II.2.2.1.2. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles	32
II.2.2.2. Activité antifongique in vitro des huiles essentielles.....	33
II.2.2.2.1. Activité antifongique in vitro des HEs sur le mycélium.....	33
II.2.3.2. Formulation des biopesticides à base de la meilleur combinaison	39
II.2.3.2.1. Préparation des formules	39
II.2.3.2.2. Evaluation du pouvoir protecteur des formulations dans un modèle de conservation semi- contrôlé.....	39
II.2.3.2.3. Evaluation de l'effet des formulations sur la valeur nutritionnelle des tubercules.....	40
II.2.3.2.3.1. Préparations des échantillons.....	40
II.2.3.2.3.2. Détermination de la matière sèche.....	41
II.2.3.2.3.3. Détermination de la teneur en cendres totales	41
II.2.3.2.3.4. Détermination de la teneur en lipides	41
II.2.3.2.3.5. Détermination des teneurs en fibres brutes.....	42
II.2.3.2.3.6. Détermination des teneurs en protéines	42
II.2.3.2.3.7. Détermination des teneurs en glucides totaux	43
II. 3. Analyses statistiques.....	44
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION	46
III.1. Résultats	46
III.1.1. Pertes post-récoltes des ignames et identification des champignons associés aux pourritures d'ignames.....	46
III.1.1.1. Caractérisation socio démographique de la population cible	46
III.1.1.2. Espèces d'ignames les plus cultivées	46
III.1.1.3. Les méthodes de stockage	46
III.1.1.4. Durée de stockage en fonction des méthodes de stockage dans les localités visitées	48
III.1.1.5. Proportions de tubercules perdues au cours du stockage	48

III.1.1.6. Cause des pertes dans les stocks.....	49
III.1.1.7. Méthodes utilisées pour prévenir la pourriture post-récolte.....	50
III.1.1.8. Evaluation de l'incidence et de la sévérité des pourritures	50
III.1.1.9. Isolement, pathogénicité, profil enzymatique et identification des phytopathogènes	51
III.1.1.9.1. Isolement des phytopathogènes.....	51
III.1.1.9.2. Pathogénicité	52
III.1.1.9.4. Identification morphologique et moléculaire des pathogènes	55
a) Identification morphologique des pathogènes	55
b) Identification moléculaire	57
III.1.2. Composition chimique des HE de <i>Cymbopogon citratus</i> et <i>Syzygium aromaticum</i> et activité antimicrobienne vis-à-vis des phytopathogènes	59
III.1.2.1. Rendement d'extraction et composition chimique des huiles essentielles	59
III.1.2.2. Activité antifongique des HE	61
III.1.2.3. Étude de l'interaction entre les HES: détermination de l'Index de Concentration Inhibitrice Fractionnelle (ICIF).....	64
III.1.3. Potentiel bioprotecteur des combinaisons et effet sur quelques paramètres nutritionnels des tubercules d'igname.....	65
III.1.3.1. Activité antifongique <i>in situ</i> des combinaisons d'huiles essentielles.....	65
III.1.3.2. Activité antifongique <i>in vivo</i> de la combinaison d'intérêt.....	67
III.1.3.3. Caractéristiques nutritionnelles des farines des différents traitements.....	70
III.2. Discussion.....	71
III.2.1. Pertes post-récoltes des ignames et identification des champignons associés aux pourritures d'ignames.....	71
III.2.2. Composition chimique des HE de <i>Cymbopogon citratus</i> et <i>Syzygium aromaticum</i> et activité antimicrobienne vis-à-vis des phytopathogènes	73
III.2.3. Potentiel bioprotecteur des combinaisons et effet sur quelques paramètres nutritionnels des tubercules d'igname.....	75
CONCLUSION	76
PERSPECTIVES	77
REFERENCES	78
ANNEXES	M
PUBLICATION	

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Tubercules de <i>Dioscorea rotundata</i>	5
Figure 2: Tubercules de <i>Dioscorea alata</i>	5
Figure 3: Tendence de production de tubercules d'igname au Cameroun entre 2002-2013 (Temple <i>et al.</i> , 2013)	7
Figure 4: Cycle de reproduction d'une moisissure: (a) asexuée, (b) sexuée (Lecellier, 2013)	11
Figure 5: Modes de formation des conidies	17
Figure 6: Modes de groupement des conidies des champignons filamenteux	18
Figure 7: Zone de collecte d'échantillons d'ignames	23
Figure 8: Boutons floraux de <i>Syzygium aromaticum</i> (a) et plant de <i>Cymbopogon citratus</i> (b)	24
Figure 9: Collecte des informations sur le terrain	26
Figure 10: Tubercules d'igname présentant les symptômes de pourriture	28
Figure 11: Tubercules d'igname inoculés (test de pathogénicité).....	29
Figure 12: Illustration de la mesure des diamètres de croissance sur la boîte de Petri.	34
Figure 13: Tranches de tubercules inoculées avec les suspensions de spores et disposées dans les bacs humidifiés:	38
Figure 14: Coffres d'entreposage contenant les différents traitements	40
Figure 15: Réaction de l'ammoniac avec l'acétylacétone et le formaldéhyde en milieu aqueux (réaction de Hantzsch)	43
Figure 16: Equation de la réaction de réduction du DNS lors du dosage des sucres réducteurs.....	44
Figure 17: Méthodes de stockage des tubercules d'igname rencontrées lors de l'enquête: (A) Tas couvert de pailles, (B) Magasin, (C) Hangar, (D) fosse couverte de terre et de pailles.....	47
Figure 18: Tubercules d'ignames présentant les symptômes de pourriture; (a) pourriture molle et (b) pourriture sèche.....	50
Figure 19: Pourritures causées par les agents pathogènes sur les tubercules de <i>D. rotundata</i> et <i>D.alata</i>	52
Figure 20: Enzymes hydrolytiques produites par les agents pathogènes.	54
Figure 21: Aspects macroscopiques et microscopiques des genres présumés pathogènes (A, B, C, D).....	56
Figure 22: Profil d'amplification par PCR d'ADNr de la région ITS des agents pathogènes utilisant des amorces ITS3 et ITS4.....	57
Figure 23: Arbre phylogénétique basé sur une comparaison des séquences de l'ADNr 5,8S des souches de champignons pathogènes isolées des ignames et de certaines souches phylogénétiquement proches.	59
Figure 24: Croissance mycélienne de <i>F. oxysporum</i> à différentes concentrations d'HE de <i>S. aromaticum</i>	61
Figure 25: Test <i>in situ</i> des combinaisons d'HEs de <i>S. aromaticum</i> et <i>C. citratus</i> contre <i>P. mononematosum</i>	66
Figure 26: Activité antifongique <i>in vivo</i> des formulations à base de la combinaison d'HEs de <i>S. aromaticum</i> et <i>C. citratus</i> contre <i>P. mononematosum</i> après en fonction du temps d'incubation.	68
Figure 27: Variation de l'incidence de la pourriture due à <i>P. mononematosum</i> en fonction du temps par traitement	69
Figure 28: Index de réduction de la pourriture due à <i>P.mononematosum</i> par les deux formulations en fonction du temps.	70

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Structure de la production des ignames au Cameroun	8
Tableau II: Récapitulatif des informations sur les plantes utilisées.	24
Tableau III: Caractéristiques physiques et composition chimique de la kaolinite (Al ₄ [Si ₄ O ₁₀](OH) ₈) utilisée	25
Tableau IV: Echelle de sévérité.....	27
Tableau V: Caractéristiques des amorces utilisées (White <i>et al.</i> , 1990)	31
Tableau VI: Espèces d'ignames les plus produites.....	46
Tableau VII: Méthodes de stockage en fonction des arrondissements.....	47
Tableau VIII: Pourcentage de personnes enquêtées en fonction des méthodes et durée de stockage	48
Tableau IX: Proportions de tubercules perdues par les paysans au cours du stockage.....	49
Tableau X: Causes des pertes dans les stocks des arrondissements visités.....	49
Tableau XI: Méthodes de contrôle de la pourriture post-récolte en pourcentage de personnes en fonction des arrondissements visités	50
Tableau XII: Fréquences de tubercules malades et index de la maladie dans les arrondissements visités	51
Tableau XIII: Fréquence des isolats de <i>D. rotundata</i> et <i>D. alata</i> collectés des 3 localités.	52
Tableau XIV.: Incidence et index de sévérité des agents pathogènes	53
Tableau XV: Index enzymatiques des agents pathogènes.....	55
Tableau XVI: Distribution et fréquences des genres présumés dans les localités visitées..	55
Tableau XVII: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des genres présumés	56
Tableau XVIII: Numéro d'accessoire et pourcentage de similarité des agents pathogènes virulents identifiés	58
Tableau XIX: Composition chimique des huiles essentielles	60
Tableau XX: Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>A. niger</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>P. mononematosum</i> , <i>R. oryzae</i> par les HE	63
Tableau XXI: CMI (mg/mL) des HEs sur la germination des spores	64
Tableau XXII: CMIs des HEs en combinaison et les CIF et ICIF en fonction des souches	65
Tableau XXIII: Incidences et Index de réduction de la pourriture en fonction des traitements	67
Tableau XXIV: Caractéristiques nutritionnelles des farines des tubercules de <i>D. rotundata</i>	71

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1: Questionnaire	A
Annexe 2: Appareillage d'hydrodistillation de type Clevenger pour extraction des huiles essentielles.....	D
Annexe 3: Composition et préparation des milieux de culture.....	E
Annexe 4: Pourcentage d'inhibition des HE de <i>C. citratus</i> et <i>S. aromaticum</i> sur la germination des spores des cinq souches testées.....	F
Annexe 5: Exemple d'échiquier de combinaison pour l'étude d'interaction entre deux HE 1 et 2.....	G
Annexe 6: Chromatogramme de l'Huile Essentielle de <i>Cymbopogon citratus</i>	H
Annexe 7: Chromatogramme de l'Huile Essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i>	H
Annexe 8: Spectres de masse de quelques composés majoritaires des huiles analysées.....	I
Annexe 9: Dosage des protéines.....	K
Annexe 10: Dosage des glucides.....	L

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
ADNr	Acide Désoxyribo Nucléique ribosomal
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
CBS	<i>Central Bureau voor Schimmel</i>
CIRAD	Centre de Coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CPG/SM	Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
EI	Energie d'Ionisation
ETBR	Ethidium bromide
eV	Electron-Volt
FAOSTAT	<i>Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database</i>
HE	Huile Essentielle
HNC	Herbier National du Cameroun
CIF	Concentration Inhibitrice Fractionnelle
ICIF	Index de Concentrations Inhibitrices Fractionnelles
IE	Index Enzymatiques
IITA	<i>International Institute of Tropical Agriculture</i>
IRP	Index de Réduction de la Pourriture
MINADER	Ministre de l'Agriculture et du Développement Rural
MS	Masse Sèche
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i>
RCA	République Centre Africaine

RÉSUMÉ

Les ignames (*Dioscorea* spp.) contribuent à l'alimentation quotidienne et à l'amélioration des revenus des populations dans plusieurs pays du monde. Cependant, les contraintes liées au stockage limitent la durée de conservation de cette denrée, affectant leur disponibilité sur les marchés au courant de l'année. Ainsi, l'amélioration de la manutention post-récolte de ces tubercules devient absolument nécessaire. Cette étude a été initiée dans l'objectif d'évaluer les pertes post-récoltes des ignames dans la grande zone de culture du Mbam et Kim (Cameroun), d'identifier les microorganismes responsables et d'étudier le potentiel bioprotecteur d'un biopesticide formulé à base de la combinaison des huiles essentielles (HE) de *Cymbopogon citratus* et *Syzygium aromaticum*. Une enquête a été menée sur la base d'un questionnaire, auprès des producteurs pris dans trois arrondissements du Mbam et Kim (Ntui, Ngoro et Mbangassina) avec prélèvement des échantillons d'ignames dans les sites de stockage. Les champignons ont été isolés des tubercules présentant les symptômes de pourriture. Après le test de pathogénicité, les agents virulents ont été identifiés par séquençage de la région ITS1-5,8S rDNA-ITS2. Leur capacité à produire les enzymes hydrolytiques (amylases, protéases, lipases et cellulases) a été évaluée sur des milieux spécifiques. Les HEs ont été extraites par hydrodistillation et leur composition chimique, analysée par CPG/SM. Leur pouvoir antimicrobien a été évalué *in vitro* sur la croissance mycélienne et la germination des spores par les méthodes d'incorporation à la gélose et de microdilution. L'effet des combinaisons des deux HEs a été évalué par la méthode de l'échiquier. Après un prétest *in situ* sur les tranches d'ignames, la combinaison d'intérêt (40/40 mg/mL) a subi un essai de formulation à base du tween 80 et du kaolin puis testée *in vivo* sous un modèle de stockage semi-controlé pendant deux mois. Par ailleurs l'effet des traitements sur les paramètres nutritionnels des tubercules a été évalué par dosages selon des protocoles standards. Des 81 paysans enquêtés, 71 ont incriminé les pourritures comme étant la principale cause des pertes post-récoltes des tubercules au cours du stockage. Les pourritures étaient essentiellement molles et sèches avec des incidences respectives de 33,33 % et 41,66 %. Sept espèces de champignons ont été identifiées à savoir: *Aspergillus niger*, *Bionectria ochreuleca*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium mononematosum*, *Rhizopus oryzae* et *Talaromyces flavovirens*. *P. mononematosum* était la plus virulente et par ailleurs rapportée ici pour la première fois comme agent pathogène des ignames avec un index de sévérité de 58,33%. Tous ces pathogènes ont produits d'une manière différente les enzymes hydrolytiques généralement

impliquées dans le mécanisme de la pathogénèse. Les rendements d'extraction des huiles essentielles étaient 0,13 % pour *C. citratus* et 6,34 % pour *S. aromaticum*. Le Cis-Ocimène (55,79 %) et limonène (42,1 %) étaient les composés majeurs de l'HE de *C. citratus* et de *S. aromaticum* respectivement. Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des HE sur la croissance mycélienne et la germination des spores des souches testées variaient de 0,156 à 2,5 mg/mL. Les combinaisons d'HEs ont donné des interactions synergiques avec les valeurs d'Index de Concentration Inhibitrice Fractionnelle (ICIF) de 0,49 sur *R. oryzae* et *A. niger*, additive sur *P. mononematosum* (ICIF=0,56) et indifférences (ICIF=1,5) sur *F. solani* et *F. oxysporum*. Au cours du test *in situ*, la combinaison d'HE (40/40 mg/mL) a inhibé totalement l'infection des fragments de tubercules par *P. mononematosum* lors du test préventif avec un Index de Réduction de la Pourriture (IRP) de 1. Pour le traitement curatif l'IRP était 0,25. Quant au test *in vivo*, après 2 mois de stockage, la formulation HE+Tween 80 a été la meilleure (IRP = 0,41). Cette combinaison n'a pas influencé significativement les paramètres nutritionnels des tubercules d'igname. Les résultats obtenus démontrent que la combinaison (40/40 mg/mL) pourrait être une alternative à la protection post-récolte de *Dioscorea* spp.

Mots clés: *Dioscorea* spp. pourriture post-récolte, champignons, régions ITS, séquençage, Huiles essentielles, activité antimicrobienne, combinaison d'huile essentielle.

ABSTRACT

Yams (*Dioscorea* spp.) contribute to the daily diet and the incomes improvement of farmers all over the world. However, constraints during storage not only limit yam's shelf life, but also their availability on the markets through out the year. Improving post-harvest handling of yams becomes absolutely necessary. This study aimed to provide informations on the post-harvest losses in the main farming area in Cameroon, Mbam and Kim, identify the responsible microorganisms and, to assess the bioprotective potential of biopesticide formulation with essential oils (EO) of *Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum*. A survey was carried out using a questionnaire, to collect data on farmer's perception of the post-harvest conservation of yam tubers along with yams samples collected from 81 producers from three districts in the Mbam et Kim (Ntui, Mbangassina and Ngoro). The fungi were isolated from tubers with rotting symptoms, and the virulent isolates were identified by sequencing the ITS1-5.8S rDNA-ITS2 nucleotide sequence. The EO were extracted by hydrodistillation and their chemical composition, analyzed by GC/MS. The EO were evaluated for antimicrobial activity using agar dilution and microdilution methods and their combination by the checkerboard microdilution method. After an *in situ* pretest on the yam slices, the combination of interest (40/40 mg/mL) was formulated using both tween 80 and kaolin and tested *in vivo*, in a semi-controlled storage environment. In addition, the effect of the treatments on the nutritional parameters of the tubers was evaluated using the standard protocols. Out of the 81 farmers surveyed, 71 blamed yam rot as the main cause of post-harvest loss during the storage of tubers. The losses due to dry rot and soft rot with the incidence of 33.33 % and 41.66 % respectively, were recorded in the three districts. Seven species of fungi were identified: *Aspergillus niger*, *Bionectria ochroleuca*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium mononematosum*, *Rhizopus oryzae* and *Talaromyces flavovirens*. *P. mononematosum* was reported here for the first time as being the most virulent with a severity index of 58.33 %. These pathogens produce amylase, cellulase, proteases and lipase enzymes generally involved in the mechanism of pathogenesis. The yields of extraction were 0.136 % (*C. citratus*) and 6.34 % (*S. aromaticum*). The EO of *C. citratus* contain cis-ocimène (55.79 %) and *S. aromaticum* contain limonène (42.1 %), as the major compounds. The Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of these EO on mycelial growth and spore germination varied from 0.156 to 2.5 mg/mL. The combination of EO gave synergistic interactions with the values of Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI) of 0.49 on *R. oryzae* and *A. niger*, additive on *P. mononematosum* (FICI = 0.56) and indifference (FICI = 1.5) on *F. solani* and *F. oxysporum*. *In situ*, the combination of EO (40/40 mg /mL) completely inhibited the infection of the tuber fragments by *P.*

mononematosum, the Reduction Index Decay (RID) of 1 and 0.25 for the preventif and curative test, respectively. After 2 months of storage the formulation based on EO+Tween was the best (RID = 0.41) protector of yams. Moreover, the biopesticide did not significantly influence the nutritional parameters of yams tubers. The results obtained demonstrate that a biopesticide based on the combination (40/40 mg/mL) could be alternatively used for the post-harvest storage of *Dioscorea* spp.

Keywords: *Dioscorea* spp, post-harvest rot, fungi, ITS regions sequencing, Essential oils, antimicrobial activity, combination of essential oil.

Introduction

INTRODUCTION

L'igname (*Dioscorea* spp.) est une importante plante à tubercules produite dans différentes zones tropicales et subtropicales d'Asie, d'Afrique et d'Amérique du sud (Obilo *et al.*, 2005). Toutefois, sa grande zone de production se trouve en Afrique, concentrée dans les pays côtiers du Golfe de Guinée (Vernier et Dansi, 2006; Olufemi *et al.*, 2016). Cette zone encore appelée ceinture d'igname produit plus de 67,3 millions de tonnes (MT) pour une production mondiale estimée à 73 millions de tonnes (MT) par an (FAOSTAT, 2018). Avec une production estimée à 685426 tonnes en 2019, le Cameroun est classé deuxième en Afrique Centrale et septième producteur mondiale (FAOSTAT, 2019). Les espèces cultivées dans toutes les zones agro-écologiques du Cameroun sont *Dioscorea alata*, *Dioscorea cayenensis*, *Dioscorea dumetorum* et *Dioscorea rotundata* (Ngo-Ngwe *et al.*, 2014). L'igname est un produit à forte valeur nutritionnelle et économique qui lui permet de supporter la concurrence face aux autres amylacées tels que les céréales ou le manioc (Bricas et Vernier, 2000). En effet, les tubercules de cette plante sont constitués de 50 à 80% d'eau ainsi qu'une forte teneur en amidon, fibres, protéines, minéraux et vitamines. Ces différents atouts lui confèrent le statut d'aliment très énergétique et de tubercule le plus riche en protéines (Herzog *et al.*, 1993). En outre, le faible indice glycémique de l'igname confert une meilleure protection des consommateurs vis-à-vis des maladies métaboliques comme le diabète et l'obésité (Siadjeu *et al.*, 2015). Outre l'aspect nutritionnel, la production de l'igname est une importante activité génératrice de revenus pour les habitants des bassins de productions (Leng *et al.*, 2016; Kouagheu, 2019).

Malgré son importance, la production des tubercules d'igname fait face à de nombreuses contraintes post-récoltes dans les différents bassins de production (FAO, 2008). Ces contraintes sont principalement enregistrées au cours de la conservation des tubercules dont les méthodes de stockage souvent inadaptées concourent à la perte des ignames. De plus, du fait de la teneur élevée en eau et des blessures qu'ils subissent à la récolte ou au cours du transport, les tubercules sont exposés aux attaques microbiennes à l'origine des pourritures (Amusa *et al.*, 2003; Aidoo, 2007; Gwa *et al.*, 2015). Les pathogènes tels que, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizoctonia* spp, *Penicillium oxalicum*, ont été identifiés comme étant ceux qui occasionnent les plus grosses pertes en stockage (Okigbo et Ikediugwu, 2002; Aidoo, 2007; Shiriki, 2015). Ces pathogènes pénètrent dans les tubercules, produisent des enzymes hydrolytiques extracellulaires qui dégradent et décolorent les tissus des tubercules, réduisant ainsi la valeur nutritionnelle et marchande (Amadioha, 2012; Oladoye *et al.*, 2013). De plus, les mycotoxines produites par

Introduction

certaines espèces fongiques sont à l'origine d'affections, qui touchent aussi bien l'Homme que l'animal (Okigbo et Nwakammah, 2005; Jonathan *et al.*, 2011). Au Ghana, Aidoo en 2007 a enregistré 70 % de pertes dues aux microorganismes. Egalement, au Nigeria, plus de 50% des tubercules récoltés sont perdus au cours du stockage (Okigbo *et al.*, 2015). Ces pertes sont à l'origine de la baisse drastique des revenus des paysans et commerçants avec pour corollaire une augmentation de l'insécurité alimentaire chez des populations (Okigbo *et al.*, 2015). Au Cameroun, malgré les inquiétudes des paysans face aux problèmes liés à la pourriture des tubercules durant le stockage, aucune étude n'as encore été conduite et rapportée.

Pour protéger les denrées entreposées, les paysans ont recourt, aux pesticides chimiques (Okigbo, 2004; Jawich, 2006). Cependant du fait de leur coût, ceux-ci sont inaccessibles pour les paysans à revenus moyens. De plus, l'utilisation recurente de ces produits de synthèse est à l'origine de l'apparition des souches microbiennes developpant des résistances à ces substances. Ces dernières sont également à l'origine des effets délétères sur l'environnement et la santé humaine (Okigbo, 2004; Jawich, 2006; Nzungize *et al.* 2012). Face à ces limites, il est impératif de trouver des méthodes alternatives afin de garantir la sécurité de l'environnement et du consommateur. Dans cette optique, l'utilisation des substances naturelles à l'instar des huiles essentielles (HEs) serait une piste envisageable. Les huiles essentielles obtenues à partir des plantes aromatiques, sont connues pour leurs nombreuses propriétés biologiques et leurs potentiels dans la préservation de la détérioration des aliments (Tchoumboungang *et al.*, 2010; Taiga, 2011; Sameza *et al.*, 2016). En effet les huiles essentielles sont des sources de métabolites secondaires doués de diverses propriétés (Bruneton, 1999) qui peuvent être dues à leur interaction. De ce fait, les combinaisons des HEs sont de plus en plus recommandées car elles peuvent conduire par le biais des interactions synergiques ou additives à l'augmentation de l'effet recherché et la diminution de la dose du produit ainsi qu'à l'apparition des phénomènes de résistance (Chou, 2006; Nguetack *et al.* 2012; GyörGyi *et al.*, 2016).

Au regard de tout ce qui précède, les questions de recherche suivantes ont été posées:

- que'elles sont les moisissures responsables des pertes post-récoltes des tubercules d' igname dans le département du Mbam et kim?
- les huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et *Cymbopogon citratus* pourraient elles 'inhiber les pathogènes des tubercules d'igname?
- leur combinaison pourra t'elle être efficace pour la protection post-récolte des tubercules d'igname contre les pourritures dues aux moisissures?

Introduction

Dans le souci d'apporter une solution durable à travers le développement d'une méthode de lutte efficace, les hypothèses suivantes sont proposées:

- les pourritures des tubercules d'igname enregistrées dans le département du Mbam et Kim sont principalement causées par les moisissures dites pathogènes;
- l'activité antifongique des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et *Cymbopogon citratus* vis-à-vis des moisissures pathogènes est liée à leur composition chimique;
- la combinaison des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* et *Cymbopogon citratus* est une solution alternative capable de protéger les tubercules d'igname contre les moisissures associées à la pourriture post-récolte.

Afin de vérifier les différentes hypothèses de recherche mentionnées, cette étude se propose donc pour objectif principal: de déterminer le potentiel bioprotecteur des combinaisons d'HEs de *Syzygium aromaticum* et de *Cymbopogon citratus* sur les moisissures associées à la pourriture post-récolte de *Dioscorea* spp. dans le département du Mbam et Kim.

Plus spécifiquement, il s'est agit de:

- identifier les moisissures associées à la pourriture post-récolte des tubercules d'igname après enquête dans la zone de production du Mbam et Kim;
- étudier l'activité antifongique des HEs de *Syzygium aromaticum* et *Cymbopogon citratus* vis-à-vis des phytopatogènes identifiés;
- évaluer le potentiel bioprotecteur des combinaisons d'HEs et leurs effets sur quelques paramètres nutritionnels des tubercules d'igname.

*Revue de la
Littérature*

CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1. Généralités sur les ignames

I.1.1. Définition, écologie et espèces cultivées

Les ignames sont des plantes annuelles, herbacées, volubiles à tubercules, plus rarement à rhizomes, produisant dans certains cas de petits tubercules aériens appelés bulbilles (Osagie, 1992). Elles appartiennent à la famille des Dioscoreacées, au genre *Dioscorea* regroupant plus de 600 espèces (Agbor-Egbe et Treche, 1995).

Au Cameroun, les ignames sont cultivées généralement dans les régions du Sud, du Centre, du Sud-Ouest, du Nord-Ouest, de l'Ouest, du Littoral et de l'Adamaoua. La plupart des espèces cultivées, sont annuelles. Suivant la classification de Lyonga et Ayuk-Takem, (1978) 63 cultivars sont identifiés au Cameroun représentés par les 9 espèces suivantes: *D. alata*, *D. esculenta*, *D. cayenensis*, *D. dumetorum*, *D. rotundata*, *D. bulbifera*, *D. liebrechtsiana*, *D. schimperiana* et *D. trifida*. Les 5 premières sont commercialisées et consommées avec *D. rotundata*, la plus répandue car elle représente près de 90% des ignames produites en Afrique (Dumont et al., 2010). Cependant, *Dioscorea alata*, est la plus distribuée dans le monde et la deuxième espèce la plus consommée après *Dioscorea rotundata* (Mignouna et Dansi, 2003).

I.1.2. Description et caractérisation de *Dioscorea rotundata*

Dioscorea rotundata encore appelée «white guinea yam» est originaire d'Afrique de l'Ouest (Dumont et al., 2010). Il s'agit d'une espèce à tige épineuse et ronde et à larges feuilles en forme de cœur. Les tubercules sont de forme cylindrique, de surface lisse, de couleur marronne ou brune avec une chair blanche. Par tige, les tubercules sont peu nombreux avec un poids moyen qui varie habituellement de 2,5 à 5 kg. En fonction des conditions de culture des tubercules de plus de 10 kg peuvent être obtenus. Cette espèce est très appréciée de par ses caractéristiques culinaires et ses qualités organoleptiques (Dumont et Vernier, 1997). Elle regroupe des variétés qui peuvent être classées en deux grands groupes en fonction de la durée de tubérisation et du nombre de tubercules (Scarcelli, 2005):

- le groupe des ignames précoces qui achèvent rapidement leur tubérisation en 8 mois environ et produisent généralement un ou deux gros tubercules ;
- le groupe des ignames tardives qui produisent généralement de nombreux petits tubercules à la fin du cycle de végétation de 12 mois.



Figure 1: Tubercules de *Dioscorea rotundata*

I.1.3. Description et caractérisation de *Dioscorea alata*

Dioscorea alata encore appelée ‘water yam’ est originaire de l’Asie du Sud-Est. La partie aérienne est caractérisée par une tige volubile, des feuilles cordiformes aux aisselles desquelles se situent les bulbilles. La partie souterraine comprend les racines et les tubercules. Ces derniers ont une forme variable, avec un poids supérieur à 500g. Leur surface marronne présente des radicelles. La chair est blanche avec une texture dure ou molle (Degras, 1986).



Figure 2: Tubercules de *Dioscorea alata*

I.1.4. Importances des ignames

I.1.4.1. Importance nutritionnelle

La chair d’igname est une importante source d’hydratés de carbone dont les teneurs varient suivant les espèces, l’âge et le lieu de culture (Bhandari *et al.*, 2003).

À maturité, les ignames ont en moyenne 80 % d’amidon par rapport à la masse sèche, ce qui fait d’elles une importante source d’énergie. La teneur moyenne en sucres solubles

Révue de la littérature

varie de 3,5 à 7,5 %. Ces sucres sont essentiellement représentés par le glucose et le saccharose (Agbor-Egbe et Treche, 1995).

Le taux de protéines dans les ignames varie de 1,7 à 10,9 % de masse sèche selon les espèces et les variétés. Un régime à base d'igname peut donc contribuer pour une grande partie à la couverture des besoins en protéines (Treche et Guion, 1979; Afoakwa et Sefa-Dedeh, 2001). De plus, l'igname est suffisamment riche en leucine, phenylalanine et thréonine (Mbome-Lappe et Treche, 1994).

Le taux moyen de lipides des tubercules d'ignames est de 0,3 mg par 100 g de masse sèche. Ils sont composés à plus de 50 % des acides linoléique et linoléique (Afoakwa et Sefa-Dedeh, 2001). La teneur en fibres alimentaires est assez faible dans les ignames, mais elle augmente considérablement au cours de leur conservation (Agbor-Egbe et Treche, 1996; Afoakwa et Sefa-Dedeh, 2001).

Lorsqu'elles sont bien conservées, elles contribuent à assurer la sécurité alimentaire des ménages (Adidehou, 2004). Les ignames sont majoritairement cultivées pour la consommation humaine et sont essentiellement commercialisées en tubercules frais qui sont consommés, bouillis, rôtis, braisés, frits ou pilés selon les variétés (Asiedu-Larbi, 2010). Le séchage des tubercules dès la récolte permet la transformation en farine ou la fabrication de cossettes d'ignames séchées. La farine d'igname est utilisée dans diverses préparations culinaires (Agbor-Egbe *et al.*, 1984; Okigbo et Nwakammah, 2005).

I.1.4.2. Importance industrielle de l'igname

Les ignames sont exploitées à l'échelle industrielle pour la fabrication de l'amidon, de l'alcool, l'alimentation de volaille et du bétail, et la production des chips, de biscuits, et de farine d'igname (Asiedu-Larbi, 2010).

I.1.4.3. Importance médicinale et pharmacologique

Les ignames sont utilisées pour le traitement du diabète et de l'hypercholestérolémie (Amadioha, 1998; Okigbo et Ogbonna, 2006). Certaines espèces de *Dioscorea* sont des sources principales de diosgénine, qui est converti en stéroïdes importants. Les ignames cultivées et sauvages sont aussi utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour traiter les brûlures, le rhumatisme et l'impuissance (Jaleel *et al.*, 2007).

I.1.4.4. Importance économique

L'importance économique des ignames est incontestable de nos jours. Elles représentent une culture importante au plan mondial (Adidehou, 2004). Aussi, avec une forte valeur marchande et une demande de plus en plus croissante des consommateurs des centres

urbains, l'igname apparaît comme une culture de rente et permet à un grand nombre de petits producteurs, y compris les femmes, les transformateurs et les commerçants, d'améliorer leur revenu (Pouya, 2016).

I.1.5. Production des ignames

La production annuelle mondiale est estimée à 50 millions de tonnes de tubercules frais en 2014, et 96 % de cette production est assurée par l'Afrique de l'Ouest (FAOSTAT, 2015). Le Nigeria produit environ 95 % des ignames consommées dans le monde (FAO, 2003). Au Cameroun les ignames sont cultivées dans 9 régions, les principaux bassins de production étant: l'Adamaoua, le Centre, l'Est, le Littoral et le Nord-ouest, avec une production annuelle respective de 62 500 tonnes (t); 131834 t; 59344 t; 5775 t; et 9079 t (Agristat, 2012) t. La région du Centre était la plus importante avec comme principale bassin de production le département du Mbam et Kim qui en 2006 à produit environ 36646 t soit 42,21% de la production locale (Agristat, 2009). Globalement entre 2002 et 2013 (Figure 3) la production d'igname au Cameroun est passée de 264 294 t à 556 647 t ce qui dénote une nette augmentation graduelle de la production nationale réitérant ainsi son importance dans l'alimentation populaire et sa contribution dans la lutte contre la famine, la pauvreté et donc la sécurité alimentaire nationale.

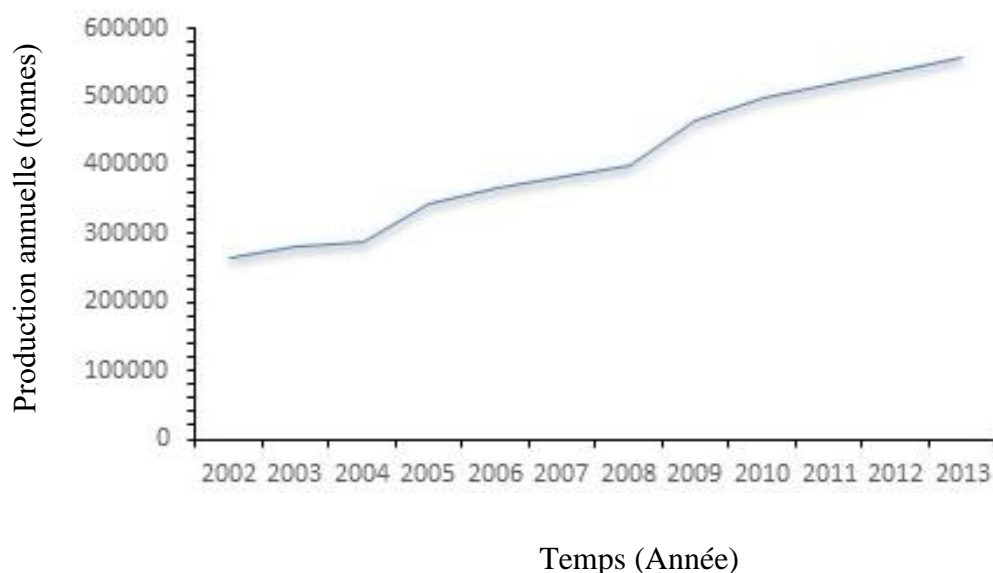


Figure 3: Tendence de production de tubercules d'igname au Cameroun entre 2002-2013 (Temple *et al.*, 2013)

Toutefois, les statistiques révèlent (Tableau I) une augmentation de la production d'ignames, non proportionnelle à celle de la population. En effet la disponibilité en ignames par habitant a diminué de 28 kg en 1999 à 16 kg en 2005. Pourtant les superficies cultivées ont augmenté entre 2000 et 2005 de 28 038 ha à 38059 ha, soit une augmentation de la surface cultivée de 6,6%. Cependant on note une réduction de la disponibilité des ignames par habitant de près de 57,14% (MINADER, 2005). Cette baisse de rendement de production malgré l'augmentation des surfaces cultivées serait liée à des pertes post récolte.

Tableau I: Structure de la production des ignames au Cameroun

Année	Production* en tonnes	Superficie* en hectares	Rendement en tonnes/ha	Disponibilité en kg/habitant
2000	261 650	28 038	9,33	17,1
2001	262 610 (0,37)	35 175 (25)	7,46	16,7
2002	311 353 (18,56)	35 877 (2)	8,67	19,3
2003	280 330 (-9,96)	36 595 (2)	7,66	16,9
2004	286 494 (2,20)	37 327 (2)	7,67	16,8
2005	292 796 (2,20)	38 059 (1,9)	7,69	16,7

* Les données entre parenthèses représentent les taux de croissance annuels moyens.

Sources: Données de base PNDRT 2005, antenne de Douala, calcul auteurs.

I.1.6. Pertes post-récoltes d'ignames

Les pertes post-récoltes sont celles survenues le long du stade du système post-récolte à savoir de la récolte à la distribution modifiant ainsi la disponibilité et la qualité d'un aliment. Les ignames sont très hétérogènes en ce qui concerne leur conservation après récolte. Certaines variétés sont fortement périssables (*D. cayenensis* et *D. dumetorum*), tandis que d'autres (*D. alata* et *D. rotundata*) peuvent être conservées pendant plusieurs mois. Cependant, il existe également un vaste éventail de facteurs de pertes qui compliquent considérablement le stockage. Ces facteurs réduisent la disponibilité des ignames en période de serre (FAO, 1998).

I.1.6.1. Facteurs causant les pertes post-récoltes

Plusieurs facteurs sont à l'origine d'importantes pertes des ignames après récoltes.

I.1.6.1.1. Facteurs physiques

Ils regroupent les dommages mécaniques tels que les blessures des tubercules causées par l'Homme pendant la récolte ou au cours du transport. Les blessures causées par les insectes,

les rongeurs et les nématodes en champs ou après la récolte. Ces blessures favorisent la colonisation des tubercules par les champignons et bactéries qui y pénètrent et infectent les tissus des tubercules d'igname (Amusa *et al.*, 2003).

Les dommages dûs aux conditions de stockage sont également enregistrés. En effet les ignames sont généralement stockées à une température comprise entre 27 °C et 30 °C et une humidité comprise entre 81 % et 86 % qui sont des conditions favorables au développement des champignons qui se sont déposés sur les tubercules au champ et au cours du transport. (Giradin et Nindjin, 1996).

I.1.6.1.2. Facteurs microbiens

Les tubercules d'igname sont sujets à de nombreuses maladies au cours du stockage notamment les pourritures causées par les bactéries et les champignons. Les pathogènes du genre: *Aspergillus niger*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizoctonia spp.*, *Penicillium oxalicum*, *Trichoderma viride*, *Rhizopus nodosus* et *Rhizopus stolonifer* (Okigbo and Ikediugwu, 2002; Okigbo, 2004; Aidoo, 2007 Tchoumboungang *et al.*, 2010; Sameza *et al.*, 2016) sont les plus incriminés. Les agents pathogènes pénètrent le plus souvent à travers les blessures occasionnées sur les tubercules et infectent les tissus internes de ceux-ci (Morse *et al.*, 2000). Après pénétration, ces pathogènes dégradent les tissus des tubercules par production des enzymes hydrolytiques telles que les polygalacturonases, cellulases et xylanases amylases, lipases, cellulases, protéases, causant différentes types de pourriture (Barth *et al.*, 2009, Oladoye *et al.*, 2013).

I.1.6.2. Les types de pourritures post-récoltes de *Dioscorea spp.*

La pourriture est une pathologie qui affecte les denrées et cause une réduction considérable de la quantité des tubercules et de leur valeur marchande. Trois types de pourriture peuvent affecter les ignames lors du stockage en fonction du pathogène impliqué et des symptômes (Amusa et Baiyewu, 1999).

I.1.6.2.1. Pourriture sèche

Les tissus affectés deviennent durs et secs avec une coloration variant selon le pathogène impliqué. Ainsi, la pourriture due à *P. oxalicum* et *P. cyclopium* est brune avec développement d'un mycélium verdâtre à sa surface. Celle causée par les espèces de *Fusarium* développe une couleur rose entourée du jaune tandis que *B. theobromae* se développe rapidement sur le matériel végétal et l'envahit à travers son mycélium gris au début de l'infection et noir avec le temps en présentant des pycnides en surface. La pourriture causée par *A. niger* et *A. tamari* est brune entourée d'une couleur jaune (IITA, 1993; Wayne, 1993; Morse *et al.*, 2000).

I.1.6.2.2. Pourriture molle

Les tissus sont mous, de couleur brune avec leur surface recouverte ou pas du mycélium de la moisissure. Quelques fois, ils deviennent humides. Les espèces de *Rhizopus*, *Mucor circinelloides*, *Rhizoctonia solani*, *Armillariella mellea* sont les moisissures impliqués (Ikotun, 1989; Green *et al.*, 1995; Amusa et Baiyewu, 1999; Amusa *et al.*, 2003).

I.1.6.2.3. Pourriture humide

Elle est caractérisée par l'écoulement d'un liquide blanchâtre hors des tissus lorsque l'on presse le tubercule et est généralement causée par les bactéries (IITA, 1993; Amusa et Baiyewu, 1999; Amusa *et al.*, 2003).

I.1.6.3. Mécanisme général de pourrissement de l'igname

Le développement des moisissures sur l'igname comprend une phase reproductive asexuée ou phase végétative et une phase reproductive sexuée (Youassi, 2017). On y rencontre la multiplication par voie asexuée des Deutéromycètes (*Penicillium* et *Aspergillus*), des Ascomycètes (*Fusarium*) et la reproduction sexuée des Zygomycètes (*Rhizopus*).

I.1.6.3.1. Multiplication par voie asexuée

Correspondant à la forme anamorphe, elle se fait sans fusion de gamètes. Elle correspond majoritairement à la sporulation qui est la dispersion de spores asexuées, permettant la propagation des moisissures afin de coloniser l'igname. Elle se fait de manière exogène en continu à l'extrémité des structures spécialisées appelées phialides (conidiospores). Ensuite, les spores se détachent du mycélium sous l'effet d'un petit choc mécanique, d'un frôlement ou d'un courant d'air. Elles se propagent sur un nouveau tubercule soit par contact, soit par des insectes ou par l'eau (gloeiospores); ou dispersées par l'air (xerospores) car dissociables et légères, et peuvent rester inertes tant que les conditions environnementales ne sont pas favorables à leur développement. Ce n'est que lorsqu'elles deviennent favorables, qu'elles germent comme des graines et émettent du mycélium qui colonise le tubercule d'igname par extension et ramification des hyphes. La ramification se fait par bourgeonnement (latéral) et correspond à la phase de nutrition où les hyphes absorbent à travers leur paroi, l'eau et les éléments nutritifs contenus dans l'igname, libérant les enzymes et les acides responsable de la dégradation et de l'altération du tubercule.

I.1.6.3.2. Reproduction par voie sexuée

Elle est rare dans la nature. *In vitro*, elle est interne et n'apparaît que lorsque le milieu de culture est appauvri en matière nutritive et fait appel aux gamètes mâles et femelles. A

maturité, les spores contenues dans les sporanges sont libérées par gélification de la paroi du sporocyste, elles se disséminent par aérotransport ou par l'intermédiaire de vecteurs (insectes, animaux, humains et d'autres). Chacune d'elles possède une paroi épaisse et renferme un ou plusieurs noyaux (spores plurinucléés). Il est de sorte que deux filaments de thalles hétérogènes arrivent l'un à proximité de l'autre, s'incurvent ou émettent un diverticule qui amène leur fusion (plasmogamie) aboutissant à la formation d'un cénozygote. Les noyaux des deux mycéliums restent côte à côte, à un stade dicaryotique ($n + n$ chromosomes) et se divisent par simple mitose. Ceux qui échappent à la dégénérescence subissent une caryogamie (la véritable fécondation), donnant naissance à la zygospore, élément principal de la reproduction sexuée et aussi, le seul stade diploïde du cycle. La zygospore pourvue d'une paroi épaisse et verruqueuse, se divise par méiose au moment de la formation du mitosporange qui libère des spores uninuclées haploïdes. La phase diploïde est donc relativement courte et le cycle de vie est généralement haploïde (Lecellier, 2013).

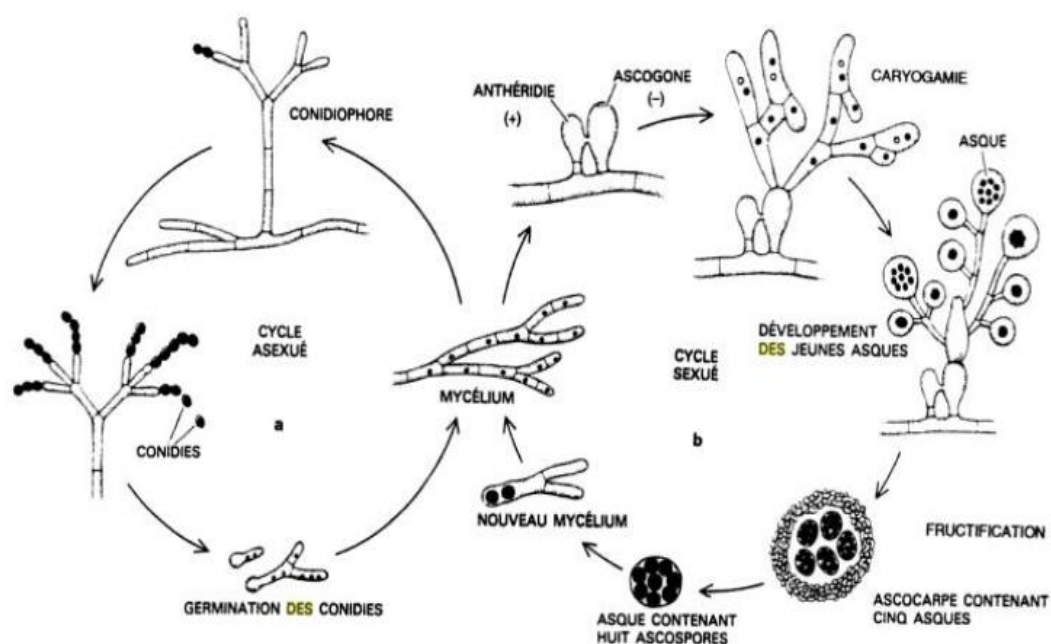


Figure 4: Cycle de reproduction d'une moisissure: (a) asexuée, (b) sexuée (Lecellier, 2013)

I.1.6.4. Impact de la pourriture sur la qualité et la valeur économique des ignames

La pourriture réduit la valeur marchande des tubercules ce qui conduit à l'indisponibilité des ignames sur les marchés pendant les périodes de serres car des énormes quantités sont perdues au cours du stockage. Au Nigeria, soient 25 à 60 % des tubercules d'igname produits sont perdus au cours du stockage (Gerardin, 1996; Okigbo et Ikediugwu, 2000). Les pertes post-récoltes de *Dioscorea rotundata* au Ghana ont été estimées à 10 à 40 % par Cornelius, (1998)

et au-delà de 70 % par Aidoo, (2007). Mais au Cameroun aucune étude n'a encore été faite dans ce sens. En plus de la pourriture qu'ils provoquent chez les plantes les pathogènes réduisent également la valeur alimentaire des tubercules car certains produisent au cours de l'infection des mycotoxines rendant les tubercules impropres à la consommation pouvant provoquer les maladies et la mort chez les consommateurs (Anofel, 2002). Ce qui représente un manque à gagner pour les cultivateurs et commerçants dont l'igname représente la principale source de revenu. Ainsi, pour juguler ces pertes plusieurs stratégies de contrôle ont été envisagées.

I.1.6.5. Méthodes de contrôles des pertes post-récoltes

Diverses méthodes sont utilisées pour contrôler les pertes post-récoltes ou améliorer la conservation d'ignames afin de prolonger la période de disponibilité des tubercules de qualité sur le marché et de mieux rentabiliser la production. Ainsi, le curing contrôle chimique, contrôle biologique, contrôle par abaissement de la température, contrôle par les substances naturelles sont les plus pratiquées.

I.1.6.5.1. Le curing

Le curing consiste à exposer les tubercules pendant une période relativement brève, juste après la récolte, à une température de 29-40°C et une hygrométrie de 90-95 %, pour favoriser la cicatrisation des blessures provoquées par la récolte et éviter l'évolution des pourritures subséquentes. Cependant l'évaluation expérimentale de cette technique a fourni des résultats discordants (Girardin, 1996).

I.1.6.5.2. Contrôle chimique

Des agents chimiques sont utilisés pour réduire la propagation des maladies post-récoltes. Ceux reconnus pour éradiquer les pertes observées lors du stockage de l'igname incluent le Ridomil, benlate, le captan, le thiobendazole (Okigbo et Ikediugwu, 1999; 2000). Le captan inhibe la germination complète des spores de *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium moniliform* et de *Penicillium sclerotigenum* tandis que le benlate et le thiobendazole sont capables d'arrêter aussi bien la germination que la croissance du microorganisme. Toutefois les agents chimiques sont rares et présentent des risques de pollution pour l'environnement et de toxicité pour l'Homme.

I.1.6.5.3. Contrôle par abaissement de la température

Le froid cause des lésions irréversibles à partir des valeurs inférieures ou égales à 12°C (Girad et Nindjin, 1996). Toutefois, des investigations ont montré que la durée de stockage des tubercules sains matures peut être prolongée de 4 mois à des températures

Révue de la littérature

comprises entre 16 et 17°C. Les basses températures de stockage ralentissent le métabolisme du pathogène arrêtant ainsi la pourriture (Okigbo, 2003). Cependant, le pathogène est rarement tué et une fois que les ignames sont replacées à la température ambiante, la pourriture apparaît de nouveau.

I.1.6.5.4. Contrôle biologique

L'utilisation des microorganismes antagonistes réduit l'activité du pathogène et par conséquent le risque de maladies induites par ce dernier. C'est ainsi que *Trichoderma viride*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas syringae* et *Pseudomonas chlororaphis* ont été utilisés avec succès pour contrôler la mycoflore des tubercules d'igname (Okigbo, 2002; Okigbo et Emeka, 2010). Mais cette approche s'avère coûteuse et difficile à mettre en œuvre.

I.1.6.5.5. Contrôle par les substances naturelles

La méthode de contrôle utilisant les substances extraites de plantes à savoir les extraits bruts et les huiles essentielles est de plus en plus explorée pour le contrôle et la protection post-récolte des denrées (Okigbo and Ikediugwu, 2000). C'est le cas des extraits aqueux de *Passiflora edulis*, *Ceiba pentandra* (Vambe-Tiv), *Jatropha tanjorensis*. qui ont présentés un potentiel inhibiteur *in vitro* sur les pathogènes responsables de la pourriture de *D. rotundata* au Nigeria (Shiriki *et al.*, 2015). Aidoo, (2007) a montré que les extraits aqueux de *Zingiber officinale* et *Piper nigrum* inhibaient les moisissures responsables de la pourriture post-récolte de *D. rotundata* au Ghana. Okigbo et Nmeka, (2005) ont montré que les extraits de *Xylopiya aethiopica* et *Zingiber officinale* permettaient de réduire la pourriture post-récolte de *Diocorea spp.* Les feuilles de *Cassia alata* ont montré des propriétés fongicides *in vitro* et *in vivo* sur les phytopathogènes (Khan *et al.*, 2001). Tchoumboungang *et al.*, (2009) ont montré que les huiles essentielles de 3 espèces d'*Helichrysum* inhibaient *in vitro* *Penicillium oxallicum* associé à la pourriture post-récolte de *D. schimperania* au Cameroun. L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* inhibe *in vitro* et *in situ* sur les tranches, *Fusarium solani* et *Rhizopus stolonifer* responsables de la pourriture post récolte de *D. rotundata* au Cameroun (Sameza *et al.*, 2016).

Ces substances naturelles sont accessibles et disponibles. Elles sont très peu ou pas toxiques pour l'Homme et facile à préparer (Okigbo et Nmeka, 2005).

I.2. Généralités sur les champignons

I.2.1. Définition, morphologie et classification

Les champignons (mycètes ou *fungi*) sont des organismes eucaryotes uni ou pluricellulaires incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres

Révue de la littérature

microscopiques (micromycètes) d'aspect filamenteux ou lévuriforme pouvant vivre en saprophyte, symbiote ou parasite et se procurant de nutriment par adsorption.

Les macromycètes sont visibles à l'œil nu à cause de leurs organes reproducteurs (carpophores). Les micromycètes le deviennent dans certaines circonstances dans notre environnement et sont appelés couramment moisissures, agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères recouvrant des substrats divers (fruits en décomposition, vieux murs,...) et capables de produire de quantités extraordinaires de spores.

Ce sont des thallophytes car l'appareil végétatif est un thalle constitué de filaments mycéliens à croissance apicale dans toutes les directions à la même vitesse. Les champignons revêtent de nombreuses formes, tailles et couleurs. Leur appareil végétatif est constitué de filaments ou hyphes, l'ensemble est appelé thalle ou mycélium. Les hyphes spécifiques produisent les spores qui sont dispersées de diverses façons et dont la couleur, la forme et la manière dont elles se développent permettent d'identifier le champignon.

On distingue les classes suivantes:

- les Chytridiomycètes ayant des spores munies d'un flagelle;
- les Zygomycètes avec un mycélium végétatif plus large, souvent dilaté, peu ou pas cloisonné et une reproduction asexuée dite endogène;
- les Ascomycètes avec des asques produits à l'intérieur d'un ascocarpe (organe protecteur);
- les Basidiomycètes avec un thalle cloisonné et bouclé au niveau des cloisons;
- les Deutéromycètes ou champignons imparfaits ayant une reproduction asexuée;
- les Oomycètes avec des spores munies de deux flagelles (Chabasse *et al.*, 2002; FAO, 2006).

I.2.2. Mode de vie

Les champignons peuvent être des saprophytes en vivant sur la matière organique en décomposition ou des parasites en vivant au dépend d'autres êtres vivants.

Les moisissures sont des agents d'altération des matières organiques le plus souvent mal conservées ou exposées à l'humidité. Certaines se développent sur des aliments et sécrètent des substances toxiques pour l'Homme et les animaux (*Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus*, etc.).

Les parasites obligatoires sont les champignons qui ne peuvent pas se développer en dehors de leurs hôtes. Les parasites facultatifs sont normalement saprophytes s'attaquant aux organismes dont les systèmes de défenses sont affaiblies (Bouchet *et al.*, 1989).

I.2.3. Impact des champignons

De nombreuses activités métaboliques des champignons leur confèrent une grande capacité de transformation et de dégradation des matières organiques les plus diverses. Chez les plantes, les champignons en se développant provoquent plusieurs maladies avec pour conséquence, la réduction quantitative et qualitative de la productivité. Ce sont des champignons de “champs” (Semal *et al.*, 1989). En dehors des maladies qu’ils provoquent chez les plantes, les champignons se développent aussi sur les produits alimentaires lors du stockage; ce sont les champignons “d’entrepôts”.

Les conséquences du développement de ces microorganismes sur les denrées alimentaires sont multiples. On peut citer entre autres:

- la pourriture (modification de l’aspect);
- l’altération des propriétés organoleptiques;
- la réduction quantitative et surtout qualitative de la valeur alimentaire;
- le risque de mycoses et d’allergies et surtout d’intoxications sont les conséquences les plus importantes, encore appelés mycotoxicoses ou production de mycotoxines, lesquelles peuvent entraîner les maladies et la mort chez l’animal et l’homme (Anofel, 2002).

I.2.4. Les méthodes d’identification des champignons

I.2.4.1. Identification morphologique

L’identification d’une espèce fongique repose sur l’analyse de critères cultureux (température et vitesse de croissance, milieux favorables) et morphologiques. Ces derniers sont constitués des paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers) et microscopiques (aspect du mycélium, des sporanges, des spores, des phialides, des conidiophores,...) (Cahagnier et Richard-Molard, 1998; Guiraud, 1998; Chabasse *et al.*, 2002).

I.2.4.1.1. Critères d’identification macroscopique

L’aspect des colonies représente un critère d’identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses; parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre (l’absence ou pauvreté du mycélium aérien). Le relief des colonies: il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).

La taille des colonies: Elle peut-être très variable en fonction des genres fongiques: petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (*Mucor*, *Rhizopus*).

La couleur des colonies est un élément très important d'identification; les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le bleue, le vert, le brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffusés dans le milieu de culture (*Fusarium*).

Les structures de fructification: la présence ou l'absence, au centre de la colonie, des structures de fructification sexuée (cléistothèces) ou asexuée (pycnides) est aussi un élément important de diagnose (Botton *et al.*, 1990).

I.2.4.1.2. Critères d'identification microscopique

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle et coloration de la préparation au Bleu Cotton. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnose (Cahagnier et Richard-Mollard, 1998).

Le thalle: tous les champignons possèdent un appareil végétatif constitué de filaments (hyphes) qui, ensemble, forment le thalle filamenteux ou le mycélium ; le thalle peut être siphonné ou septé:

- le thalle siphonné, constitué d'éléments tubulaires peu ou pas ramifiés, de diamètre large et irrégulier (5-15 μm), non cloisonné est caractéristique des Zygomycètes;

- le thalle septé ou cloisonné, constitué de filaments de diamètre étroit (2-5 μm) et régulier, divisé par des cloisons en articles uni ou pluricellulaires est caractéristique des Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes.

Les spores sont le produit de la reproduction asexuée et peuvent être endogènes ou exogènes:

- les spores endogènes (endospores) sont produites à l'intérieur d'un sac fermé (sporangie), porté par un filament spécialisé (sporangiophore). Ces spores, que l'on observe par exemple chez les *Mucorales*, sont libérées par le déchirement de la paroi de sporangie à maturité;

- les spores exogènes (conidies), retrouvées chez les *Ascomycètes*, *Basidiomycètes* et *Deutéromycètes*, sont formées par bourgeonnement à partir d'une cellule spécialisée (cellule conidiogène).

L'examen des spores et de leur organisation est une étape importante de l'identification fongique (Campbell *et al.*, 1996).

Présence des chlamydospores

Les chlamydospores sont des éléments de résistance qui sont formés à partir du filament mycélien ou à son extrémité. Elles ont une paroi épaisse. Contrairement aux autres spores, les chlamydospores ne possèdent pas de mécanismes de libération permettant leur dissémination à maturité. Bien que peu spécifiques puisqu'elles se retrouvent pratiquement chez toutes les espèces lorsque les conditions sont défavorables, elles peuvent cependant constituer une aide dans l'identification lorsqu'elles apparaissent précocement (comme chez certaines espèces de *Fusarium*).

Modes de formation des conidies

Le mode thalique: la formation des spores s'effectue à partir d'éléments préexistants du thalle. On en distingue deux variantes principales:

- le type thalique solitaire, ex: *Chrysosporium*
- le type thalique arthrique, ex: *Geotrichum*

Le mode blastique: les spores sont formées par bourgeonnement à partir de cellules conidiogènes différenciées ou pas, puis une cloison se forme à l'émergence du bourgeon et la cellule fille (la spore) se sépare de la cellule mère. On en distingue plusieurs variantes:

- le type blastique acropète, ex: *Cladosporium*, *Alternaria*
- le type blastique synchrone, ex: *Botrytis*
- le type blastique sympodial, ex: *Beauveria*

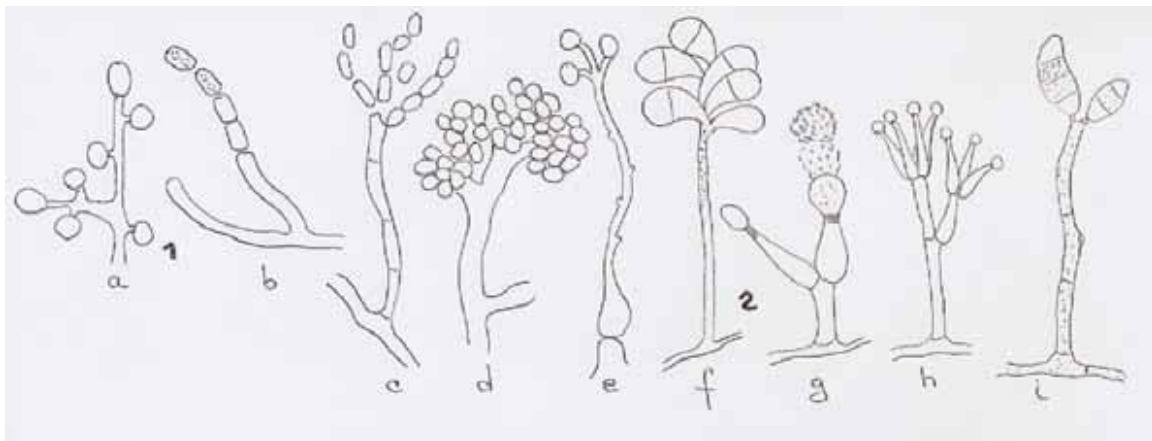


Figure 5: Modes de formation des conidies

1. Formation thalique: a: solitaire (*Chrysogenum*), b: arthrique (*Geotrichum*), 2. Formation blastique, c: acropète (*Cladosporium*), d: synchrone (*Botrytis*), e: sympodial (*Beauveria*), f: régressif (*Trichothecium*), g: annelidique (*Scopulariopsis*), h: phialidique (*Penicillium*), i: poric (*Curvularia*).

Mode de groupement des conidies

Les conidies sont, en général, regroupées à l'extrémité de la cellule conidiogène. L'organisation de ce regroupement est aussi un facteur d'identification. Les principaux types

sont:

- grappes, ex. *Beauveria*, *Trichothecium*
- masse, ex. *Botrytis*
- têtes ou balles, ex. *Acremonium*, *Trichoderma*
- chaînes basipètes, ex. *Scopulariopsis*, *Aspergillus*, *Penicillium*
- chaînes acropètes, ex. *Cladosporium*, *Alternaria* (Figure 6) (Botton *et al.*, 1990).

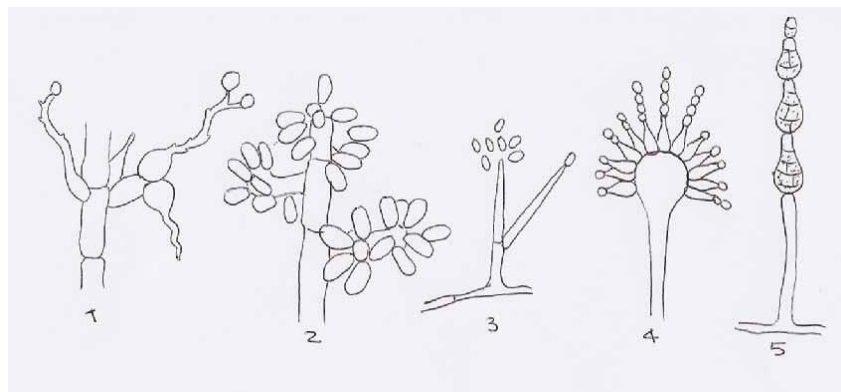


Figure 6: Modes de groupement des conidies des champignons filamenteux

1. grappes (*Beauveria*), 2. masses (*Botrytis*), 3. têtes (*Acremonium*), 4. chaînes basipètes (*Aspergillus*), 5. chaînes acropètes (*Alternaria*).

I.3. Généralités sur les huiles essentielles

I.3.1. Définition et localisation

Les huiles essentielles (HEs) sont des substances volatiles, odorantes, de nature hydrophobe; isolées des plantes soit par entraînement à la vapeur, soit par distillation sèche hydrodistillation ou par expression mécanique approprié sans chauffage (Kalembe et Kunicka, 2003). Elles sont synthétisées au sein des organes et leurs constituants s'accumulent dans les glandes différenciées de ceux-ci, variables selon les familles. Ces glandes peuvent être répandues dans toute la plante. Ainsi, les HEs peuvent se rencontrer au niveau des rhizomes, fleurs, racines, péricarpes des fruits, feuilles, écorces et bois (Bruneton, 1999).

I.3.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction d'une HE consiste à l'isoler de la plante ou d'un organe par une technique appropriée. Le matériel végétal doit au préalable être soumis à des traitements mécaniques tels que: le hachage, râpage, broyage qui facilitent non seulement le transport des matériaux, mais rendent les huiles essentielles beaucoup plus extractibles.

Plusieurs méthodes d'extraction des HEs existent mais la plus utilisée est l'entraînement à la vapeur d'eau. Cette méthode a plusieurs variantes parmi lesquelles l'hydrodistillation qui est utilisée à 80 % pour la production des HEs à cause de son principe simple et efficace (Ndoyé, 2001).

I.3.3. Composition chimique des huiles essentielles

Comme toute substance, les HE se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane moins fréquents (Hellal, 2011). Elles contiennent en faible quantité les composés aliphatiques et d'autres composants tels que les dérivés soufrés (Bruneton, 1999).

Deux voies métaboliques secondaires conduisent à leur biosynthèse: la voie des composés terpéniques et la voie des phényl propanes (Bernard *et al.*, 1988). Dans la voie des composés terpéniques, ce sont des esters pyrophosphoriques en $(C_5)_n$, formés par l'addition d'une unité en C_5 , le pyrophosphate d'isopentényle sur le pyrophosphate de diméthylallyl. Les composés généralement rencontrés sont les monoterpènes (C_{10}), les sesquiterpènes (C_{15}), et rarement les diterpènes (C_{20}). La biosynthèse des phényl propanes se fait via la voie du shikimate et conduit à la formation des composés aromatiques. Une fois synthétisées, les huiles essentielles sont stockées ou transportées vers des organes spécifiques de la plante.

I.3.4. Rôles et propriétés des huiles essentielles

I.3.4.1. Rôles des huiles essentielles dans la plante

Les plantes produisent les HE en tant que métabolites secondaires, dont le rôle dans le processus de vie de ces dernières est diversifié. Certains auteurs pensent que les HE pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation (Bruneton, 1999; Abou Zeid, 2000; Guignard, 2000). D'autres auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement (Bruneton, 1993). Belaiche, (1979) signale que l'utilité des HEs pour les plantes désertiques est liée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques permettent de saturer l'air autour de la plante empêchant, le jour, la température de l'air de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie végétale et la nuit de baisser de façon excessive.

I.3.4.2. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Du fait de leur potentiel thérapeutique, les plantes aromatiques et épices sont utilisées depuis des siècles pour soigner les pathologies courantes (Fekam, 2004; Bankole et Joda, 2004; Kuiaté, 2004). Les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une particularité commune: elles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol possédant des propriétés antibactériennes et antifongiques. Le carvacrol est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres

préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches et l'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires, et dentaires. En plus de ces trois composés, un grand nombre de composés volatils ont été également testés contre une large gamme de champignons: *Candida. albicans*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *P. chrysogenum*, et bien d'autres (Kalemba *et al.*, 2003). De ce fait, la plupart des chercheurs à travers le monde étudient leur potentiel en tant qu'agent de conservation et de protection vis-à-vis des microorganismes d'altération et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (Burt, 2004, Teugwa *et al.*, 2006).

I.4. Généralités sur les plantes étudiées

I.4.1. *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et L. M. Perry

I.4.1.1. Description et taxonomie

Syzygium aromaticum (L.) Merr. et L. M. Perry communément appelée le giroflier, est un arbre tropical appartenant à la grande famille des *Myrtacées*. La famille des *Myrtacées* regroupe plus de 3000 espèces pour la grande majorité tropicale, et toute aromatique. La taxonomie actuelle est la suivante (Barbelet, 2015).

Division: Magnoliophyta

Classe: Angiosperme

Sous classe: Tiporées

Clade: Rosidées

Ordre: Myrtales

Famille: Myrtaceae

Sous famille: Mytoideae

Genre: *Syzygium*

Espèce: *Syzygium aromaticum*

I.4.1.2. Ecologie et botanique

Syzygium aromaticum ou *Eugenia caryophyllata* Thunb est originaire de plusieurs petites îles des Moluques. Les deux pays gros producteurs sont Zanzibar et Madagascar (Pesson et Louveaux, 1984). Le giroflier est un arbre à feuillage persistant pouvant atteindre 12 à 15 cm de haut. Le clou de girofle est un bouton floral qui est récolté puis séché avant son éclosion. Les fleurs apparaissent à l'extrémité des rameaux plusieurs mois avant leur épanouissement. Elles sont petites et groupées en petites cymes dont la longueur totale n'excède pas 4 à 5 cm. Les fruits sont des baies rouges lorsque les fleurs sont fécondées.

I.4.1.3. Utilisation et quelques travaux antérieurs

Les fruits de *Syzygium aromaticum* sont très utilisés comme épice culinaire; ils entrent dans la composition du curry, aromatisent les sauces, la charcuterie et certaines pâtisseries (Zheng *et al.*, 1992). Dans le monde entier, on le mâche pour améliorer l'haleine et prévenir les infections dentaires. En Aromathérapie, l'huile essentielle de girofle seule ou associée est antibactérienne, notamment dans les infections urinaires (cystites, calculs rénaux) et celles du tractus digestif (colite). Antonov *et al.* (1997) ont montré que les huiles essentielles de *S. aromaticum* inhibent la germination des spores et la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* avec des pourcentages d'inhibitions de 67 et 93 % respectivement. Mi-Jin *et al.* (2007) ont montré que l'huile essentielle de *S. aromaticum* inhibe complètement la croissance mycélienne de *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* et *Microsporum gypseum* à une concentration de 0,2 mg/mL. Xing *et al.* (2012) ont montré que l'huile essentielle de *S. aromaticum* pouvait contrôler la pourriture d'oranges causée par *Aspergillus flavus*, *Penicillium citrinum* et *Rhizopus nigricans* avec des CMI de 25 et 50 µL/mL respectivement.

I.4.2. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf

I.4.2.1. Description et taxonomie

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf également appelée *Andropogon citratus* (DC.) ex Nees. appartient à la famille des Poaceae qui comprend environ 660 genres et près de 9000 espèces (Clayton, 1968). La taxonomie est la suivante (Ake-Assi, 2002; Karunamoorthi *et al.*, 2010).

Division: Tracheophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous classe: Magnoliidae

Clade: Tracheaophytes

Ordre: Poales

Famille: Poaceae

Sous famille: Panicoideae

Genre: *Cymbopogon*

Espèce: *Cymbopogon citratus*

I.4.2.2. Ecologie et botanique

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf originaire du sud de l'Inde et du Sri Lanka (Karunamoorthi *et al.*, 2010) est une herbe aromatique vivace à odeur de citron poussant en touffes denses. Ces feuilles peuvent atteindre 90 cm de longueur et 1,25 cm de largeur. Elles

Révue de la littérature

sont isolées, vert-claires, fortement parfumées, longues, effilées et réunies en gaine sur une certaine portion de leurs longueurs. Aussi, le bord des feuilles est hyalins formé de nombreuses petites dents dirigées vers le sommet de la plante. La partie souterraine du *C. citratus* est constituée par un bulbe en rhizome. Bien que cette plante fleurisse rarement, elle possède une hampe florale pouvant atteindre 60 cm de longueur à nombreuses ramifications terminées par des épis agglomérés de couleur verdâtre. *C. citratus* se reproduit par les rhizomes (Iwu, 2014) et se cultive bien dans les régions semitropicales et tropicales (Karunamoorthi *et al.*, 2010).

I.4.2.3. Utilisation et quelques travaux antérieurs

Dans la médecine traditionnelle, l'on utilise *C. citratus* pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Le décocté des feuilles ou l'huile essentielle (HE) est utilisé pour traiter les douleurs gastro-intestinales, la toux, l'herpès, la fièvre, les céphalées, les troubles cardiaques, la drépanocytose, les flatulences, les vomissements, la dyspepsie, l'ictère, l'insomnie, la morsure de serpent, la coqueluche, l'éléphantiasis et la dépression (Ling *et al.*, 2009). Matasyoh *et al.*, (2011) ont montré que l'HE de *C. citratus* inhibait la croissance de cinq moisissures du genre *Aspergillus* isolées du maïs avec des CMI compris entre 15 à 118 mg/mL. Sessou *et al.*, (2012) ont montré que l'HE de *C. citratus* à 1000 mg/L pouvait contrôler la pourriture de cheese wagashi due à *Scopulariopsis brevicaulis*.

*Matériel et
Méthodes*

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Site d'étude

L'évaluation et la caractérisation des pertes après récolte ont été effectuées dans la région du Centre, particulièrement dans le département, du Mbam et Kim (Figure 7) (situé entre 2°47' et 6°5' de latitude Nord et entre 11°40' et 14° de longitude Est). Il est caractérisé par une forêt humide et une pluviométrie bimodale. Le climat est de type "guinéen", avec des températures moyennes de 25°C et une pluviométrie de 1500-2000 mm par an. Ce département est le plus grand bassin de production des ignames de la région du Centre (Agristat, 2010) situé dans la zone agroécologique 5. Il est constitué de cinq arrondissements. Cette étude, s'est déroulée au mois de Juin 2016 précisément dans trois arrondissements (Mbangassina, Ngoro et Ntui) qui sont les grands sites de production.

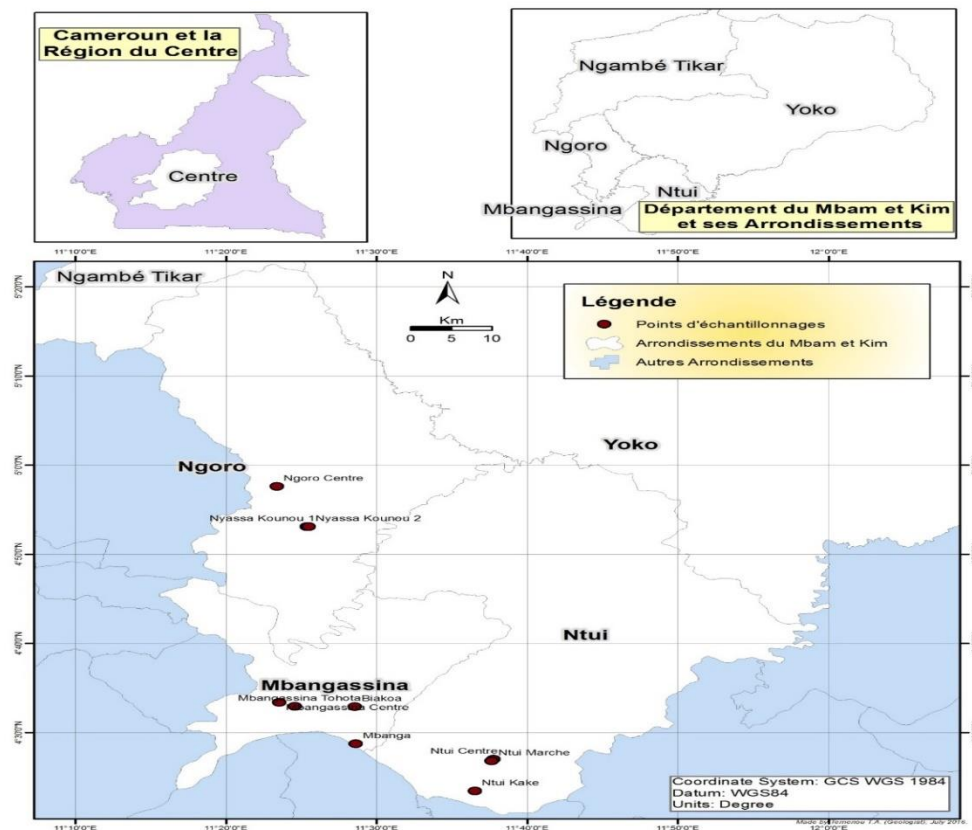


Figure 7: Zone de collecte d'échantillons d'ignames

II.1.2. Matériel végétal

II.1.2.1. Plantes aromatiques utilisées

Les boutons floraux de *Syzygium aromaticum* et des feuilles fraîches de *Cymbopogon citratus* (Figure 8), ont été récoltés au Cameroun et identifiés à l'Herbier National du Cameroun (HNC) (Tableau II).



Figure 8: Boutons floraux de *Syzygium aromaticum* (a) et plant de *Cymbopogon citratus* (b)
Les dates et lieux de récolte de chaque échantillon ainsi que les numéros de référence sont consignés dans le tableau II.

Tableau II: Récapitulatif des informations sur les plantes utilisées.

Plantes	Parties	Date de récolte	Lieux de récolte	Numéro de référence
<i>Syzygium aromaticum</i>	Boutons floraux	16/09/2016	Bangou (Ouest)	506167HNC
<i>Cymbopogon citratus</i>	Feuilles	20/09/2016	Yaoundé (Centre)	48536/SRF/CAM

II.1.2.2. Tubercules d'igname

Deux espèces de *Dioscorea* à savoir *D.rotundata* et *D.alata* ont été utilisées dans cette étude principalement pour l'isolement des agents pathogènes, le test de pathogénicité des isolats obtenus, le test *in situ* et *in vivo*. Les échantillons ont été obtenus près des cultivateurs du département du Mbam et Kim principalement dans les arrondissements de Mbangassina; Ngoro et Ntui. Les échantillons obtenus ont été identifiés à l'Herbier National du Cameroun et conservés sous les numéros 46848HNC et 33516HNC respectivement.

II.1.3. Supports de formulation et caractéristiques

Les supports utilisés pour la formulation des biofongicides à base d'HEs étaient constitués de Tween 80 et de la kaolinite (argile). Cette dernière communément appelée Kaolin a été achetée au marché Mokolo à Yaoundé et séchée à l'ombre au laboratoire, broyée, et tamisée puis conservée dans un flacon en verre. Ses caractéristiques physiques et chimiques déterminées au laboratoire de Pédologie de l'UYI sont consignées dans le tableau III ci-dessous.

Tableau III: Caractéristiques physiques et composition chimique de la kaolinite ($Al_4[Si_4O_{10}](OH)_8$) utilisée

Caractéristiques physiques	Kaolinite
Couleur	Blanche (liée au degré d'impureté)
Texture	Clastique
Taille des particules	Feuillets de 7Å à 2 couches
Composition chimique	Aluminium (Al), Silice (SiO_2), Oxygène (O), Hydrogène (H)

II.2. Méthodes

II.2.1. Enquête sur les pertes post-récoltes des ignames dans le Mbam et Kim et identification des champignons associés aux pourritures d'ignames

II.2.1.1. Collecte d'informations

Les informations ont été collectées à travers un questionnaire structuré (Annexe1) après interview et suivant un entretien de groupe (Figure 9). Les personnes enquêtées ont été choisies de manière aléatoire et interrogées, soit de façon individuelle ou au sein d'un groupe. Ces personnes enquêtées étaient des cultivateurs et/ou vendeurs d'ignames. Les entretiens ont porté sur les espèces les plus cultivées, les méthodes de stockage, la durée de stockage, les quantités perdues au cours du stockage, les causes des pertes et les méthodes utilisées pour prévenir les pourritures. Les données collectées ont été saisies et traitées à l'aide du logiciel Excel.



Figure 9: Collecte des informations sur le terrain

(a) interview d'un cultivateur à Mbangassina, (b) entretien de groupe avec les cultivateurs à Mbangassina et (c) les commerçants au marché de Ntui

II.2.1.2. Evaluation de l'incidence et de la sévérité de la pourriture

Après administration du questionnaire aux enquêtées, un échantillon représentatif d'igname a été collecté dans les sites de stockage repartis dans les trois arrondissements visités. L'échantillonnage a été fait de façon aléatoire. Puis le nombre de tubercules présentant les symptômes a été évalué. L'incidence de la maladie a été évaluée comme étant le nombre de tubercule présentant les symptômes rapporté au nombre de tubercules totaux sélectionnés dans chaque localité suivant la formule décrite par Ezeibekwe *et al.* (2009):

$$Incidence (\%) = \frac{\text{Nombre total de tubercules malades}}{\text{Nombre total de tubercules inspectés}} \times 100 \quad (1)$$

Par la suite quelques tubercules présentant les symptômes de pourriture ont été échantillonnés dans les sacs de polystyrène étiquetés et transportés au laboratoire pour l'évaluation de la sévérité selon l'échelle de Ezeibekwe *et al.* (2016) (Tableau IV).

Tableau IV: Echelle de sévérité

Scores	Dégré de pourriture du tubercule (%)	Etat de la pourriture
0	0%	Sans pourriture
1	1% à 25%	légèrement
2	26% à 50%	modérément
3	51% to 75%	extensive
4	76% to 100%	complètement

L'index de sévérité par la suite a été généré suivant la formule (2) (Ezeibekwe *et al.*, 2016):

$$I_s = \frac{\sum vn}{NV} \times 100 \quad (2)$$

V : le nombre de classe ;

n : le nombre de tubercules assigné à cette classe;

N : le nombre total de tubercules à observer ;

v : la grande valeur de classe de sévérité.

II.2.1.3. Identification des types de pourriture

Les tubercules d'igname présentant les symptômes visibles de pourriture ont été regroupés en fonction du type de pourriture (sèche, molle ou humide) tel que décrit par Amusa *et al.* (2003).

II.2.1.4. Isolement et test de pathogénicité

II.2.1.4.1. Isolement

Les tubercules d'igname (Figure 10) présentant les symptômes de pourriture ont été lavés avec de l'eau distillée puis trempés dans l'eau de javel 2 % pendant 10 min et rincés avec de l'eau distillée stérile. Les fragments de tissu infectés de 2 à 3 mm ont été prélevés à l'aide d'un scalpel stérile au niveau du front de pourriture (interface entre les tissus sains et les tissus pourris) et déposés aseptiquement sur milieu PDA supplémenté au chloramphénicol. Après 2 à 7 jours d'incubation à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, les colonies fongiques développées autour des fragments

Matériel et méthodes

ensemencés ont été prélevées et repiquées individuellement sur de nouveaux milieux PDA jusqu'à obtention d'isolats purs.



Figure 10: Tubercules d'igname présentant les symptômes de pourriture

II.2.1.4.2. Test de pathogénicité

Un test de pathogénicité a été effectué suivant les postulats de Kock afin d'identifier les agents responsables de la pourriture des tubercules collectés (Agiros, 2005). En effet, les tubercules apparemment sains ont été préalablement lavés avec de l'eau distillée et désinfectés à l'eau de javel 2 % comme décrit précédemment et séchés sous la hotte pendant 15 min. A l'aide d'un emporte-pièce de 8 mm de diamètre, des puits de 1 cm de profondeur ont été réalisés de façon équidistante sur les tubercules d'igname. Les disques mycéliens de 6 mm ont été prélevés à la périphérie d'une préculture de 3 jours et introduits dans les différents puits. Ces derniers ont été refermés aseptiquement avec du coton imbibé d'eau (Figure 11). Les tubercules ainsi infectés ont été déposés dans des bacs désinfectés contenant au préalable du papier buvard stérile imbibé d'eau distillée. En ce qui concerne les tubercules témoins, les disques mycéliens ont été remplacés par les disques d'agar. Les bacs ont été couverts à l'aide des plastiques stériles et l'ensemble incubé au laboratoire à 25 ± 2 °C pendant 30 jours au bout desquels les lésions causées par l'infection ont été observées et caractérisées (Okigbo et Emeka, 2010).

Les microorganismes ont été ré-isolés, des lésions induites et comparés aux isolats de départ. Seuls les isolats causant la pourriture telle qu'observée sur les tubercules provenant de l'enquête ont été retenus pour l'identification.



Figure 11: Tubercules d'igname inoculés (test de pathogénicité)

II.2.1.4.3. Production des enzymes hydrolytiques par les agents pathogènes

Afin de mieux appréhender la pathogénicité des agents pathogènes, leur capacité à produire les enzymes hydrolytiques a été évaluée *in vitro* sur milieu solide contenant des substrats spécifiques pour chaque enzyme. Au total, les activités de 4 enzymes (les amylases, cellulases, lipases et protéases) ont été mises en évidence.

II.2.1.4.3.1. Amylases

La détection d'amylase a été réalisée sur milieu *Glucose Yeast Peptone Agar* (Glucose: 1 g; *Yeast extract*: 1 g; *Peptone*: 0.5 g; Agar: 16 g; eau distillée: 1000 mL; pH: 6) additionné d'amidon soluble à 2 %. Les boîtes ont été ensemencées des isolats et incubées à 30°C pendant 4 jours. Après incubation, l'iode (1 %) a été ajouté dans les boîtes par inondation. L'activité hydrolytique a été marquée par l'apparition de zones claires autour des colonies productrices d'amylase. La zone d'hydrolyse a été mesurée et l'index enzymatique calculé (Formule 3) (Liu et Yan, 2008).

II.2.1.4.3.2. Cellulases

La mise en évidence de l'activité cellulolytique, a été effectuée sur le milieu *Yeast Peptone Agar* (*Yeast extract*: 1 g; *Peptone*: 0,5; Agar: 16 g; eau distillée: 1000 mL), supplémenté à 0,5 % Na-carboxymethyl cellulose (CMC). Les boîtes ont été incubées à 28±1°C pendant 4 jours. Après incubation, la solution de rouge congo (0,1 %) a été ajoutée par inondation dans les boîtes. L'activité cellulolytique a été marquée par l'apparition de zones claires autour des colonies productrices de cellulase (Korish, 2003).

II.2.1.4.3.3. Lipases

La production de lipases a été détectée par culture des isolats sur milieu *Peptone Agar* additionné du rouge phénol 0,01 % à pH 6,0. L'ensemble a été supplémenté au tween 80, 1 % (v/v) après stérilisation. Après 4 jours d'incubation le changement de coloration du rouge phénol au jaune en formant un halo autour des colonies a indiqué la production de la lipase (Schoofs *et al.*, 1997). Le diamètre de l'halo a été mesuré.

II.2.1.4.3.4. Proteases

La capacité des isolats à produire les protéases a été évaluée suivant la méthode de Saran *et al.*, (2007). Les explants ont étéensemencés sur milieu SMA (*Skim Milk Agar*) (5 g de *skim milk*; 10 g d'agar-agar dissoudre dans 100 mL d'eau distillée, et 300 mL de 0,1 M Citrate Phosphate à pH 6,0). Les boîtes ont été incubées pendant 3 jours à 37°C. L'apparition d'un halo blanc autour de la colonie traduit la production de la protéase par le pathogène et le diamètre de l'halo a été mesuré.

II.2.1.4.3.5. Détermination des index enzymatiques

Les essais ont été réalisés en triplicate et les index de l'activité enzymatique (IAE) ont été calculés suivant la formule 3 établie par Liu et Yan, (2008):

$$IEA=[a+b]/a \quad (3)$$

a: le diamètre de l'isolat; *b*: le diamètre de l'halo.

II.2.1.4.4. Identification des phytopathogènes

II.2.1.4.4.1. Identification morphologique

L'identification morphologique des agents pathogènes a été faite sur la base des caractéristiques culturales et microscopiques telles que décrites par Guiraud, (1998) et Chabasse *et al.*, (2002). Les observations macroscopiques ont porté sur l'aspect général de la colonie sur milieu PDA, la coloration ou non du revers de la colonie, l'aspect du mycélium. Les observations microscopiques ont porté entre autre sur la forme des spores, des phialides et du mycélium.

II.2.1.4.4.2. Identification moléculaire des pathogènes

II.2.1.4.4.2.1. Extraction de l'ADN génomique

Dans le but d'extraire l'Acide Désoxyribo Nucléique (ADN) des moisissures pathogènes, 200 mg de mycélium d'une culture vieille de 72 heures ont été raclés et introduits dans les tubes Eppendorf stériles. Les billes magnétiques y ont été introduites et l'ensemble

homogénéisé puis introduit dans de l'azote liquide pendant 5min. Les tubes ont par la suite été agités à 5000 mpp/tr pendant 45 secondes. L'ADN libéré a été récupéré suivant les instructions du kit commercial «*PowerLyser^R PowerSoil^R DNA isolation Kit*».

II.2.1.4.4.2.2. Amplification par *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Cette expérience a consisté à multiplier par la technique de PCR la quantité d'ADN extraite de chaque agent pathogène. Les amorces utilisées étaient des amorces universelles ITS3 et ITS4 (tableau V), synthétisées par Oligo Express.

Tableau V: Caractéristiques des amorces utilisées (White *et al.*, 1990)

Amorces	Séquences (5'-3')	Longueur	Tm (°C)	GC (%)
ITS-3	GCATCGATGAAGAACGCAGC	20	53	58
ITS-4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	20	50	45

Dans un tube Eppendorf de 0,5 ml contenant 25 µl d'un mélange constitué de 5 µl de tampon Taq polymérase (7,5 µl de MgCl₂), 0,5 µl de désoxyribonucléotides, 0,5µl d'amorce ITS3 et 0,5µl d'amorce ITS4, 0,2 µl de Taq polymérase (Pfu DNA polymerase) et 15,8 µl d'eau distillée stérile ont été ajoutés 1µl d'ADN génomique. La réaction d'amplification a été faite dans le thermocycleur (T3000, Biometra^R) en 35 cycles selon la procédure suivantes: une étape de dénaturation à 95°C pendant 0,5 min, suivie par une étape d'appariement des amorces avec la matrice d'ADN à 49°C pendant 0,5 minutes et enfin une étape d'élongation à 72°C pendant 2 minutes.

II.2.1.4.4.2.3. Electrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse a été réalisée sur un gel d'agarose 0,8 % supplémenté au Bromure d'Ethidium dans un tampon 1x TBE. Après 30min de migration à 120 v, le gel a été déposé sous une lampe ultraviolette afin d'observer les bandes d'ADN fluorescentes obtenues en utilisant l'appareil Fotodyne software. La taille et la concentration des différentes bandes ont été déterminées en comparaison avec les marqueurs de poids moléculaires (*DNA maker, Gene Ruler DNA Ladder Mix*).

II.2.1.4.4.2.4. Séquençage des amplicons et analyse phylogénétique

Les produits issus de l'amplification ont été séquençés de manière unidirectionnelle (ITS3) suivant la méthode de Sanger (Sambrook *et al.*, 1989). Après séquençage, l'algorithme BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) a été utilisé pour trouver les séquences semblables à celles obtenues à partir d'isolats fongiques. Pour cela les séquences ont été

comparées avec celles d'isolats de référence fiables, présent dans les bases de données de nucléotides publiques NCBI/GenBank. Un dendrogramme a été réalisé avec les séquences nucléotidiques des agents pathogènes et celles des souches de référence déposées dans les collections du *Central Bureau voor Schimmel cultures* (CBS) et de l'*American Type Culture Collection* (ATCC). Les séquences ont été alignées à l'aide de Clustal X 2,1, et le dendrogramme a été réalisé avec le logiciel MEGA 6,06 utilisant la méthode de *Neighbor-joining* avec le paramètre Kimura 2 distances. Les écarts d'alignement ont été traités comme des informations manquantes partielles, et la robustesse des classifications a été estimée par 500 répliques bootstrap. Des groupes de séquences à proximité étroite au sein de la même branche du dendrogramme ont été alignés individuellement pour déterminer leur pourcentage de similitude. Les séquences ayant une similitude supérieure à 98% avec les séquences de référence ont été considérées comme appartenant à la même espèce.

II.2.2. Etude de la composition chimique des HE de *Cymbopogon citratus* et *Syzygium aromaticum* et activité antifongique vis-à-vis des phytopathogènes

II.2.2.1. Extraction et analyse des huiles essentielles

II.2.2.1.1. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été extraites par hydro-distillation utilisant un appareil de type Clevenger. Pour toute extraction 500 g de matériel végétal ont été introduits dans un réacteur contenant un volume d'eau représentant 2 à 3 fois son poids. Un Clevenger (Annexe 2) a été adapté et le réacteur mis à ébullition (environ six heures) sur une calotte chauffante. A la fin de la distillation, l'HE a été séparée de l'eau par décantation, recueillie et séchée sur une colonne de sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄), puis pesée et conservée dans un flacon sombre à 4°C à l'abri de la lumière.

Le rendement d'extraction exprimé en pourcentage par rapport à la masse du matériel végétal de départ, a été calculé selon la formule 4 ci-dessous:

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'huile essentielle (g)}}{\text{Masse du matériel végétal (g)}} \times 100 \quad (4)$$

II.2.2.1.2. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles

L'analyse de la composition chimique a été faite par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG), couplée à la Spectrométrie de Masse (SM).

Mode opératoire de la CPG/SM

Les analyses CPG/SM ont été effectuées avec un four Focus GC (Thermo), équipé d'une colonne TG-5MS5MS de 30 m de long, 0,25 mm de diamètre intérieur et recouvert d'un film de 0,25 μm d'épaisseur. La détection a été effectuée à l'aide d'un spectromètre de masse simple quadripôle DSQ II (Thermo) équipé d'une source EI (énergie d'ionisation: 70 eV). Les injections se sont effectuées en mode SPLIT (Ratio: 1/100). Les conditions de manipulation étaient les suivantes:

- programmation de température 60-200°C à 10°C/min,
- température d'injection 220°C,
- débit du gaz vecteur (hélium) est 1,2 mL/min,
- volume de l'injection: 0,1 μL d'une solution d'huile essentielle diluée à 10 % dans le dichlorométhane.

Au fur et à mesure que la température du four monte, l'intégrateur-enregistreur enregistre les différents composés élués sous forme de pics caractérisés chacun par un temps de rétention et une aire. Le détecteur de masse placé à la sortie de la colonne permet l'obtention des spectres de masse pour chacun des constituants élués. On obtient ainsi en fin d'analyse un chromatogramme du mélange et un spectre pour chacun de ses constituants. La comparaison des spectres obtenus avec ceux de la littérature a permis d'identifier les constituants du mélange (Adams, 2007).

II.2.2.2. Activité antifongique in vitro des huiles essentielles

L'activité antifongique *in vitro* des HEs de *C. citratus* et *S. aromaticum* a été effectuée sur le mycélium et la germination des spores des agents pathogènes virulents (MB9, NT13, MB6, NT1 et NG6).

II.2.2.2.1. Activité antifongique in vitro des HEs sur le mycélium

L'activité antifongique des HEs sur la croissance mycélienne a été faite par la méthode d'incorporation à la gélose telle que décrite par Lahlou, (2004). Les paramètres d'activité antifongique à savoir le pourcentage d'inhibition et la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des HEs ont été déterminés.

– Préparation des solutions mères d'huiles essentielles et d'antifongique de référence

Un millilitre de solution mère de chaque HE a été préparé en solubilisant un volume d'HE dans un volume de tween 80 (0,5 %) dans les proportions 1/9 V/V. Le Ridomil 72 WP a

été utilisé comme antifongique de référence. La solution stock a été préparée à la concentration de 3,33 mg/mL suivant les recommandations du fabricant. Toutes les solutions ont été préparées dans les conditions de stérilité.

– **Incorporation à la gélose**

Le milieu de culture PDA a été préparé suivant les instructions du fabricant (Annexe 3), autoclavé à 121°C pendant 30 min et maintenu en surfusion (40-45°C) dans un bain marie. Les volumes précis d'HE prélevés des solutions mères d'HE ont été dilués dans des volumes de milieu PDA appropriés afin d'obtenir des concentrations bien précises dans les solutions finales de 10 mL. Les solutions ainsi préparées ont été coulées dans les boîtes de Petri de 90 mm et laissées sous la hôte jusqu'à solidification. La gamme de concentration était de 5 à 0,156 mg/mL pour *S. aromaticum*, *C. citratus* et le Ridomil. Le témoin négatif a été préparé dans les mêmes conditions sans ajout de solution inhibitrice.

– **Ensemencement des champignons**

Après solidification du milieu, un disque mycélien de 7 mm de diamètre a été prélevé à la périphérie d'une préculture vieille de trois jours à l'aide d'une anse stérilisée et placé au centre de boîtes de Petri coulées précédemment. Les boîtes ont été par la suite incubées pendant 7 jours à 25°C en position renversée. Au terme de l'incubation, le diamètre de la croissance mycélienne a été mesurée suivant deux lignes perpendiculaires tracées au revers des boîtes (Figure 12) (Lourougnon *et al.*, 1991).

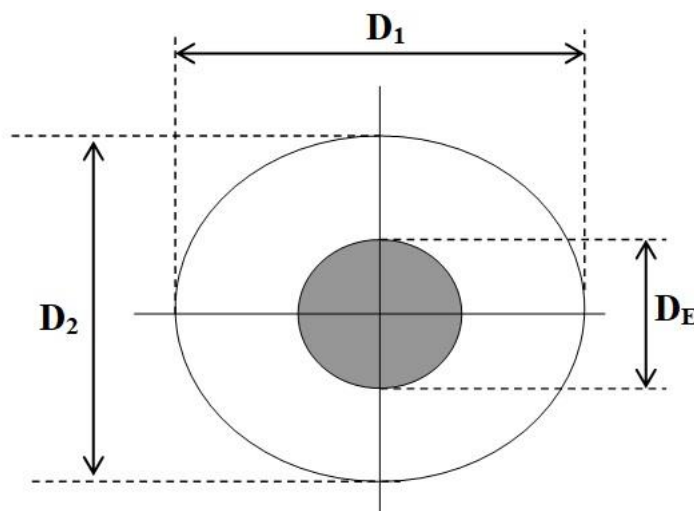


Figure 12: Illustration de la mesure des diamètres de croissance sur la boîte de Petri.

$$D = \frac{D_1 + D_2}{2} - D_E \quad (5)$$

D_1 et D_2 sont les deux diamètres perpendiculaires de croissance mycélienne;

D_E est le diamètre de l'explant;

D représente le diamètre moyen de la croissance mycélienne.

– **Détermination du pourcentage d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice des HE**

L'activité antifongique des HEs a été évaluée en calculant le pourcentage d'inhibition de chaque concentration testée en utilisant la formule (6) ci-dessous et la concentration minimale inhibitrice CMI a été notée:

$$\% I = \frac{D_t - D_x}{D_t} \times 100 \quad (6)$$

$\% I$ = Pourcentage d'inhibition;

D_t = Diamètre moyen de la croissance mycélienne dans la boîte témoin négatif;

D_x = Diamètre moyen de la croissance mycélienne dans la boîte essai.

Après incubation, la plus petite concentration d'HE ne permettant pas d'observer de croissance visible de l'explant a été considérée comme la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

II.2.2.2.2. Evaluation de l'activité antifongique des HEs sur la germination des spores

Elle a été faite par la méthode de micro dilution utilisant le protocole tel que décrit par Toghueo *et al.*, (2016). Les essais ont été effectués dans des microplaques de 96 puits et le milieu de culture, *Patato Dextrose Broth* (PDB) utilisé a été supplémenté au chloramphénicol préparé suivant les recommandations du fabricant (Annexe 3).

Le milieu liquide PDB a été stérilisé puis 100 μ L ont été introduits dans chaque cupule de la plaque. Dans les premières cupules, 100 μ L de la solution d'HE ont été ajoutés, ensuite une série de 7 dilutions décroissantes de premier terme 5 mg/mL et de dernier terme 0,078 mg/mL, obéissant à une progression géométrique de raison 2 pour chaque HE a été effectuée. Par la suite, 100 μ L de la suspension microbienne de charge $2,5 \times 10^5$ UFC/mL ont été introduits dans les cupules de la plaque à l'exception des cupules de la colonne du blanc. Les essais avec le Ridomil ont été préparés de la même manière que les HEs. Le contrôle négatif a été constitué

uniquement du milieu de culture et de la suspension microbienne. Les tests ont été réalisés en triplicate. Les plaques ont été incubées à 25°C pendant 48 heures. Au terme de l'incubation, les densités optiques ont été lues à 405 nm (Meletiadis *et al.*, 2001) au lecteur de plaque (Tecan Infinite M200).

– **Détermination des paramètres d'activité**

A partir des densités optiques obtenues, les pourcentages d'inhibitions ont été calculés (Annexe 5) suivant la formule (7):

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{DOc-DOt}{DOc} \times 100 \quad (7)$$

% Inhibition: Pourcentage d'inhibition;

DOc: Densité optique contrôle négatif;

DOt: Densité optique test.

La plus petite concentration présentant un pourcentage d'inhibition de 100 % a été considérée comme étant la CMI.

II.2.2.2.3. Activité des combinaisons des huiles essentielles: détermination de l'Index de Concentration Inhibitrice Fractionnelle (ICIF)

L'étude de l'interaction entre les deux HEs a été effectuée par la méthode de microdilution Checkerboard décrite par Berenbaum, (1978) schématisée en annexe 4 suivie de quelques modifications.

Une première plaque a été préparée en introduisant 50 µL de milieu de culture dans toutes les cupules et 50 µL de solution d'HE₁ (*S. aromaticum*) de concentration 16 CMI uniquement dans les premières cupules. Puis, une série de dilution géométrique d'ordre 2 a été réalisée. Par la suite, une seconde plaque a été préparée pour effectuer les dilutions de l'HE₂ (*C. citratus*) de concentration 16 CMI. Le Checkerboard a donc été réalisé en complétant la première plaque (HE₁) à 100 µL par ajout de 50 µL du contenu de la deuxième plaque (HE₂). Un volume de 100 µL d'inoculum calibré à la charge 2×10⁵ UFC/mL a été introduit dans les différentes cupules. Le contrôle négatif a été constitué uniquement du milieu de culture et de la suspension microbienne. Les plaques ont été incubées à 25°C pendant 48 heures. Les plus petites combinaisons de concentrations ne permettant aucune croissance visible au terme de l'incubation ont été retenues comme les CMIs des HEs impliquées dans la combinaison et ont ainsi permis de calculer les différentes concentrations inhibitrices fractionnelles (CIF) (formule

8 et 9). Afin de déterminer l'effet des HEs combinées sur l'activité, les Index de Concentrations Inhibitrices Fractionnelles (ICIF) ont été calculés (formule 10) à partir de la somme des CIFs.

$$CIF_1 = \frac{\text{CMI de l'HE}_1 \text{ dans la combinaison}}{\text{CMI de l'HE}_1 \text{ testée seule}} \quad (8)$$

$$CIF_2 = \frac{\text{CMI de l'HE}_2 \text{ dans la combinaison}}{\text{CMI de l'HE}_2 \text{ testée seule}} \quad (9)$$

$$ICIF = CIF_1 + CIF_2 \quad (10)$$

Les valeurs des moyennes des ICIF obtenues ont permis de déterminer le type d'interaction tel que décrit par Van Vuuren et Viljoen, (2011):

- $ICIF \leq 0,5$ indique une interaction synergique ;
- $0,5 \leq ICIF \leq 1$ indique un effet additif;
- $1 \leq ICIF \leq 4$ indique une indifférence ou pas d'interaction;
- $ICIF > 4$ indique une interaction antagoniste.

II.2.3. Evaluation du potentiel bioprotecteur des combinaisons et effet sur quelques paramètres nutritionnels des tubercules d'igname

II.2.3.1. Activité antifongique *in situ*

L'évaluation de l'activité antifongique *in situ* des HEs a été faite suivant le protocole de Obilo et *al.*, (2005). La combinaison HE d'intérêt et l'agent pathogène (NT1), le plus virulent ont été utilisés.

- Préparation d'HE

Des volumes précis de chacune des HEs ont été prélevés et dilués dans du tween 80 à 0,5 % de façon à obtenir des solutions finales A et B contenant des concentrations finales de 20 mg/mL (*C. citratus* / *S. aromaticum*) de chacune des HEs pour la solution A et 40 mg/mL de chacune des HEs pour la solution B.

- Préparation de l'inoculum

L'inoculum a été préparé en inondant 10 mL d'eau distillée sur la surface mycélienne d'une culture de *Penicillium monomenatosum* (NT1) âgée de 7 jours. La surface du mycélium ainsi inondée a été raclée à l'aide d'un étaleur stérile. La suspension a été récupérée à l'aide d'une micropipette stérile et introduite dans un flacon stérilisé. Ensuite la suspension a été

Matériel et méthodes

centrifugée à 10000 tr/min pendant 10 min. Le surnageant contenant les spores a été recueilli et la charge de la suspension des spores obtenue a été calibrée à l'aide d'une cellule de Malassez puis ajusté à 4×10^5 UFC/mL par ajout d'eau distillée stérile.

– Préparation des tranches d'ignames

Les tubercules apparemment sains de *D. rotundata* après lavage à l'eau distillée, ont été désinfectés à l'aide de l'hypochlorure de sodium 2 % pendant 10 min puis rincés 2 fois à l'eau distillée stérile. Ensuite, les tubercules stériles ont été découpés en tranches de 5 cm d'épaisseur à l'aide d'un couteau stérile puis déposés dans des bacs en plastique stérile contenant du papier buvard imbibé d'eau distillée stérile. Les bacs ainsi préparés ont été répartis en deux lots pour le test curatif et le test préventif.

– Application des HEs et inoculation

Un volume de 1 mL des solutions A et B précédemment préparé a été appliqué sur les papiers Whatman N°1 (diamètre 4,5 cm) (Lazar-Baker *et al.*, 2010). Les papiers ainsi saturés en HEs ont été disposés dans les bassines 2 jours avant inoculation pour le test préventif et 2 jours après inoculation pour le test curatif. L'inoculation quant à elle a été faite en prélevant 1 mL de la suspension sporale précédemment préparée et introduite dans les puits d'un millimètre de diamètre réalisé à la surface des fragments (Figure 13).

Les tubercules constituant le contrôle négatif ont reçu l'inoculum sans aucun traitement, tandis que le contrôle positif a reçu uniquement de l'eau distillée stérile. L'ensemble a été couvert à l'aide d'un plastique stérile transparent scellé et incubé à 25°C pendant 15 jours. Tous les tests ont été réalisés en duplicate.

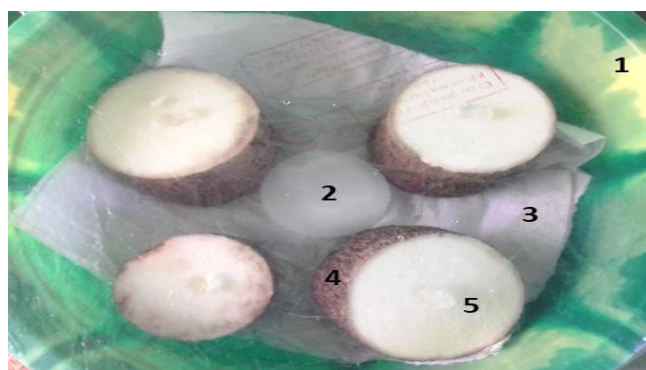


Figure 13: Tranches de tubercules inoculées avec les suspensions de spores et disposées dans les bacs humidifiés:

1: bassine; 2: papier whatman; 3: papier buvard; 4: tranche d'igname; 5: point d'inoculation.

– **Evaluation des paramètres d'efficacité de la combinaison d'HE**

L'effet de la combinaison d'HE sur la pourriture des fragments de *D.rotundata* a été noté 3, 6, 9, 12, 15 jours après inoculation. L'incidence (Ic) a été évaluée comme étant le pourcentage du nombre de tranches de tubercule présentant les symptômes de la pourriture rapporté au nombre de tranches de tubercule total.

$$Ic = \frac{\text{Nombre de tubercules présentant les symptômes}}{\text{Nombre de tubercules total}} \times 100 \quad (11)$$

Ensuite l'Index de Réduction de la Pourriture (IRP) a été calculé suivant la formule (12) d'Amadioha, (1996) ci-après.

$$IRP = \frac{\% \text{ Incidence dans le contrôle} - \% \text{ Incidence dans le traitement}}{\% \text{ Incidence dans le contrôle}} \quad (12)$$

II.2.3.2. Formulation des biopesticides à base de la meilleur combinaison

II.2.3.2.1. Préparation des formules

La formulation à base du tween comme support a été préparée en dissolvant pour 10 mL de solution, 4,6 mL de l'HE de *S. aromaticum* et 3,7 mL de l'HE de *C. citratus* dans un 1,7 mL de tween. L'ensemble a été agité vigoureusement et introduit dans un flacon opaque pour utilisation ultérieure. Tandis que la formulation faite à base de kaolinite a été préparée en mixant les mêmes volumes d'HEs précédemment prélevés dans 32,7 g de kaolinite de façon à obtenir une formule (poudre) contenant les HEs à une concentration finale de 27,15 % (p/p). La formule obtenue a été utilisée pour le test.

II.2.3.2.2. Evaluation du pouvoir protecteur des formulations dans un modèle de conservation semi-controlé

Le potentiel protecteur des formulations a été investigué sur les tubercules entiers suivant un modèle d'entreposage en condition semi-naturel créée dans le contexte de cette étude pendant 8 semaines (Al-Mughrabi *et al.*, 2013).

– **Préparation des tubercules**

Les tubercules mesurant 8 à 12 cm de longueur et environ 5 à 6 cm de diamètre ont été utilisés. Les tubercules ainsi sélectionnés ont été stérilisés selon (Okigbo et Emeka, 2010). Quatre puits de 1 mm de profondeur et de 2 mm de diamètre ont été réalisés à la surface des

tubercules à l'aide d'un emporte-pièce stérilisé. Les tubercules ainsi préparés ont été disposés dans les coffres parallélépipédique en bois (Dimensions 40 cm×50 cm) désinfectés (Figure 14) .



Figure 14: Coffres d'entreposage contenant les différents traitements

– **Inoculation et traitements**

L'inoculum a été préparé comme dans le cas du test *in situ*, 3 mL de la suspension ainsi préparés ont été pulvérisés de manière homogène sur les tubercules précédemment préparés et laissés séchés pendant 10 min dans les coffres. Le dispositif expérimental était un factoriel de 2×2 constitué de deux formulations d'HE (tween 80 et kaolinite). Egalement des contrôles à savoir le contrôle constitué du pathogène seul et le contrôle non infecté. Chacun des lots étant constitué de 20 tubercules en duplicate. Les bacs ont été couverts et entreposés pendant deux mois.

– **Evaluation des paramètres d'efficacité des formulations**

L'effet des formulations sur la pourriture des fragments de *D. rotundata* a été évalué 2, 4, 6, 8 semaines après inoculation. L'incidence (Formule 11) et l'index de réduction de la pourriture (IRP) (Formule 12) ont été déterminés comme précédemment.

II.2.3.2.3. Evaluation de l'effet des formulations sur la valeur nutritionnelle des tubercules

II.2.3.2.3.1. Préparations des échantillons

Les ignames des lots traités et celles du lot contrôle ont été épluchées, découpées en rondelles et séchées à 45°C dans une étuve memmerl pendant 24 heures. Les cossettes obtenues ont été broyées à l'aide d'une moulinette manuelle. Les poudres obtenues ont été utilisées pour les différentes analyses.

II.2.3.2.3.2. Détermination de la matière sèche

La matière sèche ou résidu total est l'ensemble des substances qui ne se volatilisent pas dans les conditions de dessiccation définies par la méthode utilisée. La détermination de la matière sèche a été effectuée par la méthode de AFNOR, (1982). Une masse M (100 g) de l'échantillon frais a été séchée à 105°C jusqu'à poids constant dans une étuve Hereaus pendant 24 heures. Les tests ont été faits en triplicate. Le résidu sec total ou matière sèche (MS) a été exprimé en pourcentage de matière fraîche selon la formule (13):

$$\% \text{ MS} = [(M_2 - M_0)/(M_1 - M_0)] \times 100 \quad (13)$$

M_0 : masse en gramme de la capsule vide;

M_1 : masse en gramme de la capsule contenant la prise d'essai avant étuvage;

M_2 : masse en gramme de la capsule contenant la prise d'essai après l'étuvage;

II.2.3.2.3.3. Détermination de la teneur en cendres totales

Les cendres totales ont été quantifiées par la méthode décrite par AFNOR, (1981). Elle consiste à incinérer complètement un échantillon jusqu'à obtention des cendres blanches dans un four Hereaus à moufle réglé à 550 °C. Pour cela, les creusets en porcelaine contenant les échantillons issus de l'étuvage à 105±2 °C (M_2) ont été placés dans le four. Après incinération pendant 24 heures, ces creusets ont été retirés du four à l'aide des pinces, puis refroidis dans l'atmosphère d'un dessiccateur et pesés (M_3).

La teneur en cendres par 100 g de MS a été calculée suivant la formule (14):

$$\text{Cendre (g/100 gMS)} = [(M_3 - M_0)/(M_2 - M_0)] \times 100 \quad (14)$$

M_0 est la masse de la capsule vide. Les résultats sont la moyenne de trois répétitions.

II.2.3.2.3.4. Détermination de la teneur en lipides

Les lipides ont été extraits au Soxhlet selon la méthode Russe décrite par Bourelly, (1982). La prise d'essai a été séchée à l'étuve à 105 °C et broyée dans le mortier en porcelaine, et introduite dans les sachets de papiers filtre séchés et tarés. L'extraction de l'huile a été effectuée au Soxhlet avec l'hexane pendant 12 heures. La teneur en huile a été déterminée à 0 % d'humidité par la différence de poids du sachet avant et après l'extraction complète des lipides. La teneur en huile, h pour 100 g d'échantillon exprimée à 0 % d'humidité est donnée par la formule suivante:

$$h = [(P_1 - P)/(P_1 - P_2)] \times 100 \quad (15)$$

P_1 : le poids du sachet plein renfermant la prise d'essai avant son traitement (papier+prise d'essai);

P : le poids du sachet plein renfermant la prise d'essai après extraction d'huile (papier+prise d'essai+huile);

P_2 : le poids du sachet filtre vide.

II.2.3.2.3.5. Détermination des teneurs en fibres brutes

La teneur en fibres brutes des échantillons a été déterminée par la méthode de Weende (Wolff, 1968). Cette méthode consiste à traiter l'échantillon à ébullition par l'acide sulfurique et ensuite par la soude. Le résidu obtenu est séché puis calciné et pesé. En effet, une quantité M d'échantillon a été introduite dans un bécher contenant 30 mL d'acide sulfurique 0,255 N. Le mélange est ensuite porté à ébullition pendant 30 minutes puis filtré. Au résidu a été ajouté 30 mL de soude 0,313 N, puis le mélange a été à nouveau porté à ébullition pendant 30 minutes. Après filtration, le résidu a été lavé 3 fois à l'eau distillée chaude et 2 fois à l'acétone, l'insoluble obtenu est séché à 105 °C pendant 8 heures et pesé (M_1). Ce résidu sec a été soumis à une incinération à 550 °C pendant 3 heures et les cendres ont été pesées (M_2).

La teneur en fibres brutes (g/100 g MS) est donnée par la relation suivante:

$$F = (M_1 - M_2) \times 100 \times 100 / [M \times (100 - T_e)] \quad (16)$$

T_e : la teneur en eau des échantillons

II.2.3.2.3.6. Détermination des teneurs en protéines

Les protéines ont été dosées par la méthode colorimétrique de Devani *et al.* (1989), après minéralisation de 1g l'échantillon selon la méthode de Kjeldahl (AFNOR, 1984). C'est une méthode basée sur la réaction de l'ammoniac avec l'acétylacétone et le formaldéhyde en milieu aqueux pour donner un produit jaune, le 3,5-diacétyl-1,4-dihyrolutidine (Figure15). Le composé formé présente un maximum d'absorption à 412 nm et peut être dosé par spectrométrie. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en azote. Les solutions ont été préparées tel qu'indiqué à l'annexe 9 ainsi que la gamme d'étalonnage.

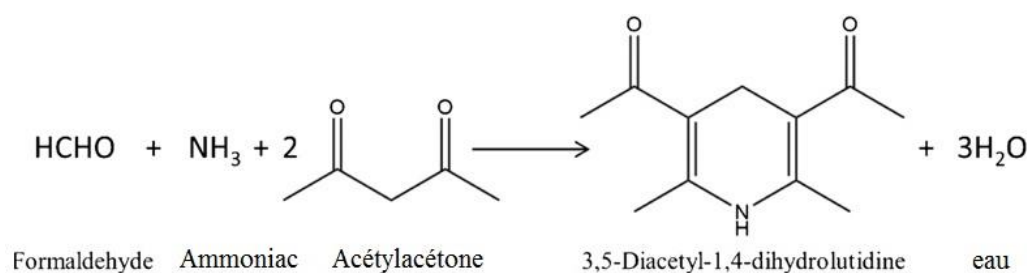


Figure 15: Réaction de l'ammoniac avec l'acétylacétone et le formaldéhyde en milieu aqueux (réaction de Hantzsch)

La quantité d'azote dans chaque essai (Q) a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage d'équation de régression $DO=aq+b$

$$Q = \left[\frac{q \times F \times 100}{MS \times m} \right] \times 100 \quad (17)$$

La formule (17) est utilisée pour exprimer les résultats en $g/100 \text{ g MS}$

F : le facteur de dilution;

m : la masse d'échantillon minéralisé;

MS : la matière sèche de l'échantillon analysé.

Le coefficient conventionnel de conversion (6,25) de l'azote en protéines a été utilisé pour convertir l'azote en protéines (AOAC, 1975). La teneur en protéines brutes totales est donc:

$$P = 6,25 \times Q (g/100gMS) \quad (18)$$

II.2.3.2.3.7. Détermination des teneurs en glucides totaux

Les sucres solubles et les sucres totaux ont été extraits et dosés selon la méthode décrite par Fischer et Stein, (1961). En milieu alcalin et à chaud, le DNS réagit avec les sucres solubles et passe de sa forme oxydée jaune à sa forme réduite orangée présentant un maximum d'absorption à 530 nm . La coloration est proportionnelle à la longueur d'onde et permet de quantifier les sucres totaux en solution (Figure 16). Le blanc a été préparé en faisant un mélange du substrat et du borate de sodium avant l'ajout de l'enzyme. La gamme d'étalonnage a été préparée et le dosage des échantillons a été effectué comme indiqué à l'annexe 10.

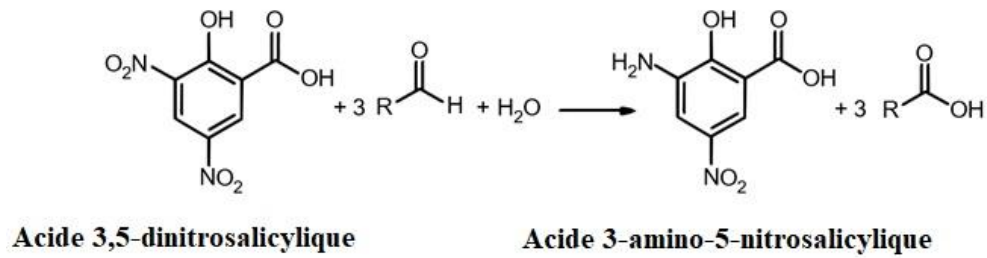


Figure 16: Equation de la réaction de réduction du DNS lors du dosage des sucres réducteurs.

La quantité de sucres réducteurs de chaque prise d'essai a été déterminée en se reportant sur la courbe d'étalonnage d'équation de régression: $DO = aQ + b$

DO: Densité Optique;

Q : Quantité de sucres réducteurs;

a, b : Constantes à déterminer.

II. 3. Analyses statistiques

L'analyse statistique des résultats a été faite à l'aide du logiciel GraphPad Prism 5.0. Les données exprimées en moyennes ont été statistiquement analysées par ANOVA (analyse de la variance) en utilisant le test de Duncan au seuil de probabilité 5 % et les relations entre facteurs étudiés grâce à la corrélation de Pearson. Le logiciel Microsoft EXCEL 2013 a permis de tracer les graphes.

*Résultats et
Discussion*

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Pertes post-récoltes des ignames et identification des champignons associés aux pourritures d'ignames

III.1.1.1. Caractérisation socio démographique de la population cible

Quatre vingt-une personnes constituées à 86,25 % des femmes et 13,75 % des hommes ont été interrogées, soit de façon individuelle ou collective. Les personnes enquêtées étaient constituées à 30 % des cultivateurs et 70 % étaient à la fois des cultivateurs et commerçants. La majorité de personnes enquêtées avait un âge supérieur à 20 ans. La tranche d'âge comprise entre 31 et 60 ans, était la plus représentée avec un pourcentage de 60 %. La tranche d'âge la moins représentée était celle comprise entre 61 et 77 ans (10 %).

III.1.1.2. Espèces d'ignames les plus cultivées

Les informations concernant les espèces cultivées dans toutes les localités visitées du Mbam et Kim sont mentionnées dans le tableau VI.

Tableau VI: Espèces d'ignames les plus produites

Raisons	Espèces	Ntui	Ngoro	Mbangassina	% de paysans
Bon rendement	<i>D. rotundata</i>	7	6	17	37,03
	<i>D. alata</i>	5	4	7	19,75
Qualité organoleptique	<i>D. rotundata</i>	3	6	15	29,62
	<i>D. alata</i>	3	2	6	13,58

Il ressort du tableau VI que *D. rotundata* est l'espèce la plus cultivée soit pour son meilleur rendement (37,03 %), soit pour les propriétés organoleptiques (29,62 %). *D. alata* quant à elle est cultivée pour ses qualités organoleptiques par 13,58 % des paysans et pour son rendement de production par 19,75 %.

III.1.1.3. Les méthodes de stockage

Quatre méthodes de stockage sont utilisées par les producteurs d'ignames dans les localités visitées. Ces méthodes sont illustrées par la figure 17 ci-contre.

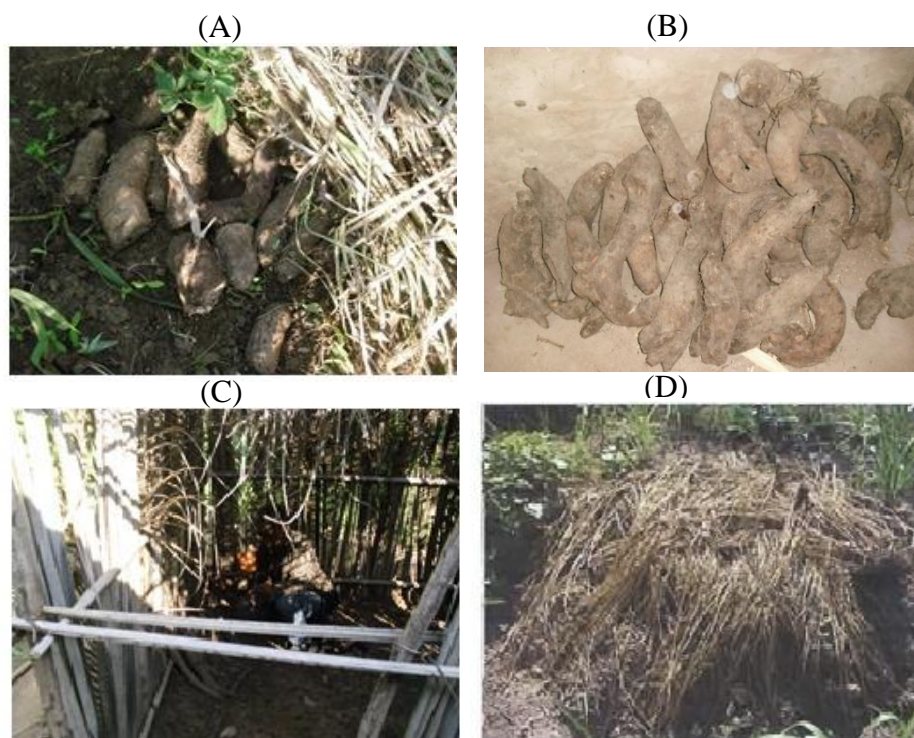


Figure 17: Méthodes de stockage des tubercules d'igname rencontrées lors de l'enquête: (A) Tas couvert de pailles, (B) Magasin, (C) Hangar, (D) fosse couverte de terre et de pailles.

La figure 17 montre que dans le Mbam et Kim, les tubercules d'igname sont stockés, en tas couverts de pailles, dans une fosse couverte de terre et de pailles, au magasin à l'air libre ou dans les hangars. Le pourcentage de paysans utilisant chacune des méthodes en fonction des localités est mentionné dans le tableau VII.

Tableau VII: Méthodes de stockage en fonction des arrondissements

Méthodes de stockage	Arrondissements			
	Ntui	Ngoro	Mbangassina	Totaux
Tas couvert de pailles	11,11	13,58	17,99	45,67
Fosse couverte de terre et de pailles	2,47	1,23	11,11	14,81
Magasin	6,17	6,17	19,75	32,09
Hangar	/	/	1,23	1,23
Aucune	2,47	1,23	2,47	6,17

Les données du tableau VII révèlent que la méthode de stockage de tas couvert de pailles est la plus utilisée quelque soit la localité. De façon globale 45,67% de paysans stockent les tubercules en tas couvert de pailles. Le hangar est utilisé uniquement à Mbangassina par 1,23% de paysans. D'après les producteurs, l'utilisation de ces méthodes est liée aux matériaux de construction disponibles localement. Par ailleurs, 6,17% n'utilisent aucune méthode car ne stockent pas les tubercules après récolte.

III.1.1.4. Durée de stockage en fonction des méthodes de stockage dans les localités visitées

Les résultats de l'enquête montrent que les durées de stockage varient en fonction des méthodes de stockage (Tableau VIII).

Tableau VIII: Pourcentage de personnes enquêtées en fonction des méthodes et durée de stockage

Durée	Tas couvert de pailles	Fosse couverte avec la terre et les herbes	Magasin	Hangar	% de paysans
1-2 mois	11,11	11,10	-	-	22,21
3-4 mois	32,08	9,87	-	-	41,95
5-6 mois	-	-	32,09	1,23	33,32

Il ressort du tableau VIII que les tubercules peuvent être stockés entre 1 et 6 mois dans les localités visitées en fonction de la méthode utilisée. De l'avis des enquêtées, la durée moyenne de conservation est de 3 à 4 mois. En effet, la majorité des paysans (41,95 %) stocke les tubercules seulement entre 3 et 4 mois au champs en tas couvert de pailles (32,08 %) et dans une fosse couverte avec la terre et les herbes (9,87%). Par ailleurs 33,32 % conservent les tubercules jusqu'à 6 mois dans un magasin (32,09 %) ou dans le hangar (1,23%). Ces données montrent que la méthode de stockage au magasin permet de stocker les tubercules pendant une longue période.

III.1.1.5. Proportions de tubercules perdues au cours du stockage

Le tableau IX présente les quantités perdues par les producteurs au cours du stockage dans les localités visitées.

Tableau IX: Proportions de tubercules perdues par les paysans au cours du stockage

Proportions perdues \ Arrondissements	Ntui	Ngoro	Mbangassina
5-15%	16,66	27,77	22,22
20-40%	44,44	44,44	40
50-60%	11,11	5,55	6,66
70-75%	0	0	4,44

Le tableau IX indique que les proportions perdues varient en fonction des localités. Dans la localité de Mbangassinan les plus grandes pertes comprises entre 70-75 % ont été enregistrées chez 4,44 % de producteurs. La majorité des paysans perd 20 à 40 % de leurs tubercules au cours du stockage soit 44,44 % des personnes enquêtées à Ntui et à Ngoro et 40 % à Mbangassina.

III.1.1.6. Cause des pertes dans les stocks

Les causes des pertes post-récoltes dans les arrondissements visités ont été notées. Les résultats sont consignés dans le tableau X.

Tableau X: Causes des pertes dans les stocks des arrondissements visités

Causes \ Arrondissements	Ntui	Ngoro	Mbangassina	Totaux
Blessures	12,35	1,23	18,52	32,10
Pourritures	20,99	18,52	48,15	87,66
Insectes	12,35	8,64	19,75	40,74
Rongeurs	17,28	7,41	14,81	39,5
Humidité	6,17	8,64	22,22	37,03

Le tableau X révèle que plusieurs facteurs causes d'importantes pertes des ignames après récoltes dans les trois localités visitées. Les pourritures ont été évoquées comme cause de pertes post-récoltes par la majeure partie de paysans enquêtés dans toutes les localités avec des fréquences variantes de 18,52 % à Ngoro à 48,15 % à Mbangassina. Donc d'après les producteurs (87,65 %), les pourritures représentent la principale cause de

pertes post-récoltes suivi des insectes (40,74 %) et des rongeurs (39,5 %). Quant aux blessures et l'humidité, elles ont été évoquées par peu de paysans 32,10 % et 37,03 % respectivement.

III.1.1.7. Méthodes utilisées pour prévenir la pourriture post-récolte

Les producteurs enquêtés utilisent les pesticides chimiques ou les cendres pour protéger les tubercules contre les pourritures dans les sites d'étude. Les pourcentages de paysans utilisant chacune d'elle sont consignés dans le tableau XI.

Tableau XI: Méthodes de contrôle de la pourriture post-récolte en pourcentage de personnes en fonction des arrondissements visités

Arrondissement	Ntui	Ngoro	Mbangassina
Méthodes de contrôle			
Pesticides chimiques	61,11	77,77	68,88
Cendres	/	11,11	6,68
Aucun	38,89	11,12	24,44
Total	100	100	100

Le tableau XI montre que les pesticides chimiques sont utilisés par la majorité des producteurs enquêtés dans toutes les localités visitées pour protéger leurs tubercules au cours du stockage afin de prévenir les pourritures post-récoltes. Tandis que les cendres sont utilisées par 11,11 % de paysans à Ngoro et 6,68 % à Mbangassina. En outre d'autres n'utilisent aucune méthode de prévention.

III.1.1.8. Evaluation de l'incidence et de la sévérité des pourritures

L'examen des tubercules malades a permis d'identifier les types de pourritures causant les pertes post-récoltes de *Dioscorea* spp dans le Mbam et Kim (Figure 18).



Figure 18: Tubercules d'ignames présentant les symptômes de pourriture; (a) pourriture molle et (b) pourriture sèche.

La figure 18 montre que deux types de pourritures ont été observés à savoir: la pourriture sèche et la pourriture molle. Les tubercules atteints de la pourriture molle (a), se caractérisaient par une chair molle de couleur marron. Tandis que ceux présentant les

Résultats et discussion

symptômes de pourriture sèche (b) avaient une chair sèche de couleur noire. L'incidence et l'index de sévérité de ces pourritures ont été déterminés à partir des échantillons collectés dans les localités visitées (Tableau XII).

Tableau XII: Fréquences de tubercules malades et index de la maladie dans les arrondissements visités

Type de pourriture	Fréquence de tubercules malades						Index de la maladie	
	Mbangassina		Ngoro		Ntui		% Ic	IS
	<i>D. Rotundata</i>	<i>D. alata</i>	<i>D. rotundata</i>	<i>D. alata</i>	<i>D. rotundata</i>	<i>D. alata</i>		
Molle	4,44	6,66	13,33	6,66	11,11	2,22	33,33	28,13
Sèche	11,11	11,11	6,66	4,44	11,11	11,11	41,66	26,67

Légende: Ic: Incidence; IS: Index de Sévérité.

Le tableau XII indique que les fréquences des pourritures molles et sèches variaient en fonction des espèces d'igname et des localités ainsi que leurs incidences et index de sévérité. Les pourritures ont été observées chez les espèces de *D. rotundata* et *D. alata* cultivées dans les arrondissements visités avec une fréquence de tubercules malades significativement élevée chez l'espèce *D. rotundata* (56,76 %). Ces résultats montrent que l'espèce *D. rotundata* est la plus sujette à la pourriture. Des incidences de 33,33 % et 41,66 % ont été obtenues respectivement pour la pourriture molle et sèche. Ces pourritures détériorent les tubercules stockés avec des index de sévérité de 28,13 pour la pourriture molle et 26,67 pour la pourriture sèche, donc la pourriture molle cause plus de dégâts. L'arrondissement de Ntui a été la plus affecté avec une fréquence totale de 35,55 % de tubercules malades suivi de Mbangassina, (33,32 %) et Ngoro le moins affecté avec une fréquence de 31,09 %.

III.1.1.9. Isolement, pathogénicité, profil enzymatique et identification des phytopathogènes

III.1.1.9.1. Isolement des phytopathogènes

Les isolats fongiques ont été obtenus avec les fréquences variant d'une localité à une autre et en fonction des espèces d'ignames. Les valeurs sont consignées dans le tableau XIII.

Tableau XIII: Fréquence des isolats de *D. rotundata* et *D. alata* collectés des 3 localités

<i>Dioscorea</i> sp	Arrondissements				Fréquences (%)
	Mbangassina	Ngoro	Ntui	Total	
<i>D. rotundata</i>	14	10	30	54	62,06
<i>D. alata</i>	16	2	15	33	37,93
Total	30	12	45	87	100,0

Les données du tableau XIII indiquent qu’au total 87 isolats de champignons ont été isolés avec des fréquences d’apparition dépendant de l’espèce et de l’arrondissement. L’espèce *D. rotundata* est la plus sujette aux attaques fongiques avec une fréquence de 62,06%. La localité de Ntui est la plus affectée avec une fréquence de 45 isolats fongiques suivi de Mbangassina. Tandis que l’arrondissement de Ngoro est le moins affecté. Tous les isolats obtenus ont été soumis au test de pathogénicité afin de s’assurer qu’ils sont effectivement responsables des pourritures observées suivant le postulat de Koch.

III.1.1.9.2. Pathogénicité

Trente des 87 isolats fongiques testés ont causé les pourritures des tubercules sains inoculés (Tableau XIV). La figure 19 illustre les pourritures observées après infection des tubercules par les isolats fongiques.

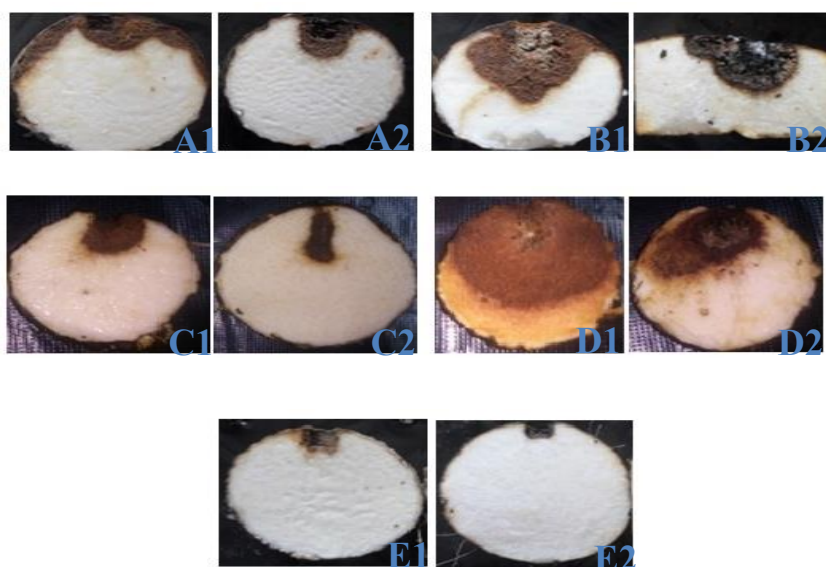


Figure 19: Pourritures causées par les agents pathogènes sur les tubercules de *D. rotundata* et *D. alata*

1: *D. rotundata*; 2: *D. alata*; (A1, A2): pourriture sèche causée par l’isolat 3 de Ntui, NT3; (B1, B2): pourriture sèche causée par l’isolat 1 de Ngoro, NG1; (C1, C2): pourriture molle causée par l’isolat 6 de Mbangassina, MB6; (D1, D2):

Résultats et discussion

pourriture molle causée par l'isolat 1 de Ntui, NT1; (E1): tubercule contrôle *D.rotundata* et (E2): tubercule contrôle *D.alata*

Il ressort de la figure 19 que les espèces fongiques pathogènes ont causé la pourriture sèche (NT3 et NG1) et molle (MB6 et NT1). Ces pourritures sont identiques à celles observées sur les tubercules desquels, ils ont été isolés. Ce qui indique que ces isolats sont ceux responsables de la pourriture des tubercules dans les localités visitées. Les incidences et les index de sévérités de ces agents pathogènes sont mentionnés dans le tableau XIV.

Tableau XIV.: Incidence et index de sévérité des agents pathogènes

Agents (Code d'identification)	Localité	Incidence (%)	Index de sévérité (%)	Types de pourriture
MB9	Mbangassina	83,33	25,0	sèche
MB6	Mbangassina	83,33	20,83	molle
MB7	Mbangassina	50,0	12,5	sèche
MB1	Mbangassina	100,00	58,33	molle
MB3	Mbangassina	33,33	12,5	sèche
MB12	Mbangassina	33,33	12,5	sèche
MB14	Mbangassina	33,33	12,5	sèche
NG1	Ngoro	100,0	33,33	sèche
NG2	Ngoro	100,00	58,33	molle
NG4	Ngoro	33,33	12,5	sèche
NG5	Ngoro	33,33	12,5	molle
NG6	Ngoro	100,0	29,16	molle
NG11	Ngoro	33,33	12,5	molle
NT3	Ntui	100,0	25,0	sèche
NT5	Ntui	33,33	12,5	molle
NT16	Ntui	100,0	58,33	molle
NT23	Ntui	33,33	12,5	molle
NT8	Ntui	33,33	12,5	sèche
NT20	Ntui	100,00	58,33	molle
NT14	Ntui	33,33	12,5	sèche
NT6	Ntui	33,33	12,5	sèche
NT25	Ntui	50,0	12,5	sèche
NT1	Ntui	100,0	58,33	molle
NT13	Ntui	100,0	29,16	sèche
NT42	Ntui	100,0	25,0	sèche
NT12	Ntui	33,33	12,5	molle
NT30	Ntui	33,33	12,5	sèche
NT15	Ntui	33,33	12,5	sèche
NT2	Ntui	33,33	12,5	sèche
NT33	Ntui	33,33	12,5	sèche

Le tableau XIV, montre que des 30 agents pathogènes, 40 % ont causé la pourriture molle et 60 % la pourriture sèche avec des incidences et des index de sévérité variant d'un pathogène à un autre. Les incidences varient de 33,33 % à 100 % et les index de sévérités de 12,5 à 58,33 %. L'index de sévérité le plus élevé 58,33 a été obtenu avec 5 agents

Résultats et discussion

pathogènes à savoir: NT1, MB1, NG2, NT16, NT20; tous causant la pourriture molle avec une incidence de 100 %. La majorité des agents pathogènes provenait de la localité de Ntui (56,66 %), 23,33 % de Mbangassina et 20 % de Ngoro. La pourriture molle a causé plus de dommage au cours du test de pathogénicité.

III.1.1.9.3. Production des enzymes hydolytiques par les agents pathogènes sélectionnés

La figure 20 ci-dessous, illustre les halos caractéristiques de chacune des enzymes hydrolytiques testées.

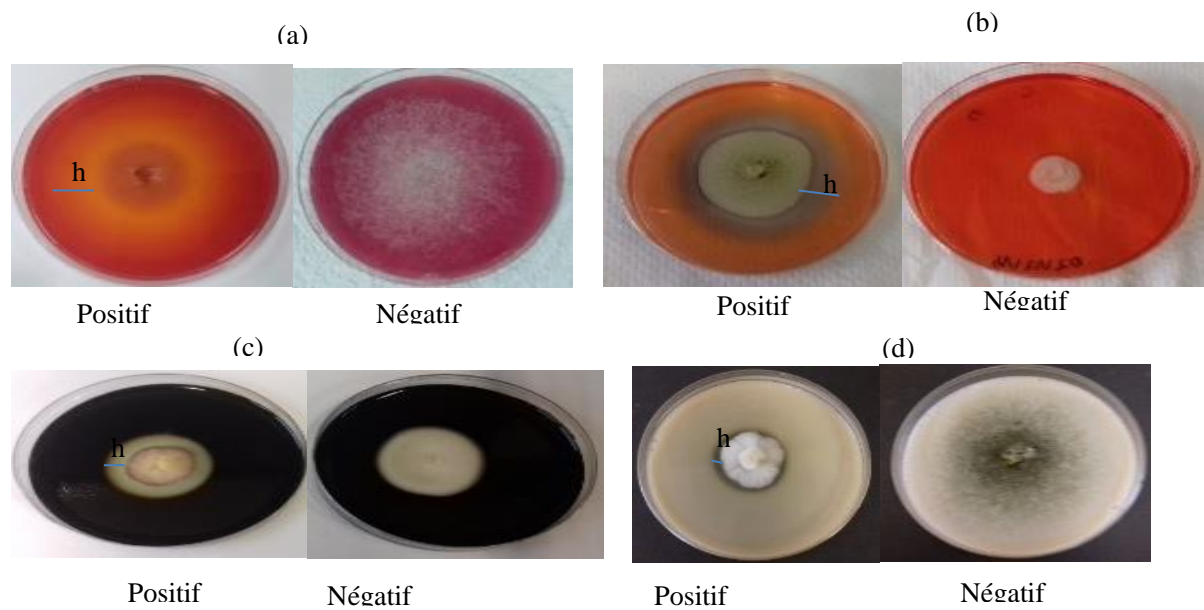


Figure 20: Enzymes hydrolytiques produites par les agents pathogènes.

(a): Lipase (NT13); (b): Cellulase (NG1); (c): Amylase (NT1); (d): Protease (NT25); h: halo

Les diamètres des halos matérialisant la production d'enzyme hydrolytique ont été mesurés et ont permis de calculer les index enzymatiques consignés dans le tableau XV.

Tableau XV: Index enzymatiques des agents pathogènes

Isolats	Protease	Amylase	Lipase	Cellulase
NT13	1,21±0,03 ^a ± 0.71	0±0,0 ^a	1,45±0,01 ^a 1.06	0±0,0 ^a
MB9	1,75±0,05 ^b	0±0,0 ^a	1,36±0,01 ^a ±0.35	0±0,0 ^a
MB6	0±0,0 ^c	0±0,0 ^a	0±0,0 ^b	1,80±0,01 ^b ±2.47
NT1	0±0,0 ^c	1,43±0,04 ^b ±0.35	0±0,0 ^b	0±0,0 ^a
NG6	1,58±0,02 ^d	0±0,0 ^a	0±0,0 ^b	0±0,0 ^a
MB7	1,06±0,02 ^e ±0.35	0±0,0 ^a	0±0,0 ^b	0±0,0 ^a
NT25	1,56±0,34 ^d ±1.06	0±0,0 ^a	0±0,0 ^b	0±0,0 ^a

Pour chaque colonne, les moyennes suivies des lettres différentes indiquent une différence significative au seuil de probabilité 5% selon le test de Duncan.

Les résultats du tableau XV révèlent que tous les agents pathogènes testés produisent au moins une enzyme hydrolytique. Les valeurs des index enzymatiques (IE) ont varié dans l'ensemble de 0 à 1,75; 0 à 1,43; 0 à 1,45; 0 à 1,80 respectivement dans le cas des protéases, amylases, lipases, cellulases. Les isolats NT13 et MB9 ont exhibé des productions en protéase et lipases avec des IE de 1,21 et 1,75; 1,36 et 1,45 respectivement. Tandis que les autres isolats ont produit chacune une seule enzyme hydrolytique à savoir MB6 (cellulases; 1,80), NT1 (amylases; 1,43), NG6, MB7, NT25 (protéases; 1,58; 1,06 et 1,56 respectivement).

III.1.1.9.4. Identification morphologique et moléculaire des pathogènes

a) Identification morphologique des pathogènes

Les agents pathogènes ont été regroupés en 5 genres (Tableau XVI) sur la base de leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques (Figure 21) suivant les clés d'identification (Tableau XVII).

Tableau XVI: Distribution et fréquences des genres présumés dans les localités visitées

Localités	<i>Aspergillus</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Rhizopus</i>	Non identifiés
Mbangassina	2	2	2	1	1
Ngoro	1	2	2	1	0
Ntui	2	4	6	1	3
Totaux	5	8	10	3	5

Résultats et discussion

Il ressort du tableau XVI que les genres représentés dans toutes les localités étaient *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* et *Rhizopus*. Les fréquences variant d'un genre à un autre *Penicillium* (10) est la plus représentée suivi de *Fusarium* (8).

Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de ces isolats sont regroupées dans le tableau XVII.

Tableau XVII: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des genres présumés

Genres présumés	Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques
<i>Aspergillus</i> (A)	Mycélium aérien peu développé, poudreux et de couleur noire	Conidiophores non septés conidies rondes et noires
<i>Fusarium</i> (B)	Mycélium aérien développé Cotonneux et de couleur violette ou jaunâtre	Hyphes septés, macroconidies et microconidies en fuseau, Chlamidospores rondes
<i>Penicillium</i> (C)	Mycélium aérien peu développé, poudreuse et de couleur verte	Hyphes septés, spores rondes
<i>Rhizopus</i> (D)	Mycélium aérien développé Cotonneux et de couleur grise	Hyphes non septés, sporanges circulaires, spores rondes et grises

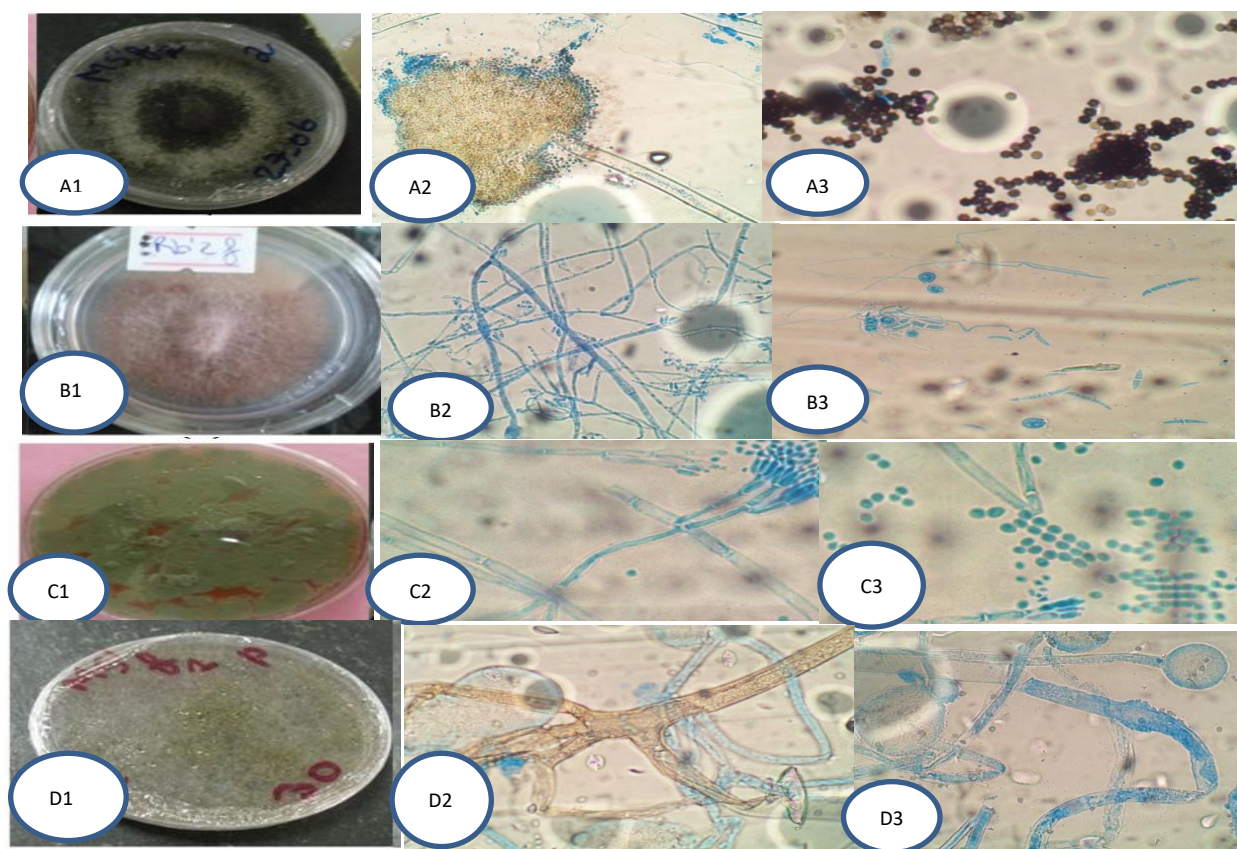


Figure 21: Aspects macroscopiques et microscopiques des genres présumés pathogènes (A, B, C, D).

A1, B1, C1 et D1 cultures des isolats d'*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Rhizopus* sur milieu PDA. A2 et A3: Conidiophores et conidies d'*Aspergillus*. B1 et B2: Hyphes, microconidies, macroconidies et chlamydo-spores de *Fusarium*. C2 et C3: Hyphes et spores de *Penicillium*. D2 et D3: Hyphes, sporanges, et spores de *Rhizopus*

Résultats et discussion

A l'issue de ce regroupement les agents pathogènes les plus incriminés dans la littérature et ayant causés une incidence d'au moins 50 % à l'issue du test de pathogénicité ont été sélectionnés pour l'identification moléculaire.

b) Identification moléculaire

- Amplification par PCR de la région ITS

Les ADN codant pour les régions ITS 3 /ITS4 des ARN ribosomiaux des 10 agents pathogènes ont d'abord été amplifiés par la technique de PCR. Après amplification, une électrophorèse des produits de la PCR a été effectuée sur gel d'agarose-TAE. Le résultat de la migration obtenu sur gel (figure 22) a montré que les bandes d'ADN ont migré dans la région de 350 paires de bases sur gel d'agarose à 1 %.

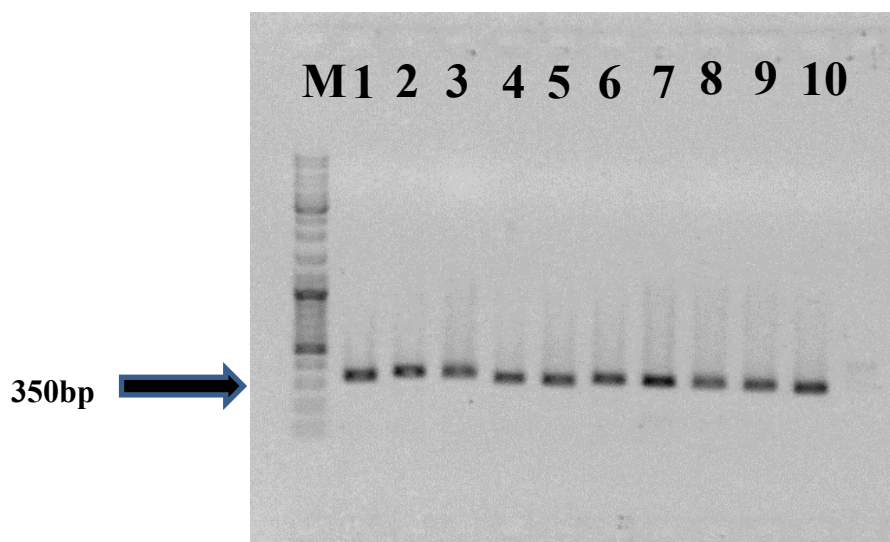


Figure 22: Profil d'amplification par PCR d'ADNr de la région ITS des agents pathogènes utilisant des amorces ITS3 et ITS4.

M: marqueur de poids). 1): MB9; 2): NT13; 3):NT42; 4): NT3 ; 5): NT25; 6): NG1; 7): MB6; 8): NT1; 9): MB7; 10): NG6

- Analyse des séquences

Les séquences d'ADN obtenues après amplification ont été comparées avec celles d'autres organismes de la base de données nucléotidiques internationales: NCBI GenBank pour l'identification moléculaire. Les forts taux de similarité observés avec des valeurs de bootstrap conséquentes, ont permis d'identifier sept espèces. Les numéros d'accension, l'identité et le degré d'homologie de ces souches sont illustrés dans le tableau XVIII.

Tableau XVIII: Numéro d'accèsion et pourcentage de similarité des agents pathogènes virulents identifiés

Code des souches	Noms des souches	Pourcentage de similarité (%)	Numéro d'accèsion GeneBank
MB9	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	KT794176
NT13	<i>Fusarium solani</i>	99	JX435205
NT42	<i>Fusarium solani</i>	100	JX435202
NT3	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	KT794176
NG6	<i>Rhizopus oryzae</i>	99	GU932683
NT25	<i>Bionectria ochroleuca</i>	99	EU552110
MB6	<i>Aspergillus niger</i>	99	GU932683
NG1	<i>Aspergillus niger</i>	99	AY939787
NT1	<i>Penicillium mononematosum</i>	99	NR111817
MB7	<i>Talaromyces flavovirens</i>	99	NR 145158

Le tableau XVIII indique qu'après identification moléculaire, les agents pathogènes appartiennent à 6 genres à savoir *Fusarium* spp (40 %), *Asperillus* spp (20 %), *Rhizopus* spp (10 %), *Penicillim* spp (10 %), *Talaromyces* spp (10 %), *Bionectria* spp (10 %).

L'identification moléculaire a permis de confirmer les genres des isolats NT25 et MB7 comme étant *Bionectria* spp et non *Fusarium* spp pour (NT25) et *Talaromyces* spp et non *Penicillium* spp pour (MB7).

L'arbre phylogénétique (Figure 23) a été construit à l'aide du programme MEGA 6 par l'utilisation de la méthode de *Neighbor-joining*, à partir des séquences obtenues après amplification à l'aide des paires d'amorces (ITS3 et ITS4).

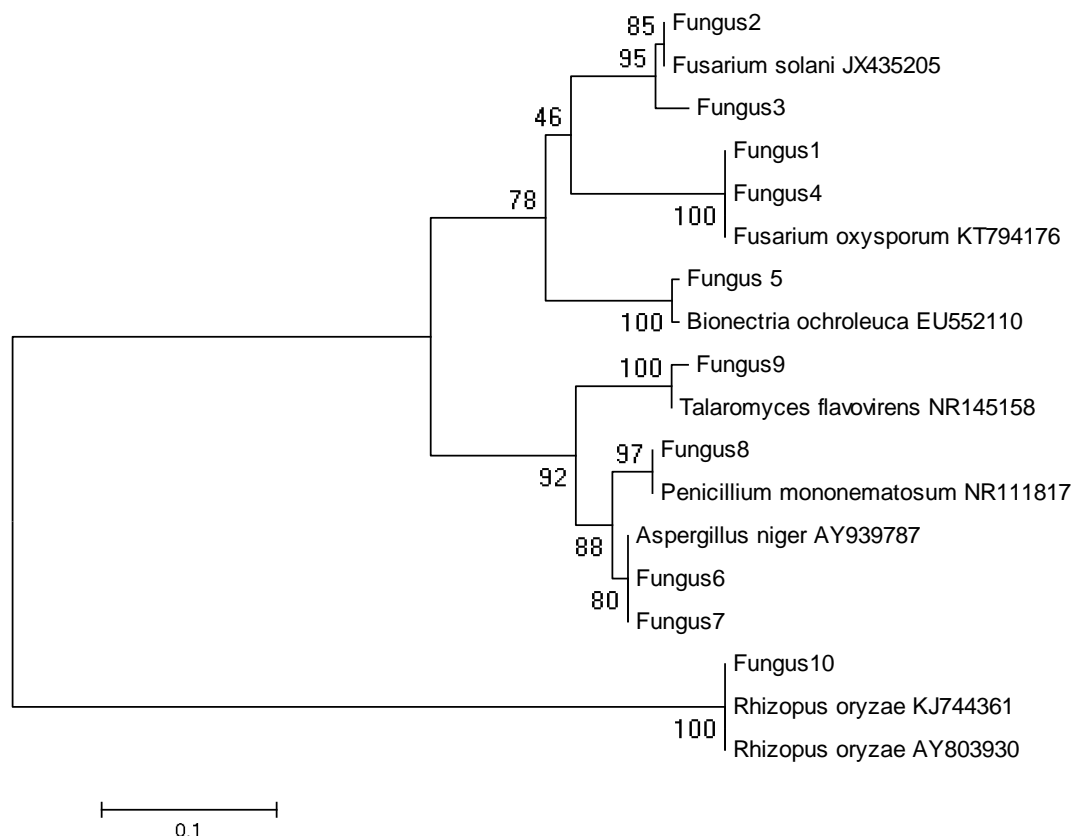


Figure 23: Arbre phylogénétique basé sur une comparaison des séquences de l'ADNr 5,8S des souches de champignons pathogènes isolées des ignames et de certaines souches phylogénétiquement proches.

Fungus 1: MB9; Fungus 2: NT13; Fungus 3: NT42; Fungus 4: NT3; Fungus 5: NT25; Fungus 6: NG1; Fungus 7: MB6; Fungus 8: NT1; Fungus 9: MB7; Fungus 10: NG6

L'identification moléculaire révèle que les 10 souches virulentes appartiennent à 7 espèces fongiques. A savoir *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium mononematosum*, *Rhizopus oryzae*, *Talaromyces flavovirens*, et *Bionectria ochroleuca*. Dans cette étude, *P. mononematosum* est incriminée pour la première fois comme agent causal de la pourriture post-récolte des ignames.

III.1.2. Composition chimique des HE de *Cymbopogon citratus* et *Syzygium aromaticum* et activité antimicrobienne vis-à-vis des phytopathogènes

III.1.2.1. Rendement d'extraction et composition chimique des huiles essentielles

Les rendements d'extraction d'huiles essentielles ont été 0,14 % et 6,34 % respectivement pour *Cymbopogon citratus* et *Syzygium aromaticum*. Leurs compositions chimiques ont été déterminées après interprétation des chromatogrammes et spectres de

Résultats et discussion

masses (annexes 6,7,8) obtenus de l'analyse par CPG/SM et les composés obtenus sont regroupés dans le tableau XIX.

Tableau XIX: Composition chimique des huiles essentielles

IK	Composés	SA	CC
969,03	Cis-Ocimene	-	55,79
985,04	α -ocimène	0,23	-
1002,32	Cosmene	-	0,22
1005,58	Limonène	42,1	-
1010,07	α -pinène	0,12	1,02
1020,15	3-carène	0,16	1,37
1085,73	γ -Pyronene	-	0,86
1108,20	p-cymène	-	0,31
	MTH	42,61	59,57
1144,55	α -myrtenol	-	1,16
1149,15	(s)-cis-verbenol	-	11,74
1155,65	p-Menth-2-en-1-ol	-	16,77
	MTO	-	29,67
1115,27	Z,Z,Z-4,6,9-Nonadecatriene	0,17	-
1119,16	α -cubebene	0,27	-
1135,21	Aromadendrene	-	0,16
1137,83	caryophyllene	12,19	-
1148,58	Humulen	1,2	-
	STH	13,83	0,16
1121,85	Trans-Chrysanthemal	-	0,27
1163,08	methylsalicylate	0,16	-
1167,53	5-methoxyindane	0,15	-
	CAL	0,31	0,27
1034,26	o-cymène	0,13	0,24
1098,75	Cuminol	0,24	-
1246,76	Eugénol	40,87	-
	CA	41,24	0,24

Légende: IK: Indice de Kovat; MTH: Monoterpène hydrogéné; MTO: Monoterpène Oxygené; STH: Sesquiterpène hydrogéné; CAL: Composé aliphatique; CA: Composé aromatique; CC: *Cymbopogon citratus*; SA: *Syzyium aromaticum*

Le tableau XIX montre que les deux HE sont riches en monoterpènes hydrogénés avec un pourcentage plus élevé dans celle de *C. citratus* (59,57 %). Dans l'HE de *S. aromaticum*, en plus des monoterpènes hydrogénés (42,61 %), il y'a abondance de composés aromatiques (41,24 %) avec comme composés majoritaires le limonène (42,1 %)

et eugénol (40,87 %). Celle de *C. citratus* a pour composés majoritaires le cis-ocimène (55,79 %) et le P-Ment-2-en-1-ol (16,77 %).

III.1.2.2. Activité antifongique des HE

Les huiles essentielles ont exercé des effets inhibiteurs variables sur la croissance radiale des phytopathogènes en étude. Les diamètres de croissance illustrés par la figure 24 représentent l'inhibition de la croissance de *F. oxysporum* à différentes concentrations en huile essentielle de *S. aromaticum*.

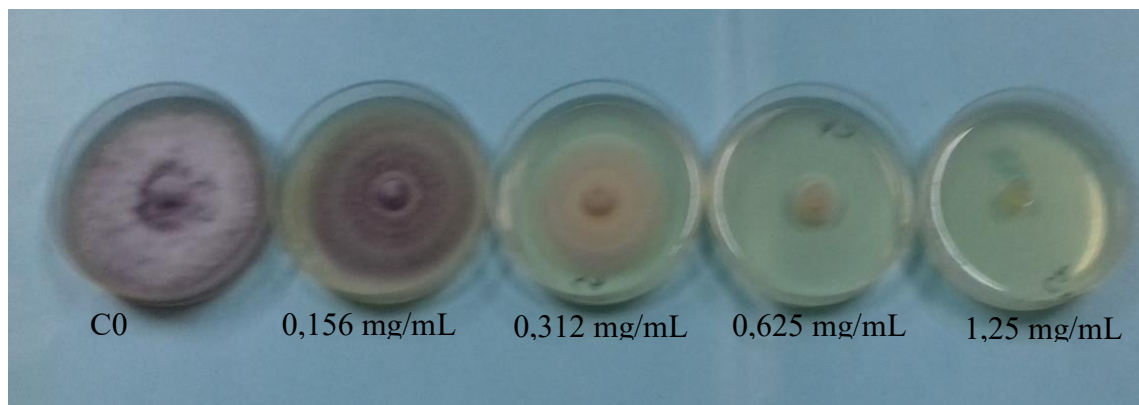


Figure 24: Croissance mycélienne de *F. oxysporum* à différentes concentrations d'HE de *S. aromaticum*

La figure 24 montre que la croissance radiale de *F. oxysporum* est inversement proportionnelle à la concentration de l'HE de *S. aromaticum*. Cet effet a également été observé avec l'HE de *C. citratus* sur les quatre autres souches. Les diamètres de croissance ont permis de déterminer les pourcentages d'inhibition des HEs regroupés dans le tableau XX.

Les données du tableau XX indiquent que, les HEs ont inhibé la croissance de toutes les souches testées comparé au *Ridomil* qui n'a pas totalement inhibé la croissance d'*A. niger* (67,77 %) à 5 mg/mL la plus grande concentration testée. *F. solani* est la souche la plus résistante à l'HE de *C. citratus* qui a montrée une inhibition complète à 2,5 mg/mL comparé à celle de *S. aromaticum* qui a inhibé complètement à 0,625 mg/mL. *A. niger*, *F. oxysporum* et *P. mononematosum* ont été sensibles à l'HE de *C. citratus* qui a inhibé complètement leur croissance à 0,312 mg/mL. L'analyse de ces données montre qu'il existe une corrélation positive ($r \geq 0,90$; $p < 0,05$) entre les concentrations et les pourcentages d'inhibition.

Les deux HEs ont inhibé la croissance de toutes les souches avec des CMI's inférieures à celles du contrôle positif le *Ridomil*. Une comparaison globale de l'activité

Résultats et discussion

antifongique des huiles essentielles et du Ridomil grâce au test Fisher's least significant difference (LSD) révèle qu'il existe une différence significative entre l'activité des HEs et le Ridomil ($P < 0,05$) quelque soit la souche.

Résultats et discussion

Tableau XX: Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de *A. niger*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *P. mononematosum*, *R. oryzae* par les

Souches	Concentration (mg/mL)	HEs		Contrôle positif	HE
		<i>C. citratus</i>	<i>S. aromaticum</i>	Ridomil	
<i>A. niger</i>	5,00	100±0 ^a	100±0 ^a	68,00±8,00 ^a	
	2,50	100±0 ^a	100±0 ^a	56,00±8,00 ^{ab}	
	1,25	100±0 ^a	100±0 ^a	44,72±8,25 ^b	
	0,625	100±0 ^a	100±0 ^a	0,00±0,00 ^c	
	0,312	100±0 ^a	56,35±6,94 ^b	0,00±0,00 ^c	
	0,156	8,10±0,80 ^b	4,90±0,40 ^c	0,00±0,00 ^c	
	<i>F. solani</i>	5,00	100±0 ^a	100±0 ^a	100±0 ^a
2,50		100±0 ^a	100±0 ^a	62,64±5,03 ^b	
1,25		71,15±4,29 ^b	100±0 ^a	56,88±1,47 ^b	
0,625		36,22±3,50 ^c	100±0 ^a	18,32±3,47 ^c	
0,312		17,44±0,9 ^d	78,51±9,39 ^c	12,96±3,70 ^c	
0,156		5,71±0,10 ^e	60,97±2,26 ^d	3,99±0,77 ^d	
<i>F. oxysporum</i>		5,00	100±0 ^a	100±0 ^a	100±0 ^a
	2,5	100±0 ^a	100±0 ^a	67,27±5,14 ^b	
	1,25	100±0 ^a	100±0 ^a	30,45±3,21 ^c	
	0,625	100±0 ^a	100±0 ^a	23,18±1,92 ^d	
	0,312	100±0 ^a	80±6,42 ^b	10,45±1,92 ^e	
	0,156	8,10±0,8 ^b	25±3,21 ^c	0,00±0,00 ^f	
	<i>P. mononematosum</i>	5,00	100±0 ^a	100±0 ^a	100±0 ^a
2,50		100±0 ^a	100±0 ^a	100±0 ^a	
1,25		100±0 ^a	100±0 ^a	100±0 ^a	
0,625		100±0 ^a	100±0 ^a	40,23±4,8 ^b	
0,312		100±0 ^a	100±0 ^a	24,44±1,15 ^c	
0,156		34,56±8,9 ^b	48,63±8,35 ^b	14,49±2,63 ^d	
<i>R. oryzae</i>		5,00	100±0 ^a	100±0 ^a	100±0 ^a
	2,50	100±0 ^a	100±0 ^a	100±0 ^a	
	1,25	100±0 ^a	100±0 ^a	86,66±2,35 ^b	
	0,625	100±0 ^a	100±0 ^a	0,00±0,00 ^c	
	0,312	45,83±5,89 ^b	24,72±3,53 ^b	0,00±0,00 ^c	
	0,156	12,77±2,35 ^c	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	

Légende: Pour chaque pathogène testé, les valeurs portant les mêmes lettres par colonne ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %

– **Concentrations Minimales Inhibitrices des huiles essentielles (CMI) sur la germination des spores des cinq souches**

Les CMI qui sont les plus petites concentrations d’HE ayant permis d’obtenir 100 % d’inhibition de la germination sporale sont consignées dans le tableau XXI ci-dessous.

Tableau XXI: CMI (mg/mL) des HEs sur la germination des spores

HEs Souches	<i>C. citratus</i>	<i>S. aromaticum</i>	Ridomil
<i>A. niger</i>	0,625 ^a	1,25 ^a	1,25 ^a
<i>F. solani</i>	0,312 ^b	0,156 ^b	1,25 ^a
<i>F. oxysporum</i>	0,312 ^b	0,156 ^b	1,25 ^a
<i>P. mononematosum</i>	0,312 ^b	0,156 ^b	5 ^b
<i>R. oryzea</i>	1,25 ^c	0,625 ^c	1,25 ^a

Légende: les lettres différentes sur une même colonne signifie qu’il existe une différence significative entre les pourcentages d’inhibition.

Le tableau XXI donne les valeurs des CMI des substances antifongiques obtenues vis à vis des spores de chacune des souches testées. Les CMI varient de 0,156 mg/mL à 1,25 mg/mL ceci en fonction de la souche et de l’HE. Les analyses statistiques montrent que quelque soit la souche l’activité de l’HE de *S. aromaticum* est différente de celle de *C. citratus* ($P < 0,05$). Les spores d’*A. niger* sont moins sensible à *S. aromaticum* qui inhibe avec une CMI de 1,25 mg/mL; tandis que les spores de *R. oryzea* sont moins sensible à *C. citratus* (CMI=1,25 mg/mL). De façon générale, les HEs ont inhibé la germination des spores avec des CMI significativement inférieures à celle du *Ridomil* ($P < 0,05$). *P. mononematosum* est la moins sensible au *Ridomil* qui a inhibé avec une CMI de 5 mg/mL, tandis que l’HE de *C. citratus* et *S. aromaticum* ont inhibé avec des CMI de 0,312 et 0,156 mg/mL respectivement.

III.1.2.3. Étude de l’interaction entre les HEs: détermination de l’Index de Concentration Inhibitrice Fractionnelle (ICIF)

Le tableau XXII présente les CMI des HEs en combinaison ainsi que les valeurs des CIF et des ICIF permettant d’interpréter les résultats obtenus en combinant les deux HE en fonction des souches.

Tableau XXII: CMI des HEs en combinaison et les CIF et ICIF en fonction des souches

Souches	CMI		CIF		ICIF	Interprétation
	CC	SA	CC	SA		
<i>A. niger</i>	0,156	0,312	0,249	0,249	0,49	Synergique
<i>P. mononematosum</i>	0,019	0,078	0,063	0,5	0,56	Additif
<i>R. oryzea</i>	0,312	0,156	0,249	0,249	0,49	Synergique
<i>F. solani</i>	0,625	2,5	0,5	1	1,5	indifférence
<i>F. oxysporum</i>	0,312	0,625	0,4	1	1,4	indifférence

Légende: CMI CC: Concentration Minimale Inhibitrice de *Cymbopoum citratus*; CMI SA: Concentration Minimale Inhibitrice de *Syzygium aromaticum*; CIF CC: Concentration Inhibitrice Fractionnelle de *Cymbopoum citratus*; CIF SA: Concentration Inhibitrice Fractionnelle de *Syzygium aromaticum*; ICIF: Index de Concentration Inhibitrice Fractionnelle.

Le tableau XXII ci-dessus illustre les types d'interactions entre les HEs en combinaison. Il ressort de ce tableau que les effets obtenus dépendent des souches. En effet, la combinaison des HEs donne un effet synergique lorsqu'elle est testée contre *R. oryzea* et *A. niger* avec des valeurs de ICIF < 0,5 tandis qu'un effet additif ($0,5 \leq ICIF \leq 1$) a été obtenu sur *P. mononematosum*. Une indifférence a été obtenue sur *F. solani* et *F. oxysporum*. En addition aux interactions observées, on note une forte diminution des concentrations minimales inhibitrices de chacune des HEs contre les isolats de *R. oryzea*, *A. niger* et *P. mononematosum*. En effet, contre *A. niger*, la combinaison a réduit de quatre fois la CMI de *C. citratus* et de *S. aromaticum*. Contre *R. oryzea*, on observe une réduction de deux et quatre fois les CMI de *C. citratus* et de *S. aromaticum* respectivement. Contre *P. mononematosum* on note une réduction de 16 fois la CMI de *C. citratus* et de deux fois celle de *S. aromaticum*.

III.1.3. Potentiel bioprotecteur des combinaisons et effet sur quelques paramètres nutritionnels des tubercules d'igname

III.1.3.1. Activité antifongique *in situ* des combinaisons d'huiles essentielles

La souche la plus virulente et la plus résistante au Ridomil, *P. mononematosum* a été utilisée à la fois pour le test *in situ* sur les tranches de tubercules et pour le test *in vivo* sur le tubercule entier. La capacité des combinaisons d'HEs à prévenir la prolifération et à limiter la prolifération des pathogènes dans les tubercules a été déterminée *in situ* par les tests préventif et curatif comme indique la figure 25.

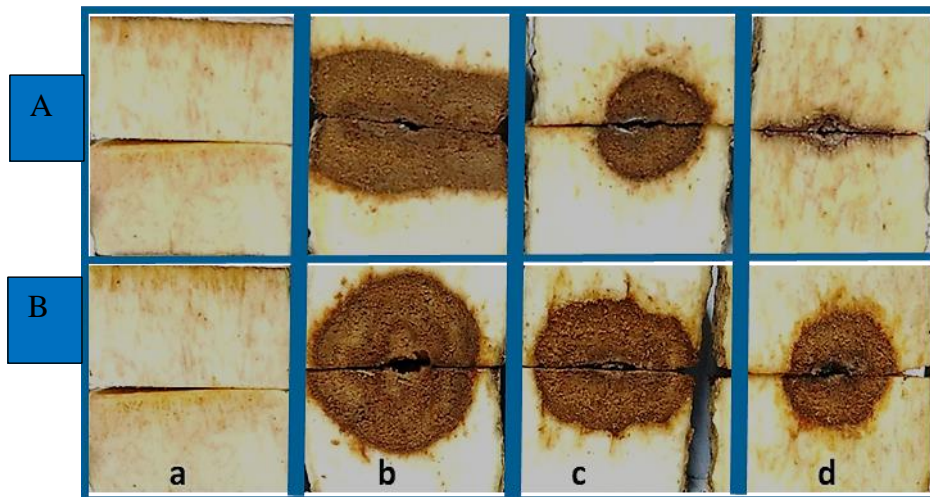


Figure 25: Test *in situ* des combinaisons d'HEs de *S. aromaticum* et *C. citratus* contre *P. mononematosum*.

(A) test préventif; (B) test curatif; (a) tubercules non inoculés (contrôle positif), (b) tubercules infectés et non traités (contrôle négatif), (c) tubercules traités à la concentration de 20/20 mg/mL, (d) tubercules traités à la concentration de 40/40 mg/mL.

La figure 25 montre qu'il y'a une faible prolifération de *P. mononematosum* dans les fragments de tubercules traités avec les combinaisons comparativement au contrôle négatif. Par ailleurs, une action concentration dépendante a été observée car une différence est observée entre les profondeurs de pourriture des tubercules traités à 20/20 mg/mL et celles obtenues avec ceux traités à 40/40 mg/mL aussi bien pour le test curatif que pour le test préventif. Ceci indique que la combinaison 40/40 mg/mL a eu un effet inhibiteur sur la prolifération du pathogène dans les tubercules. Les incidences ont été déterminées durant la période d'incubation tel qu'indiqué dans le tableau XXIII et ont permis de calculer les index de réduction de la pourriture (Tableau XXIII).

Tableau XXIII: Incidences et Index de réduction de la pourriture en fonction des traitements

Jours	Préventif					Curatif			
	TN	P40/40 mg/mL		P20/20 mg/mL		C40/40 mg/mL		C20/20 mg/mL	
	Inc	Inc	IRP	Inc	IRP	Inc	IRP	Inc	IRP
3	50 ^a	0 ^a	1 ^a	37,5 ^a	0,25 ^a	50 ^a	0,00 ^a	50 ^a	0 ^a
6	87,5 ^b	0 ^a	1 ^a	62,5 ^b	0,25 ^a	50 ^a	0,00 ^a	50 ^a	0,42 ^b
9	100 ^c	0 ^a	1 ^a	75 ^c	0,25 ^a	75 ^b	0,25 ^b	87,5 ^b	0,12 ^c
12	100 ^c	0 ^a	1 ^a	100 ^d	0 ^b	75 ^b	0,25 ^b	100 ^b	0 ^a
15	100 ^c	0 ^a	1 ^a	100 ^d	0 ^b	75 ^b	0,25 ^b	100 ^b	0 ^a

Légende: TN: Témoin négatif; Inc: Incidence en pourcentage; IRP: Index de réduction de la pourriture; P: préventif; C: curatif

Le tableau XXIII présente l'effet des combinaisons sur l'incidence associée à *P. mononematosum* lors des tests préventif et curatif. Il ressort de ce tableau qu'il existe une corrélation positive ($r \geq 0,90$; $p < 0,05$) entre les concentrations des HEs combinées et l'incidence. Quelque soit le type de traitement l'incidence augmente significativement en fonction du temps et elle varie en fonction des concentrations des combinaisons. Par ailleurs, indépendamment du type de traitement après 9 jours d'incubation, les incidences de 100 % sont obtenues dans les lots des tubercules de contrôles négatifs. Tandis que pour les traitements préventifs et curatifs les 100 % d'incidence ne sont observées qu'à partir du 12^{ème} jour uniquement à la concentration de 20/20 mg/mL. A la concentration de 40/40 mg/mL, l'incidence varie de 50 à 75 % dans le lot du test curatif et est de 0 % pour le test préventif durant les 15 jours d'incubation. En outre à cette combinaison, l'index de réduction de la pourriture (IRP) varie de 0 à 0,25 au cours des tests curatifs et est de 1 pour le test préventif quelque soit le temps d'incubation. Ces résultats montrent que la protection des tubercules contre la pourriture due à *P. mononematosum* est observée avec la combinaison 40/40 mg/mL et son efficacité s'avère plus prononcée au cours du traitement préventif.

III.1.3.2. Activité antifongique *in vivo* de la combinaison d'intérêt

La combinaison d'HE à la concentration (40/40 mg/mL) ayant présentée une protection totale sur les tranches de tubercules a été utilisée pour un essai de formulation de

2 biopesticides. Ainsi la capacité de ces formulations à protéger les tubercules de la pourriture due à *P. mononematosum* au cours de l'entreposage a été évaluée pendant 8 semaines (2 mois). L'incidence et le pourcentage de réduction de l'incidence ont été déterminés après chaque 2 semaines durant 2 mois. La figure 26 ci-dessous illustre les zones de pourritures observées après coupure des tubercules à la 2^{ème}, 4^{ème}, 6^{ème} et la 8^{ème} semaine.

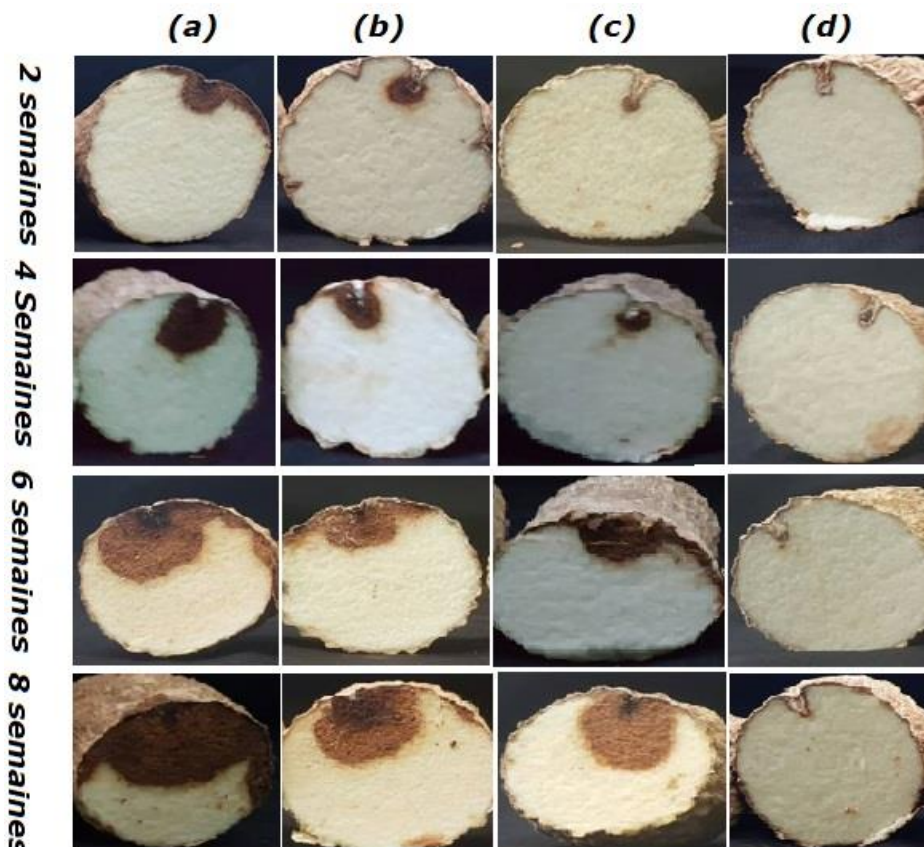


Figure 26: Activité antifongique *in vivo* des formulations à base de la combinaison d'HEs de *S. aromaticum* et *C. citratus* contre *P. mononematosum* après en fonction du temps d'incubation.

(a) tubercules inoculés et non traités (contrôle négatif), (b) tubercules traités avec la formulation HE+kaolin, (c) tubercules traités avec la formulation HE+tween, (d) tubercules infectés et non traité (contrôle positif).

La figure 26 présente l'effet des formulations à base de la combinaison d'HE la plus active sur la prévention de la pourriture des tubercules contre *P. mononematosum*, après 2, 4, 6 et 8 semaines d'incubation respectivement. Cette figure révèle qu'après 2 semaines d'incubation, quelque soit la formulation, la zone de pourriture est significativement très inférieure à celle du lot contrôle négatif, indiquant que les formulations d'HE ont eu un effet protecteur contre la pourriture causée par *P. mononematosum*. Cependant la formulation HE+tween a plus protégé comparé ($p < 0,05$) à la formulation HE+Kaolin, car ces zones de

pourriture sont plus petites. Egalement à la 8^{ème} semaine, des effets similaires sont observés, les profondeurs de pourritures ont considérablement augmenté dans le cas du témoin négatif et sont très supérieures ($p < 0,05$) à celles des lots traités avec les formulations. La propagation de la pourriture augmente avec la durée de stockage toutefois, la formulation HE+tween a significativement réduit la progression de la pourriture comparé à la formulation HE+kaolin.

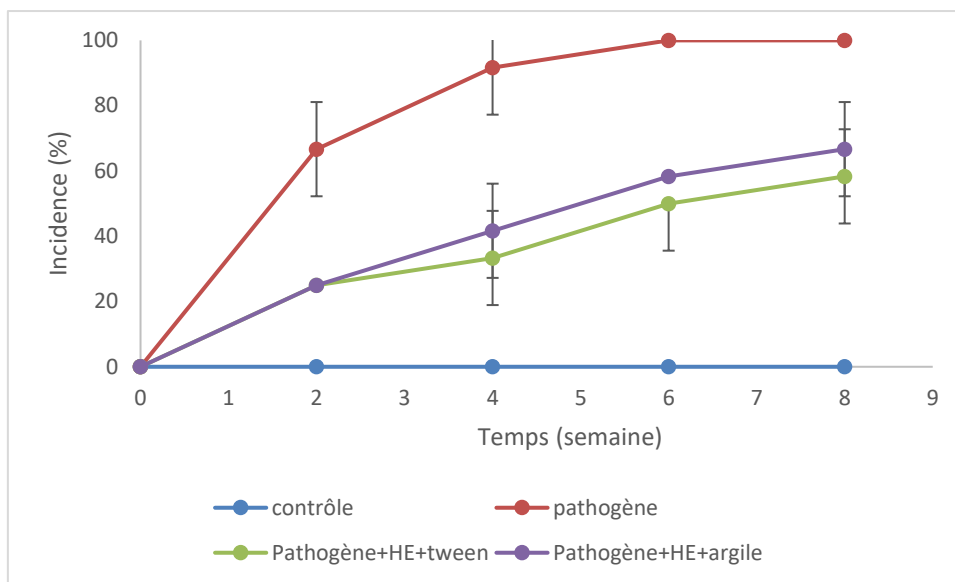


Figure 27: Variation de l'incidence de la pourriture due à *P. mononematosum* en fonction du temps par traitement

La figure 27 illustre, l'incidence causée par *P. mononematosum* après application des formulations d'HE pendant 8 semaines. Elle montre que l'incidence est élevée dans le lot contrôle négatif comparé aux lots ayant été traités avec les formulations d'HE quelque soit la durée d'incubation, elle évolue jusqu'à atteindre 100 % à partir de la 6^{ème} semaine. Les 2 lots traités présentent les incidences de 25 %, les 2 premières semaines tandis que dans le lot contrôle négatif, une incidence de 66,66 % a été obtenue. Ces valeurs indiquent que les formulations d'HEs ont réduit à 75 % l'incidence durant ces 2 semaines comparativement au contrôle négatif. Cette incidence augmente avec la durée d'incubation dans les deux lots jusqu'à 58,33 % et 63,33 % pour les lots traités avec les formulations 1 et 2 respectivement; mais ces valeurs restent nettement inférieures à 100 % obtenu dans le lot contrôle négatif à partir de la 6^{ème} semaine. Ceci indique que ces formulations ont protégé les tubercules d'ignames contre la pourriture due à *P. mononematosum*. Toutefois, la formulation HE+Tween a significativement ($p < 0,05$) réduit la pourriture à partir de la 4^{ème} semaine comparée à la formulation HE+kaolin.

Le calcul de l'index de réduction de la pourriture par les formulations, a été faite à partir des valeurs de l'incidence et représenté dans la figure 28 ci-contre.

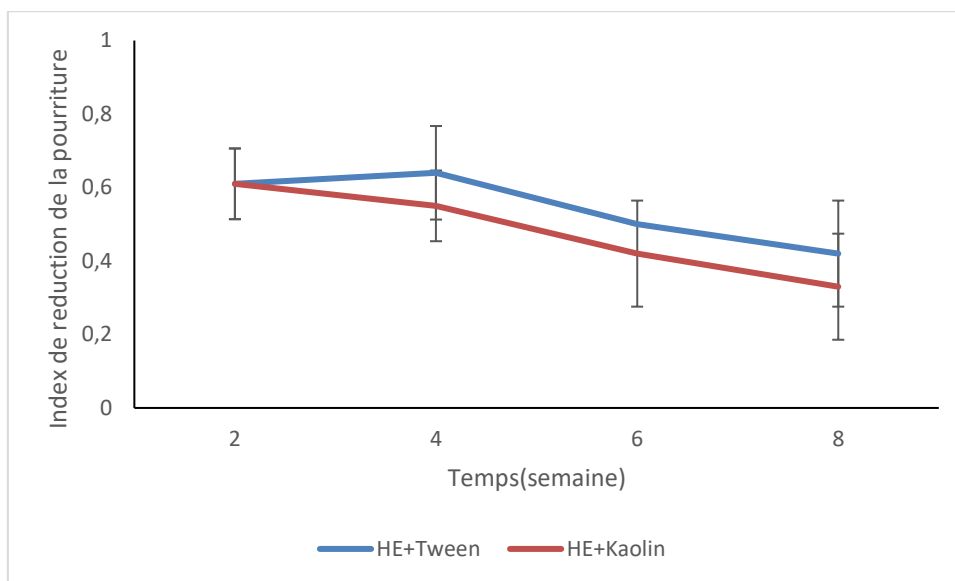


Figure 28: Index de réduction de la pourriture due à *P.mononematosum* par les deux formulations en fonction du temps.

La figure 28 donne les valeurs des index de réduction de la pourriture des tubercules d'igname dues à *P.mononematosum* par les deux formulations à base de la meilleure combinaison des HEs. Il ressort de cette figure que l'IRP diminue avec le temps, quelque soit la formulation. Il varie entre 0,62 à 0,41 pour la formulation HE+tween tandis que celui de la formulation HE+kaolin varie de 0,62 à 0,33. Ces valeurs indiquent que les deux formulations ont effectivement réduit l'incidence de la pourriture. Les tubercules qui n'ont pas pourris étaient frais et ne présentaient aucun signe de la maladie comme dans le lot contrôle blanc non infecté au cours du test comme indiqué sur la figure 26 ci-dessus. Toutefois, il existe une différence significative ($p \leq 0,05$) entre les deux formulations, la formulation HE+tween étant la plus active.

III.1.3.3. Caractéristiques nutritionnelles des farines des différents traitements

Les farines des tubercules traités et celle du lot contrôle négatif après deux mois de stockage ont été soumis à l'analyse de certains paramètres nutritionnels tels que la matière sèche, le taux de cendre, les fibres totaux, les lipides totaux, les protéines et les glucides totaux. Les valeurs qui sont les moyennes de trois déterminations pour chaque critère sont consignées dans le tableau XXIV.

Tableau XXIV: Caractéristiques nutritionnelles des farines des tubercules de *D. rotundata*

Essais \ Paramètres	Matière sèche (g/100g MF)	Cendre totaux	Fibres totaux	Lipides totaux	Protéines totaux	Glucides totaux
Contrôle négatif	94,83±0,04 ^a	1,54±0,11 ^a	1,90±0,07 ^a	12,34±0,13 ^a	5,63±0,05 ^a	73,42±0,23 ^a
THE +KA	95,55±0,01 ^a	1,99±0,09 ^b	1,98±0,11 ^a	12,62±0,28 ^a	5,61±0,04 ^a	73,35±0,09 ^a
THE+Tween	95,55±0,1 ^a	1,86±0,16 ^b	2,05±0,09 ^a	13,34±0,53 ^a	5,74±0,01 ^a	72,56±0,34 ^a

Légende: THE+KA: Traitement Huiles Essentielles +kaolin; THE+Tween: Traitement Huiles essentielles+Tween; P<0,05: Les moyennes ayant les mêmes lettres en exposant sur la même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %.

Le tableau XXIV montre que les teneurs des éléments dosés, exprimés en g/100g de MS (Matière sèche) sont variables. Les teneurs en glucides totaux sont plus élevées et varient de 72,56 à 73,42 g/100g de MS suivi des lipides totaux 13,34 à 12,34 g/100g de MS. Tandis que les protéines totaux varient de 5,61 à 5,74 g/100g de MS. Tous les tubercules ont des pourcentages faibles en fibres totaux compris entre 1,90 et 2,05 g/100g de MS suivis du taux de cendres qui varie de 1,54 à 1,99g/100g de MS. De façon générale, l'analyse des variances a montré que la nature du traitement n'affecte pas significativement (P<0,05) la composition des tubercules de *D. rotundata* pour les paramètres dosés. Donc il n'existe pas de différence significative (P<0,05) entre le lot de tubercules contrôles et les 2 lots de tubercules traités.

Ces résultats indiquent que la combinaison d'HEs de *C. citratus* et *S. aromaticum* pourra être utilisée au cours du stockage des tubercules de *D. rotundata*.

III.2. Discussion

III.2.1. Pertes post-récoltes des ignames et identification des champignons associés aux pourritures d'ignames

Les résultats de l'enquête dans les trois grands bassins de production du Mbam et Kim révèlent un taux élevé des femmes cultivant les ignames. Les femmes jouent donc un rôle crucial dans la production de cette denrée dans les localités visitées. Les producteurs cultivent l'igname pour l'approvisionnement alimentaire des ménages, et génèrent des revenus. De plus, la vente des semences excédentaires d'igname leur génère des revenus supplémentaires (Pouya, 2016). La culture d'igname est multi variétale avec *D. rotundata* et *D. alata* comme espèces les plus cultivées. Il a été démontré qu'elles sont les plus distribuées dans le monde et en Afrique en particulier (Mignouna et Dansi, 2003). En general, dans les bassins de grande production en Afrique, seules les méthodes de stockage traditionnelles sont utilisées (Gosh *et al.*, 1999). Cependant, ces méthodes ne permettent pas

le stockage des tubercules pendant une longue période. En effet, Lessard, (2015) affirme que pour une conservation de longue durée, il est nécessaire de respecter un certain nombre de règles concernant le local et la température du local d'entreposage.

La pourriture a été évoquée par 87,65 % de paysans enquêtés dans le Mbam et Kim comme étant la principale contrainte à laquelle font face les tubercules stockés. La majorité des paysans perd en moyenne 20 à 40 % d'ignames produits au cours du stockage dans les localités visitées. Des pertes comprises entre 70-75 % ont été enregistrées chez certains producteurs (4,44 %) dans la localité de Mbangassina. Des observations similaires ont été obtenues suite à des enquêtes menées sur les grands marchés au Ghana. Les pertes post-récoltes de *Dioscorea rotundata* ont été estimées à 10-40 % par Cornelius, (1998) et au-delà de 70 % par Aidoo, (2007). Ces pertes représentent un manque à gagner pour les producteurs et entravent la capacité des exploitants à générer des revenus durables et la disponibilité des ignames sur les marchés (Cornelius, 1998; Aidoo, 2007). Les résultats de l'enquête ont montré que deux types de pourritures sont à l'origine de l'incidence observée dans les zones visitées: la pourriture molle et la pourriture sèche avec des incidences de 33,33 % et 41,66 % respectivement. Cette différence au niveau des types de pourritures serait liée à la nature des microorganismes impliqués.

Des tubercules de *D. rotundata* et *D. alata*, présentant les symptômes de pourriture au cours de l'enquête dans le Mbam et Kim, 87 moisissures ont été isolées desquelles, trente isolats ont infecté les tubercules sains inoculés au cours du test de pathogénicité. Ce qui incrimine les moisissures comme des agents associés aux pertes post-récoltes des ignames au cours du stockage (Ray *et al.*, 2000; Frank et Kingsley, 2014). L'identification a montré que les souches pathogènes étaient *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Asperillus niger*, *Penicillium monomenatosum*, *Rhizopus oryzae*, *Talaromyces flavovirens*, et *Bionectria ochroleuca*. Ces agents pathogènes ont causé les pourritures telles qu'observées sur les tubercules collectés, en fonction des isolats: pourriture sèche (60 %) et molle (40 %). Certaines de ces espèces ont déjà été identifiées par plusieurs auteurs comme étant des agents responsables des pertes post-récoltes des *Dioscorea* spp dans les zones de cultures (Amusa et Baiyewu, 1999; Ray *et al.*, 2000; Sameza *et al.*, 2016). Cependant, l'espèce *Penicillium monomenatosum* (NT1), la plus virulente avec une incidence de 100 % et un index de sévérité de 58,33 % a été identifiée pour la première fois comme pathogène de l'igname. Ces pathogènes produisent des enzymes hydrolytiques qui seraient à l'origine de la détérioration des tissus des tubercules infectés, causant les pourritures sèches et molles, ce qui réduit leur valeur marchande (Amadioha, 2012; Oladoye *et al.*, 2013).

Tous ces pathogènes détruisent la qualité et la quantité des tubercules stockés et réduisent leur disponibilité sur les marchés au cours de l'année. Ainsi pour limiter cette pourriture, les données de l'enquête montrent que plusieurs producteurs des sites d'étude utilisent plus les produits chimiques comme méthode de contrôle. Ces produits chimiques sont inadéquats et contribuent à augmenter le risque d'intoxication et de pollution de l'environnement (Okigbo, 2004; Jawich, 2006). Il devient donc urgent de trouver des méthodes de contrôle adéquates pour le stockage à long terme des tubercules après la récolte.

III.2.2. Composition chimique des HE de *Cymbopogon citratus* et *Syzygium aromaticum* et activité antimicrobienne vis-à-vis des phytopathogènes

L'HE de *S. aromaticum* a donné un rendement inférieur au 7 % obtenu par Ayoola *et al.*, (2008) pour un échantillon récolté au Nigérian. De même le rendement en HE de *C. citratus* (0,14 %) est très inférieur à 0,67 % obtenu par Tchoumboungang *et al.*, (2009) pour un échantillon récolté à Douala. Cette disparité observée dans les rendements peut être due aux facteurs tels que: l'espèce végétale, la teneur en eau de la plante la période, le lieu de récolte, la nature du sol et le temps d'hydrodistillation (Tchoumboungang, *et al.*, 2006).

L'analyse de la composition chimique des huiles a révélé que l'HE de *S. aromaticum* a pour composés majoritaires limonène (42,1 %) et eugénol (40,87 %). Ces résultats sont différents de ceux de Charu *et al.*, (2012) qui ont obtenu l'eugénol (58,29 %) et eugénol acétate (19,10 %) comme composés majoritaires de l'HE de cette espèce récoltée en Inde. Quant à l'HE de *C. citratus*, sa composition chimique est proche de celle obtenue par Tchoumboungang *et al.*, (2009) qui ont obtenus les monoterpènes comme classe majoritaire (97,4 %) mais pour composé prédominant le citronellal (16,9 %) et non le cis-ocimène 55,79 % et P-Ment-2-en-1-ol 16,77 %. À la meilleure connaissance des auteurs, le cis-ocimène n'a jamais été rapporté comme constituant majoritaire de *C. citratus* de même pour le limonène présent dans *S. aromaticum*. Ces variations dans la nature et les proportions des composés seraient dues aux facteurs édaphiques et climatiques (Tchoumboungang, *et al.*, 2005; Tchoumboungang, *et al.*, 2006).

Les HEs ont inhibé la croissance mycélienne et la germination des spores de toutes les souches avec des CMI variant en fonction de la souche et de la substance antifongique. Les spores d'*A. niger* sont moins sensibles à *S. aromaticum* qui inhibe avec une CMI de 1,25 mg/mL, et celles de *R. oryzae* sont moins sensibles à *C. citratus* (CMI, 1,25 mg/mL). Cette différence de sensibilité ($p < 0,05$) peut être attribuée à la diversité biologique et physiologique qui caractérise chaque espèce fongique. Wouatsa, (2008) avait également

observé cette différence de sensibilité entre l'espèce *Rhizopus. stolonifer* et *Fusarium. moniliforme* à l'action d'HE de *Pycnostachys meyeri*. Les CMI de *C.citratus* sur la croissance mycelienne varient de 0,312 à 1,25 mg/ml. Tandis que celles CMI de *S. aromaticum* sont comprises entre 0,312 et 0,625 mg/ml. Donc l'HE de *S. aromaticum* est plus active que celle de *C.citratus*. Les analyses statistiques ont montré que quelque soit la souche l'activité de l'HE de *S. aromaticum* est différente de celle de *C. citratus* ($P < 0,05$). Cette différence d'activité antifongique observée entre les HEs serait due à la différence observée au niveau de leur composition chimique (Pibiri, 2005). L'HE de *S. aromaticum* contient les composés phénoliques tel que l'eugénol qui sont connus pour leur forte activité sur les moisissures phytopathogènes à cause des interactions qu'ils établissent avec la membrane cellulaire. Cette différence d'activité observée au sein de ces HEs pourrait être liée également à la présence dans ces dernières des composés de nature différente agissant à des niveaux cellulaires variés affectant ainsi le métabolisme cellulaire des champignons différemment (Ghannoun et Rice, 1999). Plusieurs auteurs ont attribué l'activité des HE à leurs composés phénoliques et terpéniques (Davidson, 1997; Nychas, 1995). En effet, les composés phénoliques sont connus pour leur forte activité sur les moisissures phytopathogènes à cause des interactions qu'ils établissent avec la membrane cellulaire. Ils conduisent à faible concentration à l'altération de la perméabilité membranaire et à forte concentration, ils entraînent la perte de l'homéostasie, la destruction de la paroi suivi de la mort du microorganisme (Carson *et al.*, 2002). Tandis que, les composés terpéniques inhibent la croissance mycélienne en augmentant la concentration des peroxyde lipidiques ce qui conduit à la mort cellulaire (Bouayad *et al.*, 2014).

Toutefois, bien que l'activité biologique d'une HE soit attribuée à ses constituants majoritaires, l'effet synergique des composés en faibles proportions peut influencer significativement cette activité (Daferera *et al.*, 2003, Soumanou et Adjou, 2016).

La combinaison des HEs a conduit a une augmentation de l'activité antifongique des HEs. Ceci serait due à l'action combinée des métabolites présents dans les différentes HEs. Car, ces HEs sont riches en composés terpéniques et aromatiques qui ont généralement pour principales cibles la paroi cellulaire et la membrane cellulaire. Cette action des composés sur la membrane conduit à la déstabilisation de son intégralité qui conduit à la perte la perméabilité et la fluidité (Gilles *et al.*, 2010). En effet, Chou, (2006) a mentionné que lorsque deux ou plusieurs composés à mécanisme d'action différents sont testés en combinaison, l'activité observée est généralement plus élevée que celle des produits pris individuellement. Par ailleurs, les HEs sont constituées d'une large gamme de métabolites

secondaires ayant des cibles d'actions différentes affectant de ce fait le métabolisme et la croissance des microorganismes (Cowan, 1999) d'où la différence dans la nature des interactions obtenues.

L'effet synergique obtenu lors des combinaisons peut être dû au fait que les constituants des HEs agissent sur des cibles différentes ou interagissent entre eux dans le but d'améliorer la biodisponibilité des différents composés présent dans les HEs (Wagner et Ulrich-Merzenich, 2009). De plus, Pei *et al.*, (2009) ont montré que les monoterpènes oxygénés causeraient la désintégration de la membrane cellulaire pour permettre l'entrée des composés aromatiques tel que l'eugénol au niveau du cytoplasme qui vont se lier aux protéines du pathogène et entraîner leur destruction. Tandis que l'effet additif est lié à l'interaction entre les composés de même nature principalement les composés phénoliques (Lambert *et al.*, 2001). Toutefois, De Azeredo *et al.*, (2011) ont montré que les composés hydrogénés ont la capacité d'interagir avec la membrane cellulaire pour faciliter l'entrée des monoterpènes oxygénés dans la cellule. Ainsi, les interactions entre les composés pourraient conduire à un effet synergique, additive ou antagoniste en fonction des souches. En effet des effets similaires ont été obtenus par GyörGyi *et al.*, (2016) qui ont obtenu en combinant les HEs de *Cinnamomum zeylanicum* et *Cymbopogon nardus* un effet synergique sur *Candida albican*, additif sur *Aspergillus fumigatus*, antagoniste sur *Fusarium solani*.

III.2.3. Potentiel bioprotecteur des combinaisons et effet sur quelques paramètres nutritionnels des tubercules d'igname

Les HEs ont inhibé totalement *in vitro* la croissance mycélienne et la germination des spores des souches pathogènes testées à des CMI variant en fonction de l' HE et en fonction des souches. Leurs combinaisons ont présenté des activités à des concentrations inférieures à celles utilisées pour les tests individuels. Des effets positifs ont été obtenus sur certaines souches à savoir sur *A. niger* et *R. stolonifer*, et *P. mononematosum*. Ces résultats ont permis d'évaluer le potentiel curatif et préventif *in situ* des combinaisons des HEs contre la pourriture due à *P. mononematosum*. A l'issue de ce test, une réduction de la sévérité de 47,57 % à la combinaison A a été obtenue et 100 % à la combinaison B au cours du traitement préventif; tandis que pour le traitement curatif, une réduction de 27,85 % à la combinaison A et une réduction de 44,28 % à la combinaison B ont été notées. Donc la meilleure protection a été obtenue lorsque la combinaison est appliquée avant l'infection et à la concentration (40/40 mg/ml). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Sameza *et al.*, (2016) qui ont montré que l'HE de *S. aromaticum* a plus réduit la pourriture due à *Rhizopus stolonifer* au cours du test préventif comparé au test curatif. Ceci corrobore avec les travaux de Obilo *et*

al., (2005) qui ont montrés qu'une fois que le pathogène a pénétré dans le tubercule, il est difficile de contrôler sa progression.

La combinaison ayant montrée une bonne protection des fragments de tubercules au cours des tests préventifs a été testée dans un modèle d'entreposage semi naturelle en cage sur les tubercules entiers après formulation afin de contourner l'effet volatile et rendre facilement applicable la combinaison HE. Les deux formulations ont été appliquées avant infection des tubercules par *P. mononematosum*. Les résultats ont montré que les deux traitements contrairement au lot contrôle non traité ont significativement ($P < 0,05$) protégé les tubercules contre la pourriture. Des résultats similaires ont été obtenus par Abdolahi *et al.*, (2010) qui ont montrés que les HEs de *Carum copticum L.* et *Foeniculum vulgare Mill* réduisaient la pourriture des tomates les 10 premiers jours de stockage; mais l'incidence augmentait avec la durée du stockage.

Il a été noté des IRP variant de 0,62 à 0,41 pour la formulation HE+tween et de 0,62 à 0,33 pour la formulation HE+ kaolin. Les valeurs des IRP des formulations indiquent qu'elles ont eu des effets similaires ($P > 0,05$) les deux premières semaines. Toutefois, ils deviennent différents ($P < 0,05$) à partir de la 4^{ème} semaine. On a observé, un effet protecteur prononcé dans le lot traité avec HE+tween comparé au lot HE+kaolin. Ceci serait dû d'une part à la nature des supports et d'autre part au mode d'application qui différencie les 2 formulations. En effet la nature du support influence sur la stabilité et la libération des principes actifs des HEs (Nguemtchouin, 2012). Dans la formulation à base HE+tween, le support est le tween qui est une molécule amphiphile donc posséderaient des liaisons hydrophyles et hydrophobes qui leur permettraient de lier les HEs qui sont des molécules hydrophyles et les rendre plus stables. Donc le tween limiterait la volatilité des HEs et les rendrait plus disponible sur l'aliment pendant une longue durée. Tandis que dans la formulation à base de HE+kaolin, il s'agit du kaolin qui est composé de la kaolinite dont la structure chimique est un hexagone constitué d'empilements de feuillets avec les surfaces amphotères qui les offrent une faible capacité d'échange (Gridi-Bennadji, 2007). Donc les HEs ne forment pas des liaisons stables avec la kaolinite ce qui suscitera leur volatilité et leur action sera observée seulement pendant une courte durée. Les résultats des analyses des paramètres nutritionnels ont montré que la combinaison d'HEs testée n'affecte pas significativement ($p < 0,05$) la valeur nutritionnelle des tubercules de *D. rotundata*..

*Conclusion et
Perspectives*

CONCLUSION

Le présent travail a porté sur la caractérisation des pertes post-récoltes des tubercules d'ignames dans le département du Mbam et Kim et sur l'évaluation du potentiel bio protecteur de deux huiles essentielles et de leurs combinaisons contre la pourriture post-récolte de *Dioscorea* spp. Au terme de cette investigation, il en ressort que:

– la pourriture est la principale cause des pertes post-récoltes des tubercules de *Dioscorea* spp. dans les 3 arrondissements du Mbam et Kim visités. Elle a été incriminée par 87,65 % de producteurs enquêtés. Les pourritures sèche et molle ont été observées avec des incidences de 41,66 % et 33,33 % respectivement. Au total 87 fongiques ont été isolés des tubercules présentant les symptômes de pourriture collectés, desquels 30 ont été positifs au test de pathogénicité. Ces agents pathogènes produisent au moins une enzyme hydrolytique. L'identification moléculaire des virulents a révélé qu'il s'agit des espèces *F. solani* (20 %), *F. oxysporum* (20 %), *A. Niger* (20 %); *R. oryzea* (10 %), *B. ochreuleca* (10 %), *P. mononematosum* (10 %), *T. flavovirens* (10 %), *P. mononematosum* étant la plus virulente avec une incidence de 100 % et un indice de sévérité de 58,33 %.

– les rendements d'extraction ont été de 0,136 % et 6,34 % respectivement pour l'HE de *C. citratus* et *S. aromaticum*. L'HE de *S. aromaticum* a le limonène (42,1 %) et l'eugénol (40,87 %) comme composés majoritaires et Celle de *C. Citratus* a plutôt le cis-cimène (55,79 %) et P-Ment-2-en-1-ol (16,77 %). En ce qui concerne les activités antifongiques, les CMI des HE sur la croissance mycélienne et sur la germination des spores des souches testées varient de 0,156 à 2,5 mg/mL. La combinaison d'HE a donné des interactions synergiques sur *R. oryzea* et *A. niger*, additive sur *P. mononematosum* et indifférente sur *F. solani* et *F. oxysporum*.

– la combinaison d'HE à la concentration 40 mg/mL a inhibé totalement l'infection des fragments de tubercules par *P. mononematosum* au cours du test préventif avec un IRP de 1 après 15 jours. Quant au test *in vivo* sur les tubercules entiers, la formulation HE+ Tween a plus protégé les tubercules comparé à la formulation HE+kaolin. Les valeurs d'IRP de 0,41 et 0,33 ont été enregistrées respectivement pour la formulation HE+tween et HE+kaolin après 2 mois de stockage. La combinaison d'HE n'affecte pas la valeur nutritionnelle des tubercules.

Ces résultats montrent que les HEs de *S. aromaticum* et *C. citratus* pourraient être utilisées pour la formulation de biopesticide contre les fongiques associés aux pourritures post-récoltes de *Dioscorea* spp.

PERSPECTIVES

Considérant ce qui précède, ce champ d'intérêt devra être exploré davantage afin de mettre sur pied un pesticide naturel. Nous envisageons à cet effet de:

- étendre l'étude sur d'autres bassins de production d'ignames au Cameroun;
- isoler et identifier les microorganismes responsables des pourritures de *Dioscorea* spp dans ces bassins de productions;
- évaluer le spectre de cette formulation sur les autres pathogènes causant la pourriture de *Dioscorea* spp;
- étudier le mécanisme d'action de la formulation.

Références

REFERENCES

- Abdolahi, A., Hassani, A., Ghosta, Y., Javadi, T., and Meshkatalasadat, M.H., (2010). Essential oils as control agents of postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits. *Journal of Food Safety*, 30: 341-352.
- Acquah, E.T, Evange W.N (1994). The economics of yam (*Dioscorea* spp.) production in Cameroon: the case of Fako Division. *Acta Horticulture*, 380: 373-377.
- Adams, R., (2007). Identification of essential oil by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 804p.
- Adesiyun, S.O., and Odihirin, R.A., (1975). Histopathology studies of the yam tuber (*Dioscorea rotundata* Poir) infected with *Scutellonema bradys* (Steiner & Hettew). *International Biodeterioration Bulletin*, 11: 48-55.
- Adidehou, Y. A., (2004). Economie des systèmes de production intégrant la culture de l'igname en zone cotonnière: Une analyse des contraintes par un modèle de programmation linéaire. Etude du cas du village Alawénonsa (commune de Glazoué). *Thèse Pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome, Université D'Abomey-Calavi*, 157 p.
- AFNOR (Association Française de Normalisation), (1982). Recueil des normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes. Jus de fruits. 1^{ère} éd., Paris la defense (France).
- AFNOR, (1981). Recueil de normes françaises. Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés, AFNOR, 2^{ème} édition, Paris (France).
- AFNOR, (1984). Recueil de normes françaises. Produits agricoles alimentaires: directives générales pour le dosage de l'azote avec minéralisation selon la méthode de Kjeldahl. AFNOR, Paris (France).
- Afoakwa, A.O., Sefa-Deheh, (2001). Chemical composition and quality change occurring in *Dioscorea dumetorum* Pax tubers after harvest. *Food chemistry*, 75: 85-91.
- Agbor-Egbe, T., Glniangda, S., Piartln, G.E., Mba, M.C., Mbcihe-Lape, I., Ngo Som, J., Noubi, L., Treche, S., (1984). Potentialités de l'igname *Dioscorea dumetorum* au Cameroun: Institut de Recherches Médicales et D'études des Plantes Médicinales: Centre de Nutrition, 12 p.
- Agbor-Egbe, T., Trèche, S., (1995). Evaluation of the chemical composition of Cameroonian yam germplasm. *Journal of Food Composition and Analysis*, 8: 274-283.

Références

- Agbor-Egbe, T., Trèche, S., (1996). Biochemical changes occurring during growth storage of two yam species. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 47: 93-102.
- Agrios, G.N., (2005). Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. pp 245-280.
- AGRI-STAT 15, (2009). Annuaire des Statistiques du Secteur Agricole du Cameroun. p12
- AGRI-STAT 17, (2012). Annuaire des Statistiques du Secteur Agricole du Cameroun. p16
- Aidoo, K.A., (2007). Identification of yam tuber rot fungi from storage systems at the Kumasi Central market. *A dissertation submitted to Faculty of Agriculture, K.N.U.S.T.* p2.
- Ake-Assi, L., (2002). Flore de la Côte d'Ivoire: catalogue systématique, biogéographique et écologique, Tome II, Volume 58. 1^{er} éd conservatoires et jardin botaniques, Genève Revue Boissiera, p58
- Al-Mughrabi, K., Coleman, W.K., Appanna, V., Poirier, R., and Jayasuriya, K., (2013). Effectiveness of essential oils and their combinations with aluminum starch octenylsuccinate on potato storage pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16: 23-31.
- Amadioha, A. C., (1998). Control of powdery mildew of pepper (*Capsicum annum* L) by leaf extract of *Carica papaya*. *Journal of Herbs Spices and Medecinal Plant*, 6: 41-47.
- Amadioha, A.C., (1996). Control of storage rot of potato caused by *Rhizopus oryzae*. *International Journal of Pest Management*, 52: 311-314.
- Amadioha, A.C., (2012). Reducing food losses through sustainable methods of plant disease management: an imperative for actualization of food security in Nigeria. In 13th inaugural lecture MOUAU, June.
- Amusa, N. et Baiyewu, R., (1999). Storage and market disease of yam tubers in Southwestern of Nigeria. *Ogun Journal of Agriculture Research*, 11: 211-225.
- Amusa, N.A., Adegbite1, A.A., Muhammed, S., and Baiyewu, R.A., (2003). Yam diseases and its management in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 2: 497-502.
- Anofel, (2002). *Parasitologie mycologie*, 7^{ème} ed, Format utile, Anger, pp 301-373.
- Antonov, A., Stewart, A., Walter, M., (1997). Inhibition of Conidium Germination and Mycelial Growth of *Botrytis Cinerea* by Natural Products. New Zealand Plant Protection Society: 50th N.Z. Plant Protection Conference, pp 159-164.

Références

- AOAC, (1975). *Methods of analysis of the association of Official Analytical Chemists*, 10th ed. AOAC, Washington, DC.
- Asiedu–Larbi, J., (2010). *Production and Storage of Minimally Processed Chips from Water Yam (Dioscorea Alata)*. Thesis for the Degree of Master, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, 136p.
- Ayoola, G.A., Lawore, F.M., Adelowotan, T., Aibinu, I., Adenipekun, E., Coker, H.A.B., and Odugbemi, T.O., (2008). Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* (clove). *African Journal of Microbiology Research*, 2: 162-166.
- Baah, D. F., (2009). *Characterization of Water Yam (Dioscorea Alata) for existing and potential food*. A Thesis for the Degree of Doctor, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, 193 p.
- Bankole, S.A., Joda A.O., (2004). Effect of lemon grass (*Cymbopogon citratus Stapf*) powder and essential oil on mould deterioration and aflatoxin contamination of melon seeds (*Colocynthis citrullus*). *African Journal of Biotechnology*, 3: 55-59.
- Barbelet, S., (2015). *Le Giroflier : historique, description et utilisation de la plante et de son huile essentielle*. Thèse De Doctorat En Pharmacie. Université De Lorraine, 120p.
- Berenbaum, M.C., (1978). A method for testing for synergy with any number of agents. *Journal of Infectious Diseases*, 137: 122-130.
- Bhandari, M.R., Kawabata, J., Kasai, T., (2003). Nutritional evaluation of wild yam (*Dioscorea* spp.) tubers of Nepal. *Food Chemistry*, 80: 619-623.
- Bouchet, P., Guignard, J., Madulo-Lebanc, G., Regi, P., (1989). *Mycologie générale médicale*. Edition Masson, Paris, 179 p.
- Bourelly, J. (1982). Observation sur le dosage de l'huile des graines de cotonnier. *Cot. Fib. Trop*, 27 (2): 183-196.
- Boysen, M.E., Jacobsson, K.G., Schnürer, J., (2000). Molecular Identification of Species
- Bricas, N., and Vernier, P., (2000). Situation en Afrique et dans le monde. Un tubercule au fort potentiel de développement. *Bulletin Technologies et Partenariat en Agroalimentaire*, 18: 5-7.
- Bruneton, J., (1993). *Phytochimie des plantes médicinales*, 3^{ème} édition, Technique de Documentation, Lavoisier, Paris, France, pp 406-464.

Références

- Bruneton, J., (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 3^{ème} édition. *Technique et Documentation*, Lavoisier, Paris, France, 1120p.
- Burt, S., (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.
- Cahagnier, B., Richard-Molard D., (1998). Analyse mycologique in *Moisissures des aliments peu hydratés*, Ed. Tec & Doc, p 140-158
- Campbell, C.K., Johnson, E.M., Philpot, C.M., Warnock, D.W., (1996), Identification of pathogenic fungi, *Public Health Laboratory Service*, 298p
- Carson, C. F., Mee, B. J., Riley, T. V., (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46:1914–1920.
- Chabasse, D., Bouchara, J.P., Degentile, L., Brun, S., Cimon, B., Penn, P., (2002). *Les moisissures d'intérêt médicales*. Laboratoire de Parasitologie-mycologie du Centre Hospitalier Universitaire d'Anger, 25: 4-157.
- Charu, M. M., Gunjan, S., Avinash, J., Ruchi, N., Rohtash, K., Aijaz, A., (2012). *In vitro* inhibitory effect of clove essential oil and its two active principles on tooth decalcification by apple Juice. *International Journal of Dentistry*, 10 (1155): 6p
- Chou, T.C., (2006). Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacological Reviews*, 58: 621-681.
- Clayton, W.D., (1968). In *Flora of West Africa*. Trop Afr, 3: 349–512
- Cornelius, E.W., (1998). Causes and control of tuber rots of white yam (*Dioscorea Rotundata* Poir varieties araba, asana and puna). *Doctoral thesis. Department of Crop Science, Faculty of Agriculture University of Ghana Legon*. 137p.
- Daferera, D.J., Ziogas, B.N., and Polissiou, M.G., (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection*, 22: 39-44
- Davidson, P.M., and Taylor, T.M., (1997). Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville (eds.) *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. *American Society for Microbiology*. Washington. pp 520-556.

Références

- De Azeredo, G.A., Stamford, T.L.M., Nunes, P.C., Neto, N.J.G., De Oliveira, M.E.G., and De Souza, E.L., (2011). Combined application of essential oils from *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables. *Food Research International*, 44: 1541-1548.
- Degras, L., (1986). L'igname : plante à tubercules tropicales. In Editions G.-P. Maisonneuve & Larose, *Techniques Agricoles et Productions Tropicales*, Paris, 36p.
- Devani, M.B., Shishoo, J.C., Shal, S.A and Suhagai, B.N. (1989). Spectrophotometrical method for determination of nitrogen in Kjeldahl digest *JAOAC*, 72: 953-956.
- Dial, S.M., (2007). Fungal diagnostics: current techniques and future trends, *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 37(2):373-92.
- Dumont, R., Zoundjhekpon, J., Vernier, P., (2010). Origine et diversité des ignames *Dioscorea rotundata* Poir. *Cahiers Agricultures*, 19: 255-61.
- Dumont, R., Vernier P., (1997). Domestication of yam (*D. cavensis* and *D. rotundata*) within the Bariba ethnic group of Benin. *Out Look on Agriculture*, 29: 137-142.
- Ezeibekwe, I.O., Opara, M.I., and Mbagwu, F.N., (2009). Antifungal effect of Aloe-Vera gel on fungal organisms associated with yam (*Dioscorea Rotundata*, Poir) Rot. *Journal of Molecular Genetics*, 1: 11-17.
- Ezeibekwe, I.O., Umeoka, N., and Izuka, C.M., (2016). Field Survey of symptoms and isolation of fungi Associated with post-harvest rots of white yam (*Dioscorea Rotundata* Poir.). *Journal of Food Processing & Technology*.7: 642. doi: 10.4172/2157-7110.1000642.
- FAO, (2003). Les variétés des ignames consommées au Cameroun. FAO: Rome.
- FAO, (2006). Weed management for developing countries. (AndendumI). pp 1-28.
- FAOSTAT, (2018). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: www.fao.org. Consulté le 22 mars 2020.
- FAOSTAT, (2019). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: www.fao.org. Consulté le 16juin 2021.
- Fekam, B.F., (2004). Huiles essentielles d'annonacées Camerounaise: analyse chimique, activités antioxydantes et antiplasmodiales. *Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Yaoundé I*, pp 34-51.

Références

- Fisher, E. and Stein, E.A. DNS colorimetric determination of available carbohydrates in foods. *Biochemical préparatio*, 8: 30-37.
- Food and Agricultural Organization (FAO). Food and Agricultural Organization of the United Nations, (2008).
- Food and Agricultural Organization (FAO). Production Yearbook, Rome, (1998).
- Frank, C.O., and Kingsley, C.A., (2014). Role of fungal rots in post-harvest storage losses in some Nigerian varieties of *Dioscorea* species. *British Microbiolog Research Journal*, 4 (3): 343-350.
- Girardin, O., Nindjin, C., (1996). Etude de l'amélioration du stockage traditionnel. Ecoles Polytechnique Fédérale de Zurich et Université d'Abidjan, Rapport SEMPERVIRA, 5: 2-16.
- Girardin, O., (1996). Technologie après-récolte de l'igname: étude de l'amélioration du stockage traditionnel en Côte d'Ivoire. *Thèse de doctorat*, Ecole Polytechnique Fédérale Zurich, Suisse, n° 11710 p 298.
- Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., and Nerín, C., (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*, 116: 982-989.
- Gosh, S.P., Ramanujam, T., Jos, J.S., Moorthy, S.N., Nair, R.G., (1999). Tuber Crops. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi.
- Gridi-Bennadji, F., (2007). Matériaux de mullite à microstructure organisée composés d'assemblages muscovite –kaolinite. Thèse de doctorat. Université de Limoges, 181p.
- Guiraud, (1998). *Microbiologie alimentaire*. Edition Dunod, Paris, 8:98-99.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., and Bourke, P., (2009). Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. *Food Microbiology*, 26: 142-150.
- Gwa, I.V., Bem, A.A., and Okoro, J.K., (2015). Yams (*Dioscorea rotundata* Poir and *D. alata* Lam.) fungi etiology in Katsina-Ala Local Government Area of Benue State, Nigeria. *Journal of Phytopathology and Plant Health*, 3: 38-43.
- GyörGyi, H., Jenei, J.T., VágVölgyi, C., Böszörményi, A., and Kirsch, J., (2016). Effects of essential oil combinations on pathogenic yeasts and moulds. *Acta Biologica Hungarica*, 67: 205-214.

Références

- Hageskal, G., Knutsen, A.K., Gaustad, P., de Hoog, G.S., Skaar1, I., (2006). Diversity and Significance of Mold Species in Norwegian Drinking Water. *Applied and Environmental Microbiology Journal*, 72 (12): 7586-7593.
- Herzog, F., Farah, Z., and Amado, R., (1993): Nutritive value of four wild leafy vegetables in Côte d'Ivoire. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 63: 234-238.
- Hinrikson, H.P., Hurst, S.F., De Aguirre, L., Morrison, C.J., (2005). Molecular methods for the identification of *Aspergillus* species. *Medical Mycology*, 43 (1): 129-137.
- IITA (International Institute of Tropical Agriculture), (1993). Crop improvement division/tuber root improvement program archival reports. Part III yam, *Dioscorea* spp. Ibadan, Nigeria: 20-85.
- Ikotun, T., (1989). Diseases of yam tubers. *Tropicals plant disease*, 7: 1-21.
- Iwu, M.M., (2014). *Handbook of African medicinal plants*. Second Edition. CRC Press-Taylor & Francis Group. 506p.
- Jaleel, C.A., Gopi, R., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Gomathinayagam, M., Panneerselvam, R., (2007). Changes in biochemical constituents and induction of early sprouting by triadimefon treatment in white yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) tubers during storage. *Journal of Zhejiang University Science*, 8: 283–288.
- Jawich, D., (2006). Etude de la toxicité des pesticides vis-à-vis de deux genres de levures: approche cinétique et moléculaire. *Thèse de Doctorat, de l'Institut National Polytechnique de Toulouse*, 134 p.
- Jin, J., Lee, Y.K., Wickes, B.L., (2004). NOTES Simple Chemical Extraction Method for DNA Isolation from *Aspergillus fumigatus* and Other *Aspergillus* Species, *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (9): 4293-4296.
- Kalemba, D., and Kunicka, A., (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10: 813-829.
- Karunamoorthi, K., Ilango, K., and Murugan, K., (2010). Laboratory evaluation of traditionally used plant-based insect repellent against the malaria vector *Anopheles arabiensis* Patton (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 106: 1217-23.
- Korish, M., (2003). Production, purification, properties and application of the cellulose from a wild type strain of a yeast isolate. *Doctoral thesis, Faculty of biology, Johannes Gutenberg-University, Mainz, Germany*. 140p.

Références

- Kouagheu, J., (2019). Cameroun :«< j'ai été sauvée par l'igname>>. Le Monde Afrique. Agriculture. <https://www.lemonde.fr/afrique/article/>. Consulté en Mars 2020.
- Kuiaté, J.R., (2004). Caractérisation chimique et biologique des dermatophytes et plantes médicinales antifongiques à «effets antifongiques» dans les hauts plateaux et l'Ouest Cameroun. *Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Yaoundé I*, 163 p.
- Lahlou, M., (2004). Methods to study the Phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18: 435-448.
- Lambert, R.J., Skandamis, P.N., Coote, P.J., and Nychas, G.J., (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91: 453-462.
- Lazar-Baker, E.E., Hetherington, S.D., Ku, V.V., and Newman, S.M., (2011). Evaluation of commercial essential oil samples on the growth of postharvest pathogen *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey. *Letters in Applied Microbiology*, 52: 227-232.
- Lecellier, A., (2013). Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Présentée pour obtenir le grade de Docteur de l'université de Reims champagne-ardenne, 194 p.
- Leng, M.S, Djeukeu, A.W, Gouado, I., Ndjouenkeu, R., (2016). Current knowledge on *Dioscorea schimperiana* traditional drying technology in Cameroon. *International Journal of Advance Research*, 4:11. ISSN 2320-9186. <http://www.ijoar.org>
- Ling, K.H., Kian, C.T., and Hoon, T.C., (2009). A guide to medicinal plant: an illustration, scientific and medicinal approach. *World scientific publishing Co Pte Ltd*, Singapore. 312p.
- Liu, X.D., and Yan, X., (2008). A novel raw starch digesting α -amylase from a newly isolated *Bacillus* sp. YX-1: purification and characterization. *Bioresource Technology*, 99: 4315-4320.
- Lourougnon, F., Heroin, P., Therizol, M., Kanga, J.M., Djeha, D., Toboue, P., and Aka, B.D., (1991). Efficacité clinique de la naftifine dans le traitement des dermatomycoses. *Médecine d'Afrique Noire*, 38: 709-714.
- Matasyoh, J.C., Wagara, I.N., Nakavuma, J.L., and Kiburai, A.M., (2011). Chemical composition of *Cymbopogon citratus* essential oil and its effect on mycotoxigenic *Aspergillus* species. *African Journal of Food Science*, 5: 138-142.

Références

- Mbome-Lappe, Treche, S., (1994). Nutritionnal quality of yams (*Dioscorea rotundata* and *Dioscorea dumetorum*) flour for growing rats. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 66: 447-455.
- Meletiadis, J., J.F.G.M., Meis, Mouton, J.W., and Verweij, P.E., (2001). Analysis of growth characteristics of filamentous fungi in different nutrient media. *Journal of Clinical Microbiology*, 39: 478-484.
- Mignouna, H.D., and Dansi, A., (2003). Yam (*Dioscorea* spp.) domestication by the Nago and Fon ethnic groups in Benin. *Genetic resource and Crop Evolution*, 50: 519-528.
- Mi-Jin P., Ki-Seob, G., In Y., Won-Sil, C., Hyun-Jin, J., Je-Won, C., Eui-Bae, J., In-Gyu, C., (2007). Antifungal Activities of the Essential Oils of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their Constituents against Various Dermatophytes. *The Journal of Microbiology*, 45: 460-465.
- MINADER., (2005). *Document de Synthèse de l'étude de Base sur les Racines et Tubercules*, Ministère de l'Agriculture, Programme National de Développement des Racines et Tubercules, Cameroun, Yaoundé.
- Morse S., Acholo M., McNamara N., Oliver R., (2000). Control of Storage Insects as a Means of Limiting Yam Tuber Fungal Rots. *Journal of Storage Products Research*, 36: 37-45.
- Ndoye, C., (2001). Etude chimique et évaluation des propriétés antiradicalaire et antioxydantes des huiles essentielles d'espèce aromatique tropicale en province Est-Cameroun. *Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II*, pp 21-30.
- Ngo-Ngwe, M.S.F., Joly, S., Bourge, M., Brown, S., Omokolo, D.N., (2014). Nuclear DNA content analysis of four cultivated yams (*Dioscorea* spp.) from Cameroon. *Journal of Plant Breeding and Genetics*, 2(2):87-95.
- Nguefack, J., Tamgue, O., Dongmo, L.J.B., Dakole, C.D., Leth, V., Vismer, H.F., Amvam, Z.P.H., and Nkengfack, A.E., (2012). Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. *Food Control*, 23: 377-383.
- Nguemtchouin, M.G., (2012). Formulation d'insecticides en poudre par adsorption des huiles essentielles de *Xylopiya aethiopica* et de *Ocimum gratissimum* sur des argiles camerounaises modifiées. Thèse de doctorat. ENSC de Montpellier, France, 293p.

Références

- Nzungize, J., Lyumugabe, F., Busogoro, J., Baudoin, J., (2012). Pythium root rot of common bean: biology and control methods. A review. *Biotechnology Agronomy Society Environ*, 16: 405-413.
- Obilo, O.P., Oggummanam, K.L., Ogbedeh, K.O., Onyia, V.N., Ofor, M.O., (2005). The use of plant extracts in the control of *Aspergillus niger* in the rot of yam (*Dioscorea* spp.) during storage. *International Journal of Agriculture Rural Development*, 6:74-80.
- Okigbo, R.N., Enweremadu, C., Ebere, Agu, C., Kingsley, Irondi, R., Chidiebere, O.B. Chidi, A.S., Nsikak, A.C., Gladys, O.I., Onyedika, Ezenwa, C.U. and Iloanus, A.C., (2015). Control of white yam (*Dioscorea rotundata*) rot pathogen using peel extract of water yam (*Dioscorea alata*). *Advances in Applied Science Research*, 6 (10): 7-13.
- Okigbo R. N., (2002). Mycoflora of tuber surface of white yam (*Dioscorea rotundata* Poir) and post-harvest control of pathogens with *Bacillus subtilis*. *Mycopathologia*, 156: 81-85.
- Okigbo R. N., (2004). A Review of biological control methods for post-harvest yams (*Dioscorea* spp.) in storage in south Eastern Nigeria. King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. *Science Technology Journal*, 4: 207-215.
- Okigbo R. N., Emeka A. N., (2010). Biological control of rot-inducing fungi of water yam (*Dioscorea alata*) with *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas syringae* and *Pseudomonas Chlororaphis*. *Journal of Stored Products and Postharvest Research*, 1: 18-23.
- Okigbo, R.N., Ikediugwu, F.E.O., (1999). Post-harvest deterioration of yam tuber in storage tuber in storage barn. *International journal of tropical Plant Diseases*, 18: 51-60.
- Okigbo, R.N., Ikediugwu, F.E.O., (2000). Studies on biological control of post-harvest rot yams (*Dioscorea* spp) with *Trichoderma viride*. *Journal of Phytopathology*, 148: 351-355.
- Okigbo, R., (2003). Fungi associated with peels of post harvest yams in Storage. *Global Journal of Pure and Applied Sciences*, 9 (1): 19-23.
- Okigbo, R.N, and Nwakammah, P.T, (2005). Biodegradation of white yam (*Dioscorea Rotundata* Poir) and water yam (*Dioscorea Alata* L.) slices dried under different conditions. *King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Science Technology Journal*, 5: 577-586.

Références

- Okigbo, R.N., and Emoghene, A.O., (2003). Antifungal activity of leaf extracts of some plant species on *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, the causal organism of black sigatoka disease in banana (*Musa acuminata*). *King Mongkut's institute of Technology Ladkrabang Science Journal Thailand*, 4: 20-31.
- Okigbo, R.N., and Ikediugwu, F.E.O., (2002). Evaluation of water losses in different regions of yam (*Dioscorea* spp.) tuber in storage. *Nigerian Journal of Experimental and Applied Biology*, 3: 317-321.
- Okigbo, R.N., and Nmeka, I.A., (2005). Control of yam tuber rot with leaf extracts of *Xylopiya aethiopica* and *Zingiber officinale*. *African Journal of Biotechnology*, 4: 804-807.
- Okigbo, R.N., and Ogbonnaya, U.O., (2006). Antifungal effects of two tropical plants leaves extract (*Ocimum gratissimum* and *Aframomum melegueta*) on postharvest yams (*Dioscorea* spp.) rot. *African Journal of Biotechnology*, 5: 727-731.
- Oladoye, C.O., Olaoye, O.A., and Connerton, I.F., (2013). Isolation and Identification of bacteria associated with spoilage of sweet potatoes during postharvest storage. *International Journal of Agricultural and Food Science*, 3 (1): 10-15.
- Olufemi, O., Olusegun, R., Olayemi, J., Johnson, K., (2016). Effects of soil physical properties on soil loss due to manual yam harvesting under a sandy loam environment. *International Soil and Water Conservation Research* 4: 121–125. DOI: 10.1016/j.iswcr.2016.02.007.
- Osagie, A.U., (1992). The yam tuber in storage. Post harvest Reseach Unit. University of Benin, Benin City, Nigeria. 247p.
- Pei, R-S., Zhou, F., Ji, B-P., and Xu, J., (2009). Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. *Journal of Food Science*, 74: 379-383.
- Pesson, p., Louveaux, J., (1984). *Pollinisation et productions végétales*, édition INRA, p 663.
- Peterson, S.W., (2006). Multilocus sequence analysis of *Penicillium* and *Europicillium* species. *Revista Iberoamericana de Micología*, 23(3): 134-8.
- Piribi, M.C., (2005). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. *Thèse de Doctorat. Polytechniques Fédérale de Lausanne*, 233p.

Références

- Ray, R.C., Nedunzhiyan, M. and Balagopalan, C., (2000). Microorganisms Associated with Postharvest Spoilage of Yams. *Annals of Tropical Research, Philippines*, 22: 31-40.
- Sameza, M.L., Nguemnang, M.C.L., Tchameni, N.S., Bedine Boat, M.A., Jazet, D.P.M., Tchoumboungang, F. and Fekam, B.F., (2016). Evaluation of clove essential oil as a mycobiocide against *Rhizopus stolonifer* and *Fusarium solani*, tuber rot causing fungi in yam (*Dioscorea rotundata* Poir.). *Journal of Phytopathology*, 164: 433-440.
- Saran, S., Isar, J., and Kumar, S.R., (2007). A modified method for the detection of microbial protease on agar plates using tannic acid. *Journal of Biochemical and biophysical*.70, 697-699.
- Scarcell, N., (2005). Structure et Dynamique de la Diversité d'une Plante Cultivée a Multiplication Végétative: Le cas des ignames au Bénin (*Dioscorea* Spp.) .*Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II*, 229 p.
- Schoofs, A., Odds, F.C., Colebunders, R., Leven, M., and Goussens, H., (1997). Use of specialised isolation media for recognition and identification of *Candida dubliniensis* isolates from HIV-infected patients. *European Journal of Clinical Microbiology*, 16: 296-300.
- Semal, J., Fraselle, J., Impens, R., Kumburt, J., Lepoivre, P., Meulemans, M., Scilleur, P., Vaderken, J., Viseu, P., (1989). *Traité de pathologie végétale. Les presses Agronomiques de Gembloux*, Pp 179-233.
- Sessou, P., Farougou, S., Kaneho, S., Djenontin, S., Alitonou, G.A., Azokpota, P., Youssao, I., and Sohounhloùé, D., (2012). Bioefficacy of *Cymbopogon citratus* essential oil against foodborne pathogens in culture medium and in traditional cheese wagashi produced in Benin. *International Research Journal of Microbiology*, 3: 406-415.
- Shiriki, D., Ubwa, S.T., and Shambe, T., (2015). Isolation of nine microorganisms from rotten *Dioscorea rotundata* (white yam) and antimicrobial sensitivity test with five plant extracts. *Food and Nutrition Sciences*, 6: 825-835.
- Siadjeu, C., Toukam, G.M., Bell, J.M., Nkwate, S., (2015). Genetic diversity of sweet yam "*Dioscorea dumetorum*" (Kunth) Pax revealed by morphological traits in two agro-ecological zones of Cameroon. *African Journal of Biotechnology*, 14(9):781-793.
- Singh, P., Shukla, R., Kumar, A., Prakash, B., Singh, S., and Dubey, N.K., (2010). Effect of *Citrus reticulata* and *Cymbopogon citratus* essential oils on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production on *Asparagus racemosus*. *Mycopathologia*, 170: 195-202.

Références

- Soumanou, M.M., and Adjou, E.S., (2016). Sweet fennel (*Ocimum gratissimum*) oils. In V.R. Preedy (Ed.) *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Academic Press*, Pp 765-773.
- Taiga, A., (2011). Comparative studies of the efficacy of some selected Fungicidal aqueous plant extracts on Yam tuber dry rot disease. *Annals of Biological Research*, 2: 332-336.
- Tchoumboungang, F., Amvam Zollo, P.H., Avlessi, F., Alitonou, G. A., Sohounhloue, D. K., Ouamba, J. M., Tsomambet, A., Okemy-Andissa, N., Dagne, E., Agnanié, H., Bessiére, J.M. and Menut, C., (2006). Variability in the chemical compositions of the essential oils of five *Ocimum* species from Tropical African Area. *Journal of Essential Oil Research* 18: 194-199.
- Tchoumboungang, F., Amvam Zollo, P.H., Dagne, E. and Mekonnen, Y., (2005). *In vivo* antimalarial activity of essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Ocimum gratissimum* on mice infected with *Plasmodium berghei*. *Planta medica*, 71: 20-23.
- Tchoumboungang, F., Dongmo, P.M.J., Sameza, M.L., Mbanjo, E.G.N., Fotso, G.B.T., Zollo, P.H.A., and Menut, C., (2009). Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 13: 77-84.
- Tchoumboungang, F., Sameza, M.L., Jazet D.P.M., Nkouaya, M.E.G., Fekam, B.F., Ngoko, Z., Amvam, Z.P.H., and Menut, C., (2010). Composition, radical scavenging and antifungal activities of essential oils from 3 *Helichrysum* species growing in Cameroon against *Penicillium oxalicum* a Yam rot fungi. *African Journal of Agricultural Research*, 4: 121-127.
- Temple, L., Ngassam, S., Nkamleu, G., (2013). Filières d’approvisionnement en ignames de Douala et changements technologiques. *Économies et sociétés, Développement, croissance et progrès*—Presses de l’ISMEA-Paris, 2009, AG (31), pp.1899-1912.
- Teugwa, M. C., Piam, G., Tane, P., Amvam Zollo, P.H., (2006). Activité insecticide des extraits d’*Ageratum houstonianum*, de *Clausena anisata* et de *croton macrostahyus* sur le bruche du niébé (*Vigna unguicula walp*). *Food Africa*, 2: 1-4.
- Toghueo, K.R.M., Eke, P., Zabalgogezcoa, Í., Vázquez de Aldana, B. R., Nana, W.L., Fekam, B.F., (2016). Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic

Références

- Trichoderma* spp. from *Terminalia catappa* against the causative agent of Common Bean Root Rot (*Fusarium solani*). *Biological Control*, 96(8) 20p.
- Treche, S., Guion Ph., (1979). Etude des potentialités nutritionnelles de quelques tubercules tropicaux au Cameroun. *Agronomie Tropicale*, 34(2): 127-137.
- Vernier, P., Dansi, A. (2006). Participatory assessment of local yam cultivars (*Dioscorea cayenensis* and *D. rotundata*) in Benin. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 147: 38–45. Available from <http://agritrop.cirad.fr/538487/1/ID538487.pdf>.
- Vuuren, V.S., and Viljoen, A., (2011). Plant-based antimicrobial studies-methods and approaches to study the interaction between natural products. *Planta Medica*, 77:1168-1182.
- Wagner, H., and Ulrich-Merzenich, G., (2009). Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine*, 16: 97-110.
- Wayne, N., (1993). *Lasiodiplodia theobromae*. Crop knowledge master fungi. Department of Plant Pathology, University of Hawaii at Hilo: 1-3.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J., (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M.A. Innis, D. H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White (eds.) PCR protocols: a Guide to Methods and Applications. *Academic Press Inc.*, San Diego, Californie, Pp 315-322.
- Wolff, J.P., (1968). Manuel d'analyse des corps gras; Azoulay éd., Paris, 519p.
- Wouatsa, N.A.V., (2008). Composition chimique et activités antifongiques des huiles essentielles extraites de quelques plantes de la famille des Lamiacées, des Ombellifères et des Pipéracées. *Mémoire de DEA de Biochimie, Université de Yaoundé I, Cameroun*. 56p.
- Xing, Y., Xu, Q., Li, X., Che, Z., Yun, J., (2012). Antifungal activities of clove oil against *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium citrinum* *in vitro* and in wounded fruit test. *Journal of Food Safety*, Pp: 84-93.
- Youassi, Y., (2017). Evaluation du potentiel antifongique des Huiles Essentielles de *M. whitei* et *D. psilurus* vis-à-vis d'*A. flavus* et *Penicillium sp.*, agents responsables de la pourriture post-récolte de l'igname (*Dioscorea rotundata*). Mémoire de DEA. Université de Douala. 100p.

Références

Zheng, G-Q., Kenney, P. M., Lam L. K., (1992). Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents. *Journal of Natural Products*, 55: 999-10.

Annexes

ANNEXES ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1: Questionnaire

**LABORATOIRE DE PHYTOBIOCHIMIE ET D'ETUDES DE PLANTES
MEDICINALES
UNITES DES AGENTS ANTIMICROBIENS**

**Questionnaire d'enquête sur la conservation post-récolte des ignames dans le bassin
de production du Mbam et Kim**

La présente enquête s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche visant à ressortir l'état des lieux de la culture et de la conservation des ignames dans le Mbam-et-Kim. La fourniture des informations par l'enquêté se fait en toute liberté et les données recueillies ne seront utilisées pour d'autres fins que cette étude. Celle-ci a pour but de développer des moyens de conservations efficaces.

Date de l'enquête.....
Localité.....
Nom de l'enquêteur.....
N°.....

*Merci de nous accorder votre temps pour répondre à ces questions
Instructions : S'il vous plaît cocher la bonne réponse dans la case correspondante*

I-DONNEES DEMOGRAPHIQUES

1-Sexe

1. Féminin

2. Masculin

2-Age

1. [20-30]

2. [31-60]

3. [61-77]

3-Occupation

1. Cultivateur

2. Commerçant

3. Autres.....

II. CULTURE ET IMPORTANCE DES IGNAMEES

1-Pourquoi cultivez-vous les ignames? Pour

1. La consommation

2. Le commerce.....

3. Autres.....

2-Quelles sont les espèces que vous cultivez ?.....

3-Quelle espèce cultivez-vous le plus?.....

4- Pourquoi est elle la plus cultivée ? Pour:

- 1. Sa bonne production
- 2. Son goût
- 3. Autre.....

5- Sur quelle surface cultivez-vous?

- 1. 1ha
- 2. 2ha
- 3. 2 à 5ha
- 4. Autres

6- Quelle quantité pouvez-vous récolter

- 1. 1 à 10 cuvettes
- 2. 11 à 20 cuvettes
- 3. 21 à 50 cuvettes
- 4. Plus de 50 cuvettes

7- A combien vous revient une cuvette?.....

III. CONSERVATION DES TUBERCULES APRES RECOLTE

1. Conservez-vous les ignames après la récolte?

- 1. Oui
- 2. Non

2. Si oui, quelle méthode de conservation utilisez vous?.....

3. Quelle est la durée de stockage?.....

4. Traitez vous les ignames avant de les conserver ? Oui Non

5. Si oui, comment traitez-vous les ignames à conserver ? A l'aide,

- 1. Des pesticides chimique(noms).....
- 2. De la cendre.....
- 3. Des plantes(noms).....
- 4. Autres.....

6. Combien de fois appliquez-vous le traitement au cours du stockage?

- 1. 1 fois
- 2. 2 à 3 fois
- 3. Plus de 3 fois
- 4. Autre.....

7. Si plusieurs fois, quelle est la fréquence d'application.....

IV. CONTRAINTES LIEES A LA CONSERVATION ET MOYENS DE LUTTE

1-Quelle quantité de tubercules perdez vous au cours du stockage ?.....

2-Qu'est ce qui cause les pertes au cours du stockage ?

- 1. Les blessures au cours de la récolte et du transport
- 2. Les pourritures
- 3. Les insectes
- 4. Les rongeurs
- 5. L'humidité
- 6. La chaleur

7. Autres.....

3- Comment se présentent les tubercules pourris?

1. secs 2. Mous 3. Humides

4. Autres.....

4- Quelles sont les pratiques que vous utilisez pour palier à ce problème de pourriture?

1. Les pesticides chimiques (noms).....

2. Les plantes (noms)

3. Eliminations des tubercules pourris

4. Autres.....

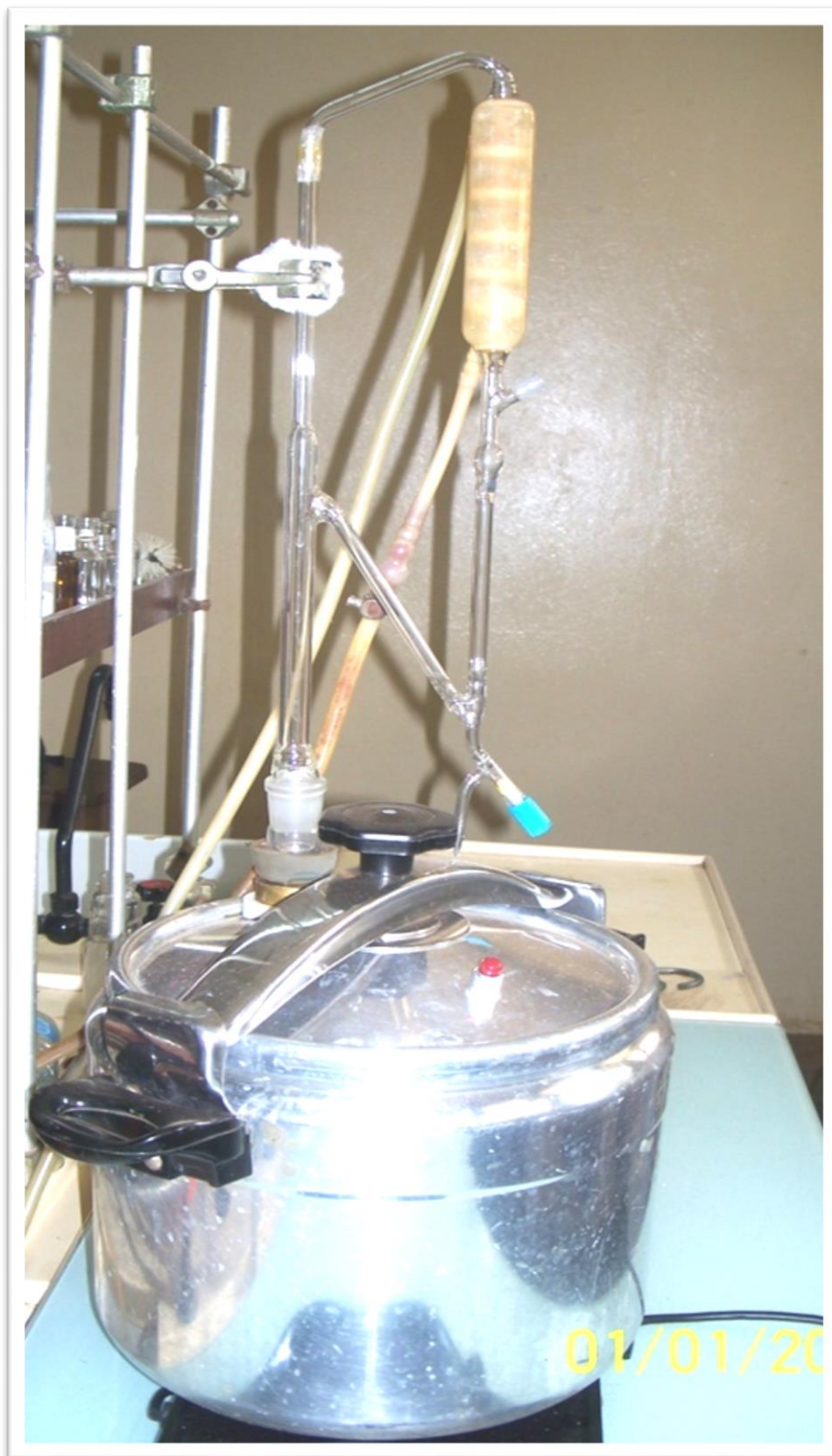
5-Que faites-vous des tubercules pourris?

1. Jeter 2. Utiliser pour l'élevage 3. Utiliser comme fumier

4. Autres.....

Signature et nom de l'informateur

Annexe 2: Appareillage d'hydrodistillation de type Clevenger pour extraction des huiles essentielles



Annexe 3: Composition et préparation des milieux de culture

Patato Dextrose Agar (PDA)

Fécule de pomme de terre.....	4,0 g
Dextrose.....	20,0 g
Gélose.....	15,0 g
Eau distillée Qsp.....	1 litre
Pour usage en laboratoire pH final.....	7,4 ± 0,2
Humidité relative faible	

Patato Dextrose Broth (PDB)

Fécule de pomme de terre.....	4,0 g
Glucose.....	20g
Eau distillée Qsp.....	1 litre
PH final.....	7,4 ± 0,2

Préparation: Dissoudre 39 g de milieu dans 1 litre d'eau distillée par la suite homogénéiser puis supplémenter avec 0,5 g de Chloramphénicol pour inhiber toute croissance bactérienne et porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Repartir en volumes dans les flacons appropriés. Stériliser pendant 15min à 121°C à l'autoclave.

Annexes

Annexe 4: Moyennes des pourcentages d'inhibition des HEs de *C. citratus* et *S. aromaticum* sur la germination des spores des cinq souches testées

2 Pourcentage d'inhibition des HE et du contrôle positif sur la germination des spores des cinq souches testés									
Conc (mg/ml)	<i>F. solani</i>			<i>F. oxysporum</i>			<i>A. niger</i>		
	CC	SA	Ridomil	CC	SA	Ridomil	CC	SA	Ridomil
5,00	100 ± 0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0
2,50	100 ± 0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0
1,25	100 ± 0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	99,38±0,87
0,62	100 ± 0,00	100±0,00	94,06±0,5	100±0,00	100±0,0	100±0,0	100±0,0	98,69±0,98	93,09±0,10
0,31	100 ± 0,00	100±0,00	93,10±11,66	100±0,00	100±0,0	53,39±10,95	95,19±3,01	95,68±0,61	36,46±1,92
0,15	91,57±0,09	100±0,00	66,41±5,07	75,71±7,01	100±0,0	22,95±3,50	93,06±1,01	93,68±1,16	0±0,0
0,08	63,13±11,33	90,67±4,1	44,50±0,7	6,13±0,20	86,23±0,0	0±0,0	68,52±2,83	86,03±3,84	0±0,0
0,04	35,74±13,22	70,5 ± 20,3	16,05±0,12	0±0,00	11,94±0,0	0±0,0	44,58±4,12	47,86±6,71	0±0,0

Conc (mg/ml)	<i>R. oryzae</i>			<i>P. mononematosum</i>					
	CC	SA	Ridomil	CC	SA	Ridomil			
5,00	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0			
2,50	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	-	-	-
1,25	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	100±0,0	-	-	-
0,62	87,94±11,71	100±0,0	91,96±11,36	100±0,0	100±0,0	100±0,0	-	-	-
0,31	62,71±4,00	30,23±1,79	82,40±24,88	100±0,0	100±0,0	80,43±0,56	-	-	-
0,15	45,86±0,23	28,26±3,53	56,97±14,55	97,10±4,09	100±0,0	70,76±17,05	-	-	-
0,07	45,73±3,88	16,04±3,42	45,08±2,49	82,25±12,02	89,39±1,53	23,24±5,01	-	-	-
0,03	22,60±7,01	5,41±1,02	42,58±9,97	55,18±4,97	87,37±2,04	11,09±3,28	-	-	-

Annexes

Annexe 5: Exemple d'échiquier de combinaison pour l'étude d'interaction entre deux HE 1 et 2

Plaque 1 : Vf=200µl (plaque de combinaison)

HE1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Plaque 2

HE2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

50µl

Contrôles (9-12)

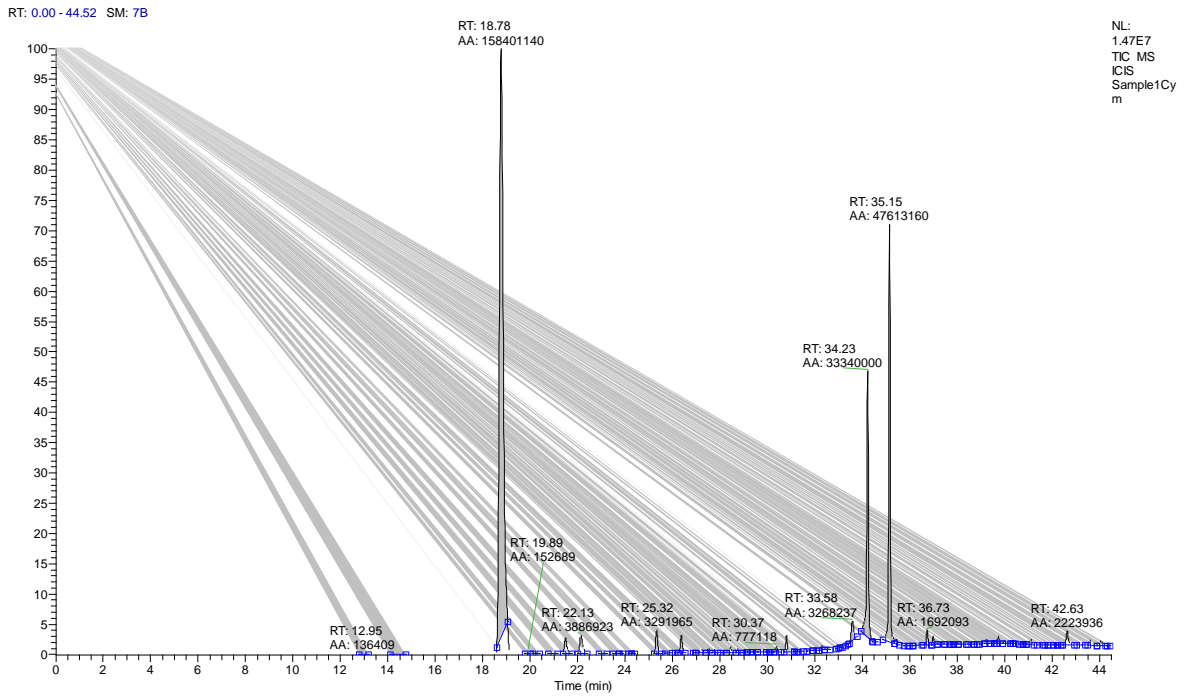
Colonne 9 = contrôle stérilité (contient uniquement le milieu de culture),

Colonne 10 = contrôle croissance ou témoin négatif (contient uniquement le milieu de culture et la souche),

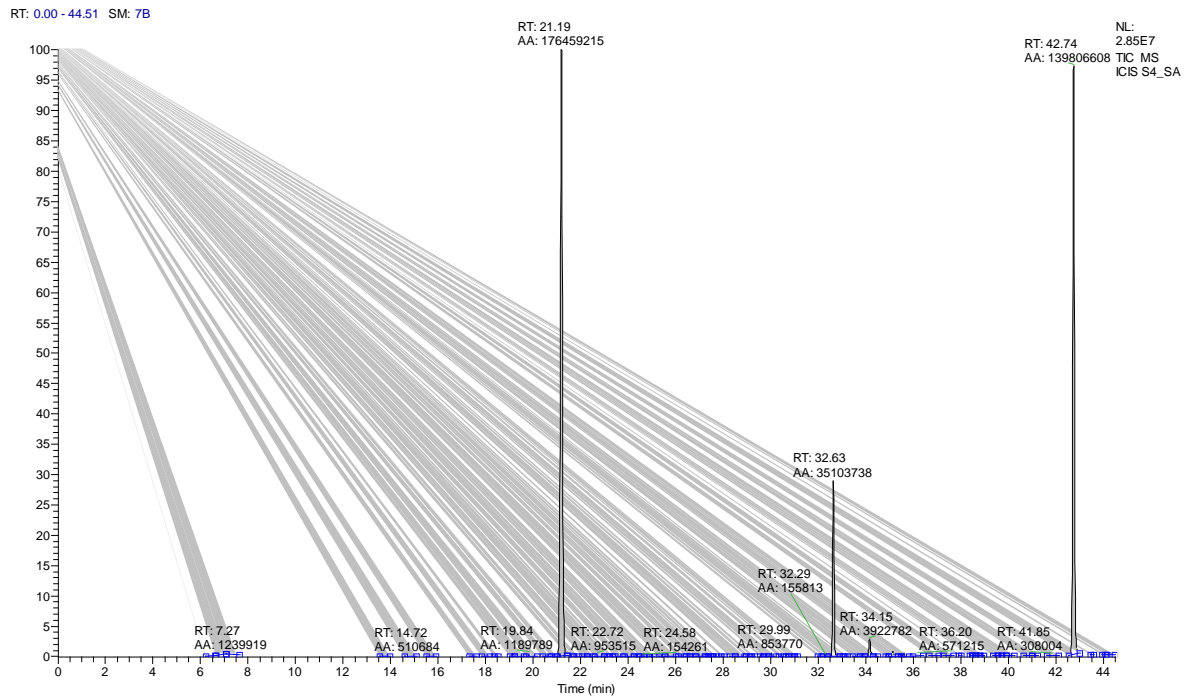
Colonnes 11 et 12 = reprise de CMI des HE 1 et 2 respectivement.

Annexes

Annexe 6: Chromatogramme de l'Huile Essentielle de *Cymbopogon citratus*



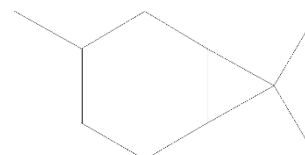
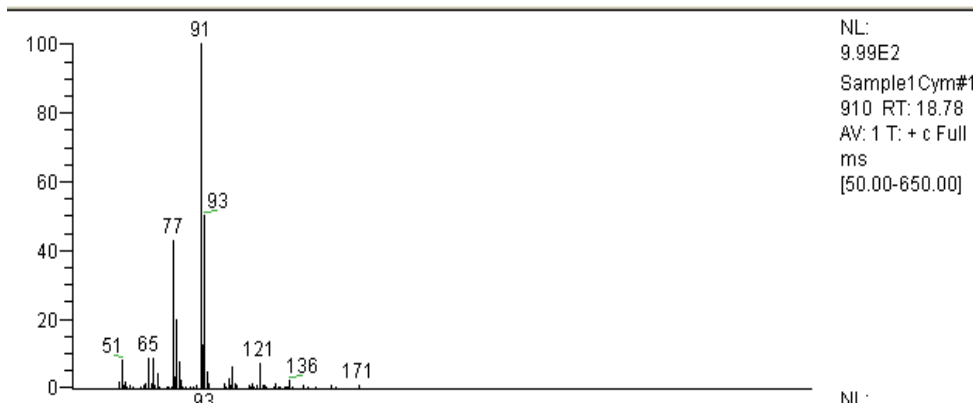
Annexe 7: Chromatogramme d'Huile Essentielle de *S. aromaticum*



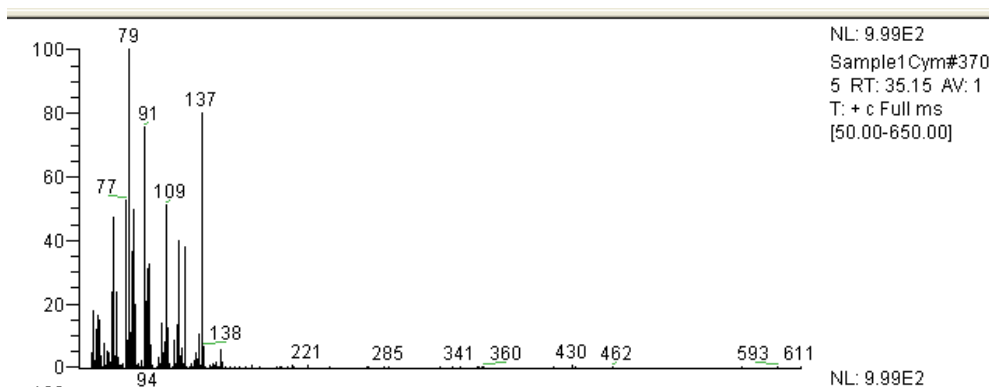
Annexes

Annexe 8: Spectres de masse de quelques composés majoritaires des huiles essentielles analysées

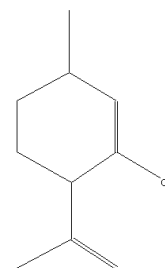
Cis-ocimène



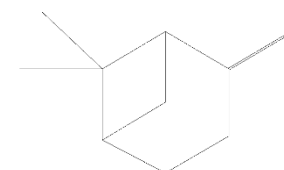
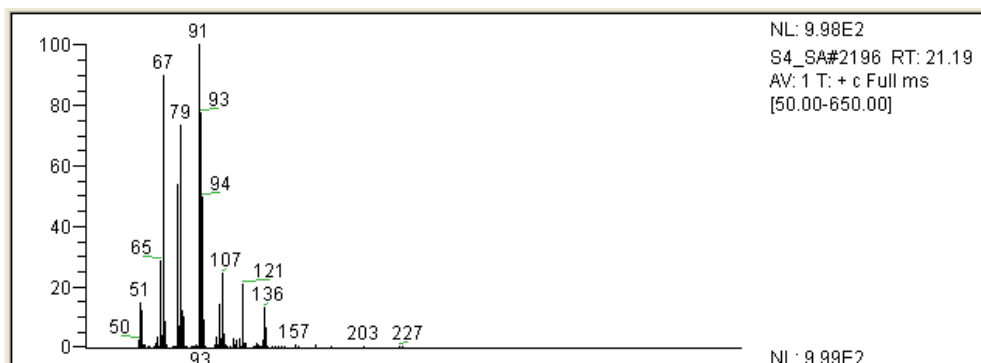
P-Menth-2-en-1-ol



trans-p-Mentha-2,8-dienol
Formula C10H18O, MW 152, CAS# NA, Entry# 57351

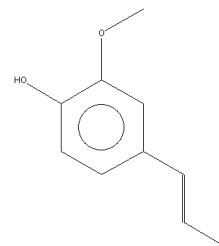
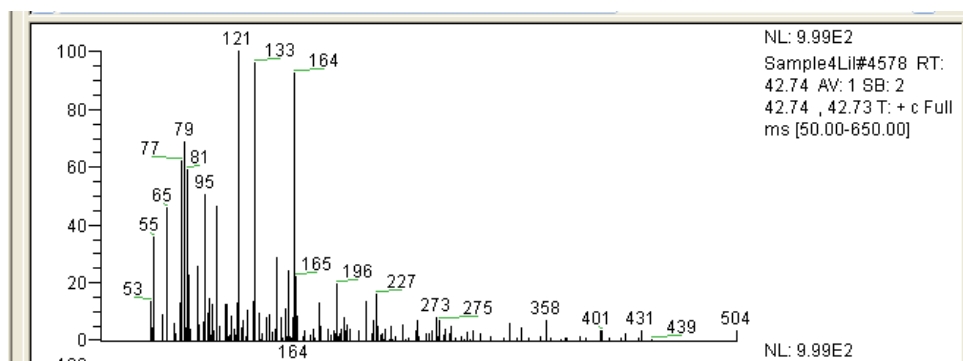


Limonène



Annexes

Eugéno



Annexe 9: Dosage des protéines**Préparation des solutions pour le dosage des protéines**

- Solution d'acétate de sodium (41g/500mL d'eau distillée) ;
- solution réactive (15mL de formaldéhyde 37%+7,8mL d'acétylacétone ; compléter le volume à 100mL avec de l'eau distillée) ;
- solution standard 0,04mg d'azote/mL préparée à partir du $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (PM= 132,14g) de concentration 0,188mg/mL.

Préparation de la gamme d'étalonnage

Dans une série de tubes à essai, introduire les solutions comme indiqué dans le tableau XXV.

Tableau XXV: Procédure de dosage des sucres réducteurs par la méthode au DNS

N° des tubes	1	2	3	4	5	6	7	Inconnu
Echantillon (mL)	/	/	/	/	/	/	/	0,1
Solution standard 0,04mg de N/ml(mL)	0	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5	
Acétate de sodium (mL)	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Solution réactive	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
Plonger les tubes dans l'eau bouillante (97,5°C) pendant 15 minutes et puis refroidir dans un courant d'eau froide pour baisser la température à 30°C								
H ₂ O distillée (mL)	7,2	6,95	6,7	6,45	6,2	5,95	5,7	7,1
Quantité d'azote (µg)	0	10	0	30	40	50	60	
DO à 412 nm								

Annexe 10: Dosage des glucides**Réactifs**

Solution de DNS

Dans une fiole de 100 mL,

- Peser 1 g de DNS et dissoudre dans 20 mL de NaOH 10%,
- Peser 30 g de tartrate double de Na et de K et dissoudre dans 50 mL d'eau distillée jusqu'à la jaune de la fiole,
- Mélanger les deux solutions et compléter le volume à 100 avec l'eau distillée.

Standard de maltose

- Préparer la solution standard S_1 de maltose de concentration 2 mg/mL. Pour ce faire, mélanger 0,2 g de maltose dans 100 mL d'eau distillée.
- Les solutions standard respectives $S_2=0,25$ mg/mL ; $S_3=0,5$ mg/mL; $S_4=1$ mg/mL, $S_5=1,5$ mg/mL, seront préparées par la dilution de la solution S_1 .

Mode opératoire

A l'aide des solutions étalon S_1, S_2, S_4, S_5 , du maltose, la gamme d'étalonnage a été préparée et le dosage des échantillons a été effectué comme indiqué dans le tableau XXVI.

Tableau XXVI: Procédure de dosage des sucres réducteurs par la méthode au DNS

N° DE TUBES	1	2	3	4	5	6	Inconnu
		S_1	S_2	S_3	S_4	S_5	
Standard maltose (mL)	0	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	
Solution à doser (mL)	/	/	/	/	/	/	/
Eau distillée	1,25	1	1	1	1	1	1
DNS (mL)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Incuber les tubes dans un bain marie bouillant pendant 5 min, refroidir immédiatement dans l'eau glacée							
Eau distillée (mL)	4	4	4	4	4	4	4
DO à 540 nm							

Publication