

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ 1

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE 1



FACULTÉ DES SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES
DEPARTMENT OF PLANT BIOLOGY

**Évaluation de l'activité antifongique des huiles
essentielles de *Citrus sinensis* (Rutaceae) et
Cymbopogon citratus (Poaceae) sur *Ustilago maydis*,
agent causal du charbon de maïs et *Ganoderma
resinaceum*, champignon lignivore**

Mémoire présenté et soutenu en vue de l'obtention du diplôme de Master

En Biologie des Organismes Végétaux

Option : Botanique - Ecologie

Par :

GUENO MBOUBOU Régine

Licence ès Science

Matricule :19A2105

Sous la direction de :

MOSSEBO Dominique Claude⁺

Professeur

AMBANG Zachée

Professeur



Année académique 2024-2025

DEDICACE

Je dédie ce travail à mes parents ; Mr. TEGNO Laurent et Mme MOCHE Brigitte, comme le fruit de ma gratitude pour leur soutien et leurs efforts sans limite.

REMERCIÉMENTS

Ce travail a été possible grâce à l'intervention de plusieurs personnes que je tiens ici à remercier.

Il s'agit précisément de :

-Professeur AMBANG Zachée, Chef de Département, pour l'organisation et le suivi des activités académiques du Département de Biologie et Physiologie Végétales (BPV) de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I (UYI) ;

-Professeur MOSSEBO Dominique Claude⁺, pour le choix du sujet, l'encadrement scientifique et pour toutes les facilités apportées tout au long de ce travail ;

-Professeur NYEGUE Maximilienne Ascension, responsable du Laboratoire de Microbiologie de l'Annexe de l'Université de Yaoundé I pour l'accueil, la disponibilité et le matériel de laboratoire mis à notre disposition ;

-Tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Végétales (BPV) ;

-Dr. METSEBING Blondo-Pascal, pour l'initiation l'accompagnement sur paillasse au Laboratoire de Cryptogamie, ses conseils et le suivi de ce travail ;

-Dr. KEGNE Landry, pour son apport et ses conseils durant les manipulations ;

-Toute ma famille, pour leurs encouragements, soutien, conseils et pour leur aide financière en particulier à M. TEGNO Laurent, Mme MEDAP Gèneviève, Mme MOCHE Brigitte, Mlle DOMKAM Floranel, M. MBONOU Stanislas, M. NOUMSI Fernand, Mlle Bakam melissa ; DAJE Anaëlle ;

-Tous mes aînés et camarades de laboratoire, Dr. TSIGAING TSIGAIN Fabrice, M. CHOUPPO GUIFO, Dr. OBA Romuald, Dr. CHIMI Pierre et Mlle CHIOZEM Annick, pour leur accompagnement pendant les manipulations ;

-Tous mes promotionnaires pour leurs différents apports ;

-Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et dont les noms ne figurent pas dans ce document ;

-Tous les membres du jury qui examineront ce travail.

SOMMAIRE

DEDICACE	i
REMERCIÉMENTS	ii
LISTE DES FIGURES.....	v
LISTE DES TABLEAUX	vi
LISTE DES ANNEXES	vii
LISTE DES ABREVIATIONS	viii
RÉSUMÉ	ix
ABSTRACT	x
CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS	1
I.1. Introduction	1
I.2. Revue de la littérature	3
I.2.1. Généralités sur le maïs	3
I.2.1.1. Origine	3
I.2.1.2. Taxonomie	3
I.2.1.3. Biologie et Cycle de développement	4
I.2.1.4. Importance du maïs	5
I.2.1.5. Les maladies et ravageurs du maïs	5
I.2.2. Généralité sur les champignons du genre <i>Ganoderma</i> (Macromycète)	11
I.2.2.1. Classification	12
I.2.2.2. Espèce <i>Ganoderma resinaceum</i>	12
I.2.3. Généralités sur les huiles essentielles	13
I.2.3.1. Définition	13
I.2.3.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	13
I.2.3.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	14
I.2.4. Plantes utilisées pour l'extraction	14
I.2.4.1. Oranger (<i>Citrus sinensis</i>)	14
I.2.4.2. Citronnelle (<i>Cymbopogon citratus</i>)	15
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	16
II.1. Matériel	16
II.1.1. Cadre d'étude	16
II.1.2. Matériel Biologique	16
II.1.2.1. Matériel végétal	16

II.1.2.2. Matériel fongique	16
II.1.3. Matériel de l'hydrodistillation et des tests antifongiques.....	17
II.2. Méthodes	18
II.2.1. Description et identification des spécimens fongiques	18
II.2.1.1. Description macroscopique	18
II.2.1.2. Description microscopique	18
II.2.1.3. Identification des spécimens étudiés	19
II.2.2. Procédure d'extraction des Huiles Essentielles	19
II.2.2.1. Extraction par hydrodistillation	19
II.2.2.3. Rendement d'extraction des huiles essentielles	19
II.2.3. Évaluation in vitro de l'effet des huiles essentielles sur la croissance des souches de <i>Ustilago maydis</i> et <i>Ganoderma resinaceum</i>	19
II.2.3.1. Stérilisation du matériel et préparation des milieux de culture	20
II.2.3.2. Isolement et purification des souches pathogènes	20
II.2.3.3. Méthodes d'ensemencement et évaluation de la croissance radiale des Mycélium de <i>U. maydis</i> et <i>G. resinaceum</i>	21
II.2.3.4. Évaluation de l'activité antifongique du mélange des HEs sur la croissance de <i>U. maydis</i>	23
II.2.3.5. Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles	23
II.3. Analyses statistiques	24
CHAPITRE III. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	25
III.1. Résultats	25
III.1.1. Description et identification des échantillons	25
III.1.2. Rendement d'extraction des huiles essentielles	26
III.1.3. Effet des huiles essentielles sur <i>G. resinaceum</i> et <i>U. maydis</i> au laboratoire ..	26
III.1.3.1. Effet des huiles essentielles sur <i>Ganoderma resinaceum</i>	26
III.1.3.2. Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de <i>U. maydis</i>	34
III.1.3.3. Effet du mélange des huiles essentielle.....	43
III.1.3.4. Comparaison des HEs sur <i>G. resinaceum</i> et <i>U. maydis</i>	45
III.1.3.5. Propriétés fongicides ou fongistatiques des huiles essentielles sur la croissance mycélienne <i>G. resinaceum</i> et <i>U. maydis</i>	47
III.2. Discussion.....	52
CHAPITRE IV : CONCLUSION ET PERSPEVTIVES	54
IV.1. Conclusion	54
IV.2. Perspectives	54
BIBLIOGRAPHIES	55
ANNEXES	64

LISTE DES FIGURES

Fig. 1. Le maïs et ses parties	3
Fig. 2. Évolution des galls sur l'épis de maïs	7
Fig. 3. Illustration du cycle de développement d' <i>Ustilago maydis</i>	9
Fig. 4. Cycle de développement du charbon commun.	10
Fig. 5. Carpophore entier de <i>Ganoderma resinaceum</i>	12
Fig. 6. Matériel végétal utilisé	16
Fig. 7. Souches pures des pathogènes	21
Fig. 8. Diagramme de mesure de la croissance radiale du pathogène.	22
Fig. 9. DM 2007 : <i>Ganoderma resinaceum</i>	26
Fig. 10. DM 2016 : <i>Ustilago maydis</i>	27
Fig. 11. DM 2007/DM 2016.....	27
Fig. 12. Croissance mycélienne de <i>G. resinaceum</i> sous l'influence de l'HECS par la méthode de microatmosphère	28
Fig. 13. Croissance mycélienne de <i>G. resinaceum</i> sous l'influence de l'HECS par la méthode de contact direct	29
Fig. 14. Croissance mycélienne de <i>G. resinaceum</i> sous l'influence de l'HECC suivant par la méthode de microatmosphère	32
Fig. 15. Croissance mycélienne de <i>G. resinaceum</i> sous l'influence de l'HECC par la méthode de contact direct	33
Fig. 16. Croissance mycélienne de <i>U. maydis</i> sous l'influence de l'HECS par la méthode de microatmosphère	36
Fig. 17. Croissance mycélienne de <i>U. maydis</i> sous l'influence de l'HECS par la méthode de contact direct	37
Fig. 18. Croissance mycélienne de <i>U. maydis</i> sous l'influence de l'HECC par la méthode de microatmosphère	40
Fig. 19. Croissance mycélienne de <i>U. maydis</i> sous l'influence de l'HECC par la méthode de contact direct	41
Fig. 20. Croissance mycélienne de <i>Ustilago maydis</i> sous l'influence du mélange des HECS et HECC par la méthode de microatmosphère	44

Fig. 21. Croissance mycélienne de <i>U. maydis</i> sous l'influence du mélange des HECS et HECC par la méthode de contact direct	45
Fig. 22. Effets des HECS et HECC sur la croissance de <i>G. resinaceum</i>	48
Fig. 23. Effets des HECS et HECC sur la croissance de <i>U. maydis</i>	49
Fig. 24. Courbe de régression de la croissance mycélienne de <i>U. maydis</i> et <i>G. resinaceum</i> en présence de l'HECS	53
Fig. 25. Courbe de régression sur la croissance mycélienne de <i>U. maydis</i> et <i>G. resinaceum</i> en présence de l'HECC	53
Fig. 26. Courbe de régression sur la croissance mycélienne de <i>U. maydis</i> en présence du mélange des HECS et HECC	53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Rendement d'extraction (%) et caractéristiques des HEs obtenus	28
Tableau II. Effet de l'huile essentielle de <i>C. sinensis</i> sur <i>G. resinaceum</i> par la méthode de microatmosphère	30
Tableau III. Effet de l'huile essentielle de <i>C. sinensis</i> sur <i>G. resinaceum</i> par la méthode de contact direct	31
Tableau IV. Effet de l'huile essentielle de <i>C. citratus</i> sur <i>G. resinaceum</i> par la méthode de microatmosphère	34
Tableau V. Effet de l'huile essentielle de <i>C. citratus</i> sur <i>G. resinaceum</i> par la méthode de contact direct	35
Tableau VI. Effet de l'huile essentielle de <i>C. sinensis</i> sur <i>U. maydis</i> par la méthode de microatmosphère	38
Tableau VII. Effet de l'huile essentielle de <i>C. sinensis</i> sur <i>U. maydis</i> par la méthode de contact direct	39
Tableau VIII. Effet de l'huile essentielle de <i>C. citratus</i> sur <i>U. maydis</i> par la méthode de microatmosphère	42
Tableau IX. Effet de l'huile essentielle de <i>C. citratus</i> sur <i>U. maydis</i> par contact direct	43
Tableau X. Effet du mélange des huiles essentielles de <i>C. sinensis</i> et <i>C. citratus</i> sur <i>U. maydis</i> par la méthode de microatmosphère	46
Tableau XI. Effet du mélange des huiles essentielles de <i>C. sinensis</i> et <i>C. citratus</i> sur <i>U. maydis</i> par la méthode de contact direct	47
Tableau XII. Activité fongicide ou fongistatique des huiles essentielles.....	50
Tableau XIII. Concentration minimale inhibitrice des HECS et HECC chez <i>G. resinaceum</i> .	51
Tableau XIV. Concentration minimale inhibitrice des HECS et HECC chez <i>U. maydis</i>	51
Tableau XV. Corrélation entre pourcentage d'inhibition et concentration des HECS et HECC sur <i>U. maydis</i> et <i>G. resinaceum</i>	52
Tableau XVI. Corrélation entre pourcentage d'inhibition et concentration du mélange des HECS et HECC sur <i>Ustilago maydis</i>	52

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de <i>G. resinaceum</i> et <i>U. maydis</i> dans les boîtes de Pétri suivant les concentrations des huiles essentielles.....	67
Annexe 1.1. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de <i>G. resinaceum</i> et <i>U. maydis</i> dans les boîtes de Pétri avec traitement fongicide (Ridomil Gold +)	67
Annexe 1.2. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de <i>G. resinaceum</i> dans les boîtes de Pétri en présence de l'huile essentielle de <i>C. sinensis</i>	67
Annexe 1.3. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de <i>G. resinaceum</i> dans les boîtes de Pétri en présence de l'huile essentielle de <i>C. citratus</i>	69
Annexe 1.4. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de <i>U. maydis</i> dans les boîtes de Pétri en présence de l'huile essentielle de <i>C. sinensis</i>	70
Annexe 1.5. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de <i>U. maydis</i> dans les boîtes de Pétri en présence de l'huile essentielle de <i>C. citratus</i>	72
Annexe 1.6. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de <i>U. maydis</i> dans les boîtes de Pétri en présence du mélange des HECS et HECC.....	74
Annexe 2. Données sur le pourcentage d'inhibition des huiles essentielles.....	76
Annexe 3. Fiche de relevé de la croissance mycélienne dans les boîtes de Pétri suivant les concentrations des huiles essentielles.....	76
Annexe 4. Dispositif pour l'hydrodistillation.....	77
Annexe 5. Quelques appareils, verreries et autres objets utilisés.....	78

LISTE DES ABREVIATIONS

ANOVA	: Analyse des variances
BPV	: Biologie et Physiologie Végétales
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
CMF	: Concentration Minimale Fongicide
DMSO	: Diméthyle Sulfoxyde
FAO	: Food and Agriculture Organisation
MEA	: Malt Extract Agar
OCDE	: Organisation de Coopération et de Développement Economiques
PDA	: Potatoes Dextrose Agar
UYI	: Université de Yaoundé I

RÉSUMÉ

Les activités antifongiques des huiles essentielles des plantes aromatiques *Citrus sinensis* et *Cymbopogon citratus* ont été évaluées sur *Ustilago maydis*, champignon responsable du charbon de maïs et *Ganoderma resinaceum*, champignon parasite des arbres fruitiers. Les tests ont été effectués à diverses concentrations suivant deux méthodes d'application : microatmosphère (C1 = 0,125, C2 = 0,25, C3 = 0,5, C4 = 1 et C5 = 1,25 µL/mL) et contact direct (C1 = 0,125, C2 = 0,25, C3 = 0,5, C4 = 1 et C5 = 2 µL/mL). Une forte capacité inhibitrice sur les deux pathogènes a été observée. Deux témoins ont été utilisés : Un témoin négatif (T- = 0 µL/mL) et un témoin positif (T+) constitué de Ridomil fongicide de synthèse. Les diamètres de croissance et les pourcentages d'inhibition des pathogènes dans chaque traitement ont permis de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque huile essentielle. Chez *G. resinaceum*, les huiles essentielles ont atteint une inhibition totale (100 %) avec la méthode de microatmosphère à des concentrations de 1 et 1,25 µL/mL pour *C. sinensis* (HECS) et de 0,125 à 1,25 µL/mL pour *C. citratus* (HECC), et avec la méthode de contact direct aux concentrations 1 à 2 µL/mL pour l'HECS et de 0,125 à 2 µL/mL pour l'HECC montrant des CMI de 1 µL/mL pour *C. sinensis* et 0,125 µL/mL pour *C. citratus*. Chez *U. maydis*, uniquement l'HECC et le mélange des HECC et HECS ont montré des inhibitions totales (100 %) avec la méthode de microatmosphère aux concentrations de 0,5 à 1,25 µL/mL et une CMI de 0,5 µL/L pour l'HECC. Avec la méthode de contact direct, les concentrations efficaces étaient de 1 à 2 µL/mL pour le mélange des huiles essentielles (HEs), de 2 µL/mL pour l'HECS et de 0,125 à 2 µL/mL pour l'HECC. La concentration minimale inhibitrice (CMI) était de 1 µL/mL et 0,125 µL/mL respectivement pour le mélange des huiles et l'HECC, contrairement à l'HECS qui n'a montré aucune CMI. L'effet du mélange des HECC et HECS sur *U. maydis* a été moins significatif que l'usage seul de l'HECC et plus significatif que l'usage seul de l'HECS. Les extraits de *Cymbopogon citratus* se sont révélés très efficace que ceux de *C. sinensis* contre ces deux pathogènes, avec une activité fongicide et fongistatique plus marquée.

Mots-clés : huiles essentielles, champignons pathogènes, activité antifongique, Concentration Minimale inhibitrice, microatmosphère, contact direct.

ABSTRACT

The antifungal activities of the essential oils of the aromatic plants *Citrus sinensis* and *Cymbopogon citratus* were evaluated on *Ustilago maydis*, the fungus responsible for corn smut, and *Ganoderma resinaceum*, a parasitic fungus of fruit trees. The tests were carried out at various concentrations using two application methods : microatmosphere (C1 = 0.125, C2 = 0.25, C3 = 0.5, C4 = 1 and C5 = 1.25 $\mu\text{L/mL}$) and direct contact (C1 = 0.125, C2 = 0.25, C3 = 0.5, C4 = 1 and C5 = 2 $\mu\text{L/mL}$). A strong inhibitory capacity on both pathogens was observed. Two controls were used : A negative control (T- = 0 $\mu\text{L/mL}$) and a positive control (T+) consisting of Ridomil, a synthetic fungicide. The growth diameters and percentages of pathogen inhibition in each treatment allowed the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of each essential oil. In *G. resinaceum*, the essential oils achieved total inhibition (100) with the microatmosphere method at concentrations of 1 and 1,25 $\mu\text{L/mL}$ for *C. sinensis* (HECS) and 0.125 to 1.25 $\mu\text{L/mL}$ for *C. citratus* (HECC), and with the direct contact method at concentrations of 1 to 2 $\mu\text{L/mL}$ for HECS and 0.125 to 2 $\mu\text{L/mL}$ for HECC, showing MICs of 1 $\mu\text{L/mL}$ for *C. sinensis* and 0.125 $\mu\text{L/mL}$ for *C. citratus*. In *U. maydis*, only HECC and the mixture of HECC and HECS showed total inhibition (100) with the microatmosphere method at concentrations of 0.5 to 1.25 $\mu\text{L/mL}$ and an MIC of 0.5 $\mu\text{L/L}$ for HECC. With the direct contact method, the effective concentrations were 1 to 2 $\mu\text{L/mL}$ for the mixture of essential oils (EOs), 2 $\mu\text{L/mL}$ for HECS and 0.125 to 2 $\mu\text{L/mL}$ for HECC. The minimum inhibitory concentration (MIC) was 1 $\mu\text{L/mL}$ and 0.125 $\mu\text{L/mL}$ for the mixture of oils and HECC, respectively, unlike HECS which showed no MIC. The effect of the HECC and HECS mixture on *U. maydis* was less significant than HECC alone and more significant than HECS alone. The extracts of *Cymbopogon citratus* proved to be more effective than those of *C. sinensis* against both pathogens, with greater fungicidal and fungistatic activity.

Keywords : essential oils, pathogenic fungi, antifungal activity, Minimum Inhibitory Concentration, microatmosphere, direct contact.

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS

I.1. Introduction

De son nom scientifique *Zea mays*, le maïs se positionne en tant que troisième céréale la plus répandue après le blé et le riz. Son importance dans l'alimentation humaine et animale est considérable à l'échelle mondiale (Anonyme 1, 2022). Selon une récente enquête menée par la FAO et l'OCDE, les pays en voie de développement devraient augmenter leur consommation de maïs, de riz et de blé destinés à l'alimentation humaine d'une quantité supplémentaire estimée à 170 millions de tonnes en 2024.

Au Cameroun, le maïs est une culture à la production remarquable, avec une grande partie de cette production consommée localement. Les marchés urbains jouent un rôle crucial dans l'écoulement de la production, générant ainsi des revenus pour les producteurs et stimulant des évolutions technologiques dans le secteur agricole (Tchuenga & Saha, 2017). Malheureusement, cette culture est affectée par plusieurs maladies tout le long de son cycle de croissance (Anonyme 2, 2014). Les maladies causées par des agents pathogènes réduisent significativement le rendement et les revenus des producteurs de maïs. Le charbon de maïs, causé par *Ustilago maydis*, est l'une de ces maladies cryptogamiques nuisibles, affectant souvent les cultures céréalières. Ce champignon pathogène appartient au groupe des champignons microscopiques (Brefort *et al.*, 2009).

On distingue en effet chez les champignons le groupe des champignons microscopiques et le groupe des champignons macroscopiques. Ce deuxième groupe, avec un nombre d'espèce estimé à environ 67000 espèces, diffère du premier par le fait que ses espèces sont capables de former des fructifications visibles à l'œil nu (Clesse, 2011; Mesfek, 2014). *Ganoderma resinaceum* est un champignon macroscopique ou macromycète qui attaque les arbres fruitiers en leur causant la maladie du pourridié rouge (Tsigaing, 2024). Ainsi, face aux maladies causées par les champignons pathogènes macroscopiques et microscopiques, les chercheurs ont entrepris des luttes à travers certains moyens et techniques (Elbouchtaoui *et al.*, 2015; Tripathi & Dubey, 2004).

Parmi les méthodes les plus couramment utilisées, on retrouve la méthode chimique avec l'utilisation des pesticides. L'utilisation de ces pesticides chimiques de synthèse en agriculture moderne a amélioré les rendements des plantes et les a protégées contre les nuisibles mais malgré cela, leur utilisation abusive engendre à long terme l'apparition de phénomènes résistants et la pollution de l'environnement (Marie-Laure, 2019). Certains travaux (Katooli *et al.*, 2011; Reyhan & Mihriban, 2009; Rhouma *et al.*, 2023; Uddin *et al.*, 2010) ont démontré des résultats positifs avec l'utilisation des extraits de plantes aux propriétés fongicides et

insecticides pour lutter contre les maladies et les insectes ravageurs des cultures. Fokoua, (2021); Ngo Mbock, (2021) et Nkodo, (2020) ont montré les activités antifongiques des extraits de *C. citratus* et de quelques polypores sur *Urocystis cepulae*, *Alternaria dauci* f. sp. *Lycopersici* et *U. maydis* responsables des maladies fongiques qui attaquent respectivement l'oignon, la tomate et le maïs.

En outre, d'autres travaux (Boughendjioua, 2019; Hamdani, 2017; Hmiri *et al.*, 2011; Tiendrebeogo *et al.*, 2017) ont montré les potentialités des huiles essentielles des espèces de genre *Cymbopogon*, *Citrus* et d'autres végétaux sur la croissance *in vitro* et *in vivo* de certains champignons. Notamment l'utilisation des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et *Cymbopogon citratus* pour réduire la croissance mycélienne de certaines souches de *Sclerotinia sclerotiorum* responsables de la pourriture blanche du haricot (Mboussi *et al.*, 2023). Toutefois, jusqu'à présent, aucune étude à notre connaissance n'a exploré l'activité antifongique des huiles essentielles de *C. sinensis* et *C. citratus* sur *U. maydis* et *G. resinaceum*. Pour une meilleure orientation de cette étude, les questions de recherche sont celles de savoir entre autres : Quelles sont les caractéristiques micromorphologiques de *Ustilago maydis* et *Ganoderma resinaceum* ? Quels rendements d'extraction donnent les huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Cymbopogon citratus* ? Quels effets ont ces huiles sur la croissance mycélienne de *U. maydis* et *G. resinaceum* et à quelles concentrations sont-elles inhibitrices, fongicides/fongistatiques ? Répondre à ces questions permettra de fournir des pistes pour l'utilisation potentielle des huiles essentielles de *C. sinensis* et *C. citratus* dans la lutte contre les maladies fongiques.

Cette étude, relevant de la lutte biologique, a pour objectif principal d'examiner en laboratoire les effets des huiles essentielles extraites de *Citrus sinensis* et *Cymbopogon citratus* sur *U. maydis* et *G. resinaceum*. Dans cette optique, il s'agira plus spécifiquement de :

- étudier les caractères micromorphologiques de *Ganoderma resinaceum* et de *Ustilago maydis* ;
- déterminer le rendement d'extraction des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Cymbopogon citratus* ;
- déterminer l'effet des huiles essentielles de *Citrus sinensis* (HECS) et *Cymbopogon citratus* (HECC) sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* et *Ganoderma resinaceum* ainsi que leur combinaison sur la croissance mycélienne de *U. maydis*.

I.2. Revue de la littérature

I.2.1. Généralités sur le maïs

I.2.1.1. Origine

Le maïs, également connu sous le nom de blé d'Inde au Canada, est une plante herbacée annuelle tropicale, cultivée à grande échelle à la fois pour ses grains riches en amidon et comme plante fourragère (Baubricourt & Hedin, 1988). Il y a 6000 à 9000 ans, dans la vallée du sud du Mexique et au Guatemala, les habitants ont découvert et domestiqué une plante fourragère appelée « téosinte », aujourd'hui considérée comme l'ancêtre du maïs (Marchand *et al.*, 1997).

Le maïs aurait évolué à partir du téosinte grâce à des mutations et à la sélection naturelle, influencées par les premiers agriculteurs (Beadle, 1980). Selon Laomonier (1979), cette espèce est originaire d'Amérique centrale et était déjà l'aliment de base des Amérindiens avant la découverte de l'Amérique par Christophe Colomb. La plupart des variétés modernes ont été développées à partir de matériel végétal sélectionné dans le sud des États-Unis, au Mexique, en Amérique centrale et en Amérique du Sud (Anonyme, 1993).

I.2.1.2. Taxonomie

Le maïs (*Zea mays* L.) (Fig. 1) est une plante herbacée annuelle faisant partie du règne des Plantae, de la famille des Poaceae, du genre *Zea* et de l'espèce *Zea mays* (Bodoharisoa *et al.*, 2009).

Selon la classification de Cronquist (1981), le maïs est une plante monocotylédone classée dans :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous-Classe	Commelinidae
Ordre	Cyperales
Famille	Poaceae
Tribu	Andropogoneae
Sous-tribu	Tripsacineae
Genre	<i>Zea</i>
Espèce	<i>Zea mays</i>

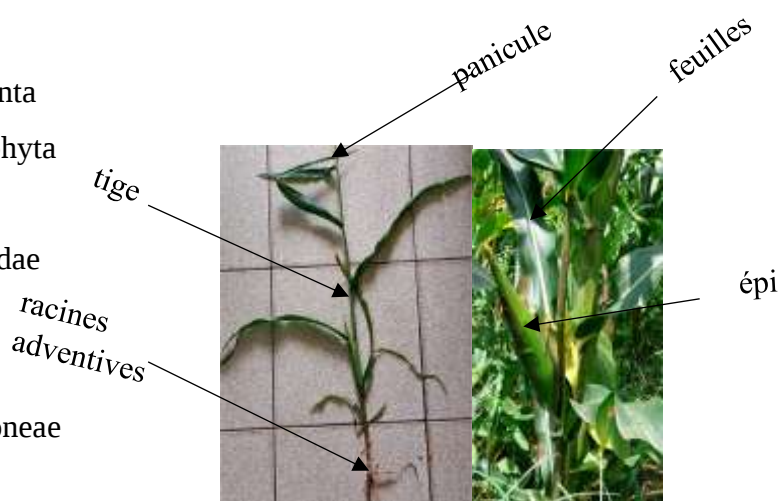


Fig. 1. Le maïs et ses parties (Photo Gueno, 2025)

I.2.1.3. Biologie et Cycle de développement

I.2.1.3.1. Biologie

Le maïs est une plante annuelle herbacée tropicale, diploïde avec $2n=20$, dont les fleurs mâles et femelles sont situées à des positions différentes sur la même plante, ce qui la rend monoïque. Sa fécondation est assurée par des vecteurs tels que le vent, les insectes et/ou l'homme, ce qui en fait une plante allogame. Le maïs utilise un métabolisme en C4, ce qui lui confère une meilleure résistance à la sécheresse (Brink & Baley, 2006). C'est une plante monoïque de la famille des graminées. Le fruit contient une seule graine, appelée caryopse ou grain. Ce grain de maïs se compose d'un embryon, d'un endosperme et d'un péricarpe. La couleur la plus fréquente du grain est jaune ou blanc (Ristanovic, 2001).

I.2.1.3.2. Cycle de développement

Le maïs est une plante à photopériode courte, avec un cycle végétatif variant de 90 à 180 jours selon la variété et les conditions de culture (Marchand *et al.*, 1997). Son cycle de croissance comprend une phase végétative et une phase de reproduction. La phase végétative va de la germination à l'émergence de la panicule (Abendroth *et al.*, 2011).

Le début de la phase reproductive est marqué par l'apparition de la panicule immature en haut de la plante (Abendroth *et al.*, 2011). La phase de reproduction du maïs implique la formation et le développement des organes reproducteurs. La plante favorise la fécondation croisée en raison de sa monoécie et de sa protandrie. Le maïs présente une forte allogamie (auto-incompatibilité), ce qui conduit à une importante dépression consanguine (Marchand *et al.*, 1997).

I.2.1.4. Importance du maïs

Le maïs représente la culture la plus cruciale pour l'alimentation humaine, directe ou indirecte, après le blé et le riz. Sa production mondiale atteint environ 500 millions de tonnes par an. Les États-Unis sont le premier producteur mondial, contribuant à plus de 45 % de cette production (Marchand *et al.*, 1997).

À l'échelle mondiale, le maïs est principalement destiné à l'alimentation animale, représentant 63 % de la production de maïs grain, auquel s'ajoute le maïs fourrage. Ensuite, il est utilisé pour l'alimentation humaine (15 %) et dans l'industrie (10 %). Cependant, dans certaines régions, le maïs est un aliment de base essentiel dans l'alimentation, notamment en Afrique et en Amérique centrale. Dans ces pays, entre 35 et 75 % de la production de maïs est utilisée à des fins alimentaires, fournissant de 30 à 60 % des apports énergétiques et protéiques provenant des céréales. Globalement, dans les pays en développement, 25 % du maïs est destiné

à la consommation humaine. De plus, la demande dans ces régions est estimée doubler d'ici 2050 (Shiferaw *et al.*, 2011). Le maïs est largement utilisé dans l'alimentation humaine sous différentes formes telles que semoules, farines, flocons, maïs doux, pop-corn, huiles, ainsi que divers additifs alimentaires (Doré & Varoquaux, 2006).

Au Cameroun, le maïs est considéré comme un aliment stratégique en période de pénurie alimentaire en raison de sa large disponibilité. Ses divers modes de consommation permettent de le rendre accessible à tous les groupes ethnolinguistiques. La diversité des manières de consommer le maïs, comme les épis frais bouillis ou grillés, le couscous, la bouillie de maïs, etc., contribue à expliquer son importance économique parmi les céréales (Ndjouenkeu *et al.*, 2010).

Le maïs est important pour le développement de nombreuses industries et entreprises artisanales. Il est largement utilisé dans l'alimentation animale, particulièrement apprécié pour sa haute valeur énergétique. Il représente 65 % de la composition de la provende pour volailles (Tchuenga & Saha, 2017).

I.2.1.5. Maladies et ravageurs du maïs

Les plantes de maïs peuvent être affectées par des maladies qui attaquent leurs organes, ce qui peut entraîner une diminution des rendements. Au Cameroun, ces maladies causent des pertes allant de 15 à 50 % de la production totale de maïs (Nankam, 1990). Il est important de noter que les conditions écologiques du Cameroun favorisent le développement des champignons responsables de diverses maladies affectant le maïs, telles que la rouille (*Puccinia sorghi*), le charbon (*Ustilago maydis*), la cercosporiose (*Cercospora zea-maydis* et *Cercospora zeina*) et les viroses, bien que celles-ci ne soient pas fréquentes (Tchuenga & Saha, 2017). Parmi ces maladies provoquées par les agents pathogènes, nous trouvons principalement :

- Le charbon commun du maïs : c'est une maladie causée par un champignon de la classe des basidiomycètes, *Ustilago maydis*. Son développement est favorisé par une température allant de 26 à 34°C et une humidité relative faible ;
- La rouille commune du maïs : c'est une maladie fongique mais causée par *Puccinia sorghi*. Son développement est favorisé par des températures de l'ordre de 17 à 23°C et une humidité relative de 100 % ;
- L'helminthosporiose : c'est une maladie dont l'agent causal est le champignon *Helminthosporium turcicum*. Une température allant de 17 à 27°C et une humidité relative allant de 90 à 100% est favorable à son développement ;

- La cercosporiose : encore appelée maladie des tâches grises, est une maladie fongique foliaire causée par *Cercospora zea maydis* ;
- L'anthracnose : c'est une maladie dont l'agent causal est le champignon *Colletotrichum graminicola*, du groupe des ascomycètes. Un climat chaud, humide et pluvieux favorise l'extension de cette maladie ;
- Le mildiou : c'est une maladie fongique causée par *Peronosclerospora sorghi*. Son développement est favorisé par des températures allant de 11 à 32°C, par des temps pluvieux et des inondations. (Carvil, 2016).

Parmi toutes ces maladies, nous allons nous attarder spécifiquement sur le charbon du maïs causé par *Ustilago maydis*.

I.2.1.6. Charbon de maïs

Le charbon du maïs est provoqué par un champignon pathogène appelé *Ustilago maydis*, largement répandu chez le maïs. Bien que son impact économique soit limité, ce champignon est devenu le modèle le plus étudié parmi les basidiomycètes pathogènes en raison de son intérêt scientifique (Kahmann & Kamper, 2004). Ce charbon peut attaquer tous les organes aériens du maïs. Selon Tremblay *et al.* (2016), le charbon de maïs cause des dommages aux plantes en formant des excroissances sur toutes les parties visibles des plantes, comme les épis, les tiges et les feuilles, ce qui entraîne une diminution des rendements. Cependant, les dommages sont plus sévères lorsque la galle se développe sur l'épi du maïs. Les pertes causées par le charbon de maïs varient considérablement selon les régions et les variétés. Ces pertes vont de 25 à 30 % respectivement en fonction des zones localisées et des variétés nécessitant ainsi une surveillance stricte lors de la production de semences de maïs (Sabbagh, 2008).

Toutefois, selon Kavira (2013), au Mexique, le charbon de maïs est utilisé comme aliment et est produit à partir de variétés très sensibles à ce parasite, ce qui permet des récoltes importantes. Récolté avant sa pleine maturité, le cuitlacoche ou huitlacoche est un ingrédient emblématique de la cuisine gastronomique mexicaine. Il est utilisé dans les tacos, les quesadillas et les soupes, et est considéré comme un mets de luxe au Mexique. En France, il est parfois appelé de manière imaginative "truffe mexicaine", "champignon du maïs" ou "caviar aztèque". Le huitlacoche se distingue par sa teneur élevée en glucides qui lui confère une saveur sucrée, tandis que d'autres saveurs proviennent de la vanilline (vanille). Cependant, il est important de souligner qu'il y a un risque d'intoxication chez les individus ayant ingéré de la farine de maïs contaminée par le champignon *Ustilago*, entraînant des symptômes tels que des

sensations de brûlure, des démangeaisons, une rougeur excessive, une cyanose périphérique et un gonflement des extrémités.

I.2.1.6.1. Symptomatologie

Les symptômes du charbon de maïs sont frappants et faciles à identifier. Cette maladie se manifeste par des excroissances lisses et brillantes, souvent appelées boursouflures, d'un diamètre généralement compris entre 2 et 10 cm. Ces excroissances apparaissent sur toutes les parties aériennes de la plante, mais elles sont plus fréquentes sur les épis en développement, où elles altèrent les grains individuels. Au début, les jeunes excroissances sont de couleur vert pâle à argentée. À l'intérieur, les tissus se transforment rapidement en une masse noire et poudreuse de spores qui sont libérées lorsque les excroissances se rompent (Christensen, 1963).

La manifestation la plus visible du charbon du maïs est la formation de galles sur les tiges, les feuilles, les bourgeons axillaires, les épis et d'autres parties florales mâles. En fonction de l'endroit où se développent les galles, divers effets morphologiques et physiologiques peuvent être observés. Chez les jeunes plants, elles peuvent entraîner un retard de croissance ou la mort. Sur les tiges, une courbure peut se produire. Sur les feuilles, on remarque la présence de petites excroissances brunes, dures et sèches. Sur les épis, les grains sont remplacés par des galles recouvertes d'une membrane grisâtre (Fig.2). Les zones infectées sont colonisées par le mycélium du champignon, ce qui incite les cellules de l'hôte à se diviser et à se développer, formant ainsi des galles ou des excroissances. Initialement, les galles sont de couleur claire avec une membrane blanche verdâtre, mais elles deviennent plus sombres à maturité et atteignent un diamètre variant de 1 à 15 cm (Agrios, 1978). Le charbon de maïs est présent dans toutes les régions où le maïs est cultivé, mais il peut être plus problématique dans les zones tempérées et humides par rapport aux régions chaudes et humides.

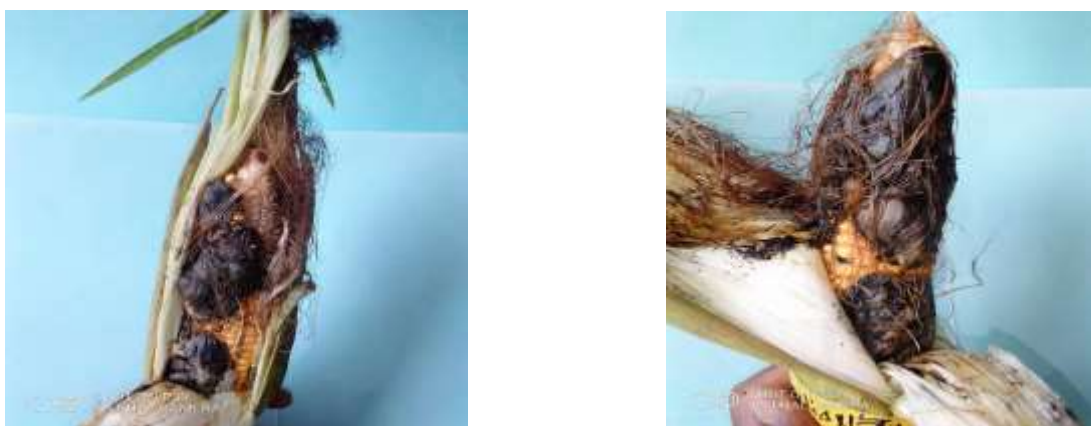


Fig. 2. Évolution des galles sur l'épi de maïs (Photo Gueno, 2025) Echelle : 1/2.

I.2.1.6.2. Agent pathogène

Le genre *Ustilago* fait partie de la famille Ustilaginaceae, de l'ordre Ustilaginales, de la classe Ustilaginomycetes, de la division Basidiomycota et du règne Fungi (Corda, 1842). Les Ustilaginaceae sont une famille de champignons pathogènes qui provoquent le charbon chez les Poaceae, caractérisé par la formation de lésions remplies de spores noires. Ces champignons sont généralement hétérothalliques, présentant un système de compatibilité monogénique-bipolaire (comme *Ustilago hordei*) ou digénique-tétrapolaire (comme *Ustilago maydis*) (Sabbagh, 2008).

Le genre *Ustilago* présente une grande diversité comprenant plusieurs espèces parmi les plus connues figurent :

- *Ustilago maydis*, le champignon responsable du charbon du maïs. Il est présent dans toutes les régions où le maïs est cultivé ;
- *U. scitaminea* Syd., le champignon responsable du charbon de la canne à sucre et ;
- *U. hordei* (Pers.) Lagerh., identifié en France comme l'agent pathogène responsable du charbon couvert de l'orge (Piepenbring *et al.*, 2002).

I.2.1.6.3. Développement de la maladie

Ustilago maydis produit des téliospores dicaryotiques, brun olivâtre à noires. Aussi appelées Chlamydospermes, dont le diamètre varie de 8 à 11µm et dont la surface est recouverte de spinules courtes. Ces téliospores hivernent dans le sol et dans les débris de culture ou dans la semence contaminée. Au printemps, elles germent pour produire un promycélium et des sporidies. Ce sont les sporidies qui causent l'infection. Elles germent sur la surface de l'hôte pour produire des hyphes qui pénètrent directement les cellules épidermiques du maïs ou qui entrent dans la plante par les stomates ou les blessures. L'infection ne se poursuit pas tant que deux sporidies compatibles n'ont pas fusionné. Le mycélium dicaryotique qui en résulte croît entre les cellules et entraîne la formation de tumeurs chez l'hôte par un processus de division et d'agrandissement cellulaire anormal (hypertrophie et hyperplasie). Dans les stades plus avancés de l'infection, la pénétration intracellulaire se produit. Finalement le mycélium dicaryotique se transforme en téliospores diploïdes qui sont libérées lors de la rupture de la surface de la tumeur (Fig.3) (Christensen, 1963). Les spores du charbon commun qui hivernent (téliospores) résistent très bien au gel et à la sécheresse. Elles peuvent survivre dans le sol ou les débris de culture pendant plusieurs années. Sous de bonnes conditions de croissance, les téliospores germent. Les nouvelles spores (basidiospores) sont transportées par le vent ou éclaboussées par l'eau vers les

jeunes tissus en développement des plants de maïs. Ces spores germent et pénètrent dans le plant par les blessures ou par les soies (Fig. 4) (Anonyme 4, 2016).

Comme toutes les Ustilaginaceae, *U. maydis* produit dans des sores (Fig. 3-b, g), des spores enkystées dicaryotiques (téliospores ; Fig. 3-i) qui assurent la dissémination de l'espèce. Les téliospores sont disséminées par le vent et restent au niveau du sol. Passée la mauvaise saison, la caryogamie s'effectue au niveau des téliospores, puis une baside se forme, produisant des basidiospores levuriformes haploïdes saprotrophes (Fig. 3-c). Chaque téliospore produit 4 types de cellules compatibles deux à deux. Lors de la conjugaison cellulaire, les cellules arrêtent transitoirement leur cycle cellulaire en phase G2 (Garcia-Muse *et al.*, 2003), forment des tubes de conjugaison (Snetselaar & Mims, 1992 ; Spellig *et al.*, 1994) et génèrent un filament dicaryotique (Fig. 3-d). Ce filament va former une structure de type appressorium, légèrement renflée (Fig. 3-ef), qui permettra l'infection du plant de maïs. Seules les parties aériennes semblent être infectées par cette espèce. Cette infection génère la formation d'une galle : sores formés par des cellules hypertrophiées de l'hôte (déformation des organes) dans lesquels le champignon sporule (Fig. 3-g, h, i), détruisant les structures végétales.

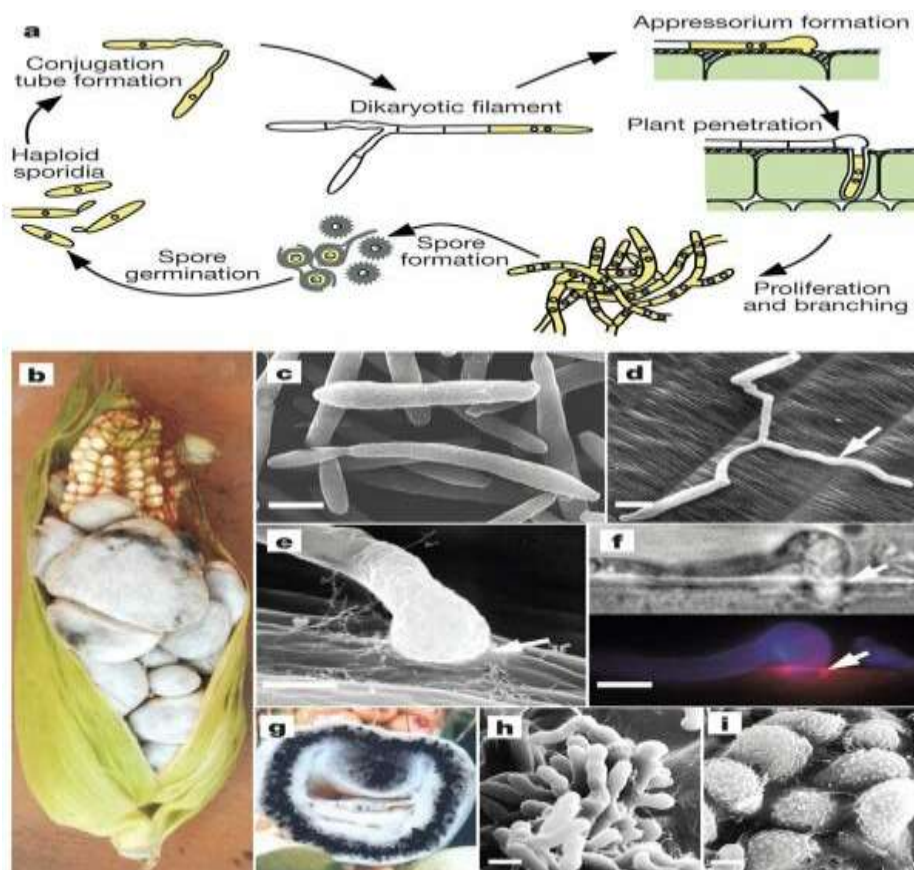


Fig. 3. Illustration du cycle de développement de *Ustilago maydis*. (Kamper *et al.*, 2006)

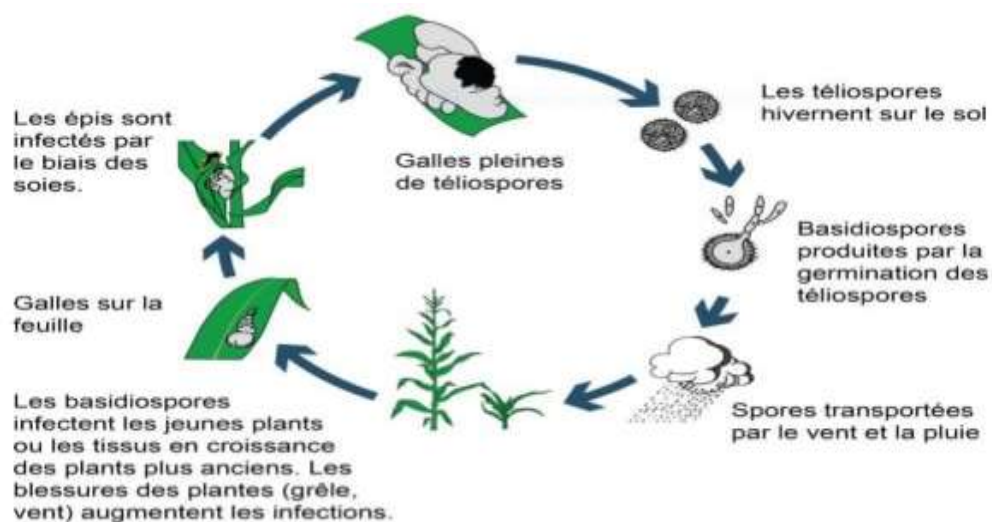


Fig. 4. Cycle de développement du charbon commun (Anonyme, 2016).

I.2.1.6.4. Action du pathogène sur l'hôte

Le charbon à *Ustilago* apparaît sur l'hôte infecté sous forme de taches noires correspondant aux grandes quantités de spores émises par le mycélium. Ces spores sont dispersées par le vent et peuvent contaminer les autres plants. Parfois les spores se fixent aux graines et infectent ensuite la plante en train de germer, tandis qu'un mycélium se développe à l'intérieur de la graine, laquelle reste en vie. Il s'étend ensuite aux tubercules des fleurs et détruit les grains de maïs qui se remplissent d'une poudre noirâtre composée de spores. *Ustilago maydis* produit alors à partir des feuilles et de la tige des excroissances vésiculeuses qui peuvent atteindre plus de 20 cm. Lorsque celles-ci parviennent à maturité, elles s'ouvrent brusquement en se déchirant et libèrent les spores que le vent disperse (Anonyme, 2000).

I.2.1.7. Traitement du charbon de maïs

Les méthodes suivantes de lutte contre le charbon commun du maïs peuvent diminuer l'impact de ce champignon pathogène (*Ustilago maydis*).

I.2.1.7.1. Lutte culturale (préventif)

Il s'agit de l'ensemble des méthodes culturales permettant de créer des conditions défavorables au développement de l'agent pathogène. Parmi ces méthodes, la lutte par les mesures d'assainissement, qui consiste chez certains agriculteurs à arracher et à brûler la plante atteinte, ou encore d'éliminer des galles du charbon avant qu'elles ne s'ouvrent (Kavira, 2013). Il faut également réduire les risques de blessures causés par la machinerie et les insectes, et maintenir une fertilisation équilibrée. Bien que les spores de charbon survivent plusieurs années dans le sol, la rotation des cultures peut aussi aider à réduire l'intensité de la maladie (Anonyme, 2022).

I.2.1.7.2. Lutte génétique

L'utilisation des variétés résistantes ou tolérantes est à la base de la lutte génétique. Cependant, il est à noter qu'aucune variété ou hybride de maïs complètement résistant au charbon n'est connu. Il existe une certaine variabilité du pathogène avec une apparition constante de nouvelles races rendant la lutte par les hybrides difficile (Anonyme, 2009).

I.2.1.7.3. Lutte chimique

Le traitement fongicide des semences contribue à lutter contre cette maladie. L'application de formulations fongicides comme les fongicides foliaires chez le maïs présente des effets positifs sur le rendement des cultures mais ces fongicides sont polluants pour l'environnement et peuvent être toxiques pour les agriculteurs (Anonyme, 2009).

I.2.2. Généralité sur les champignons du genre *Ganoderma* (Macromycète)

Ganoderma est un genre de macrochampignons basidiomycètes saprophytes ou pathogènes (parasite) de la famille des Ganodermataceae. Ce genre compte plus de 250 espèces (Ryvarden, 1991). Il comprend de nombreuses espèces pathogènes des plantes, responsable notamment de la maladie du pourridié rouge qui affecte les arbres dans les régions tropicales (Mallet et al., 1985).

I.2.2.1. Classification

Les espèces du genre *Ganoderma* appartiennent au règne fongique, la division des Basidiomycota, la classe des Holobasidiomycètes, l'ordre des Aphyllophorales (Polyporales) et la famille des Ganodermataceae (Ryvarden, 2004). Ce genre compte plus de 250 espèces ayant des noms taxonomiques à travers le monde (Bhosle et al., 2010). Les espèces de ce genre ne sont pas comestibles puisque les carpophores sont comme chez les Polyporales (champignons à hyménophore poré), toujours durs, coriaces ou liégeux. Contrairement aux Agaricales (le carpophore est généralement mou) où se recrute la plupart des espèces comestibles. Néanmoins, plusieurs types de produits de *Ganoderma* sont vendus sur le marché sous diverses formes (thé, capsules, poudre, bière etc...) grâce à leurs diverses propriétés thérapeutiques ou pharmacologiques (Welti et al., 2010).

I.2.2.2. Espèce *Ganoderma resinaceum*

I.2.2.2.1. Caractères généraux de cette espèce

Ganoderma resinaceum est un macromycète saprophyte et cosmopolite peu abondant en Europe, Asie, Australie, Amérique du Nord et Afrique du Nord. Il est présent dans les forêts tropicales comme le Cameroun et la République Centrafricaine (RCA) (Kegni, 2015).

Cependant, cette espèce est généralement caractérisée par la présence d'une résine qui s'écoule rapidement de la face supérieure du pileus lorsque cette dernière est coupée ou griffée. Au contact du froid, cet exsudat (jaunâtre) durcit rapidement et forme une surface dure et brillante d'où l'épithète spécifique *resinaceum* (Fig. 5). C'est l'une des seules espèces du genre *Ganoderma* à présenter jusqu'à six formes (Kengni, 2015).

Distribution : Espèce cosmopolite mais peu abondante en Europe, Asie, Australie, Amérique du Nord, présente dans les forêts soudaniens comme en République Centrafricaine (RCA) et au Cameroun. Cependant, cette forme est moins répandue que les autres formes existantes (Kengni, 2015). On la retrouve au Cameroun et en RCA (Tsigaing, 2024).

Potentielle pharmacologique : L'espèce est très utilisée en Afrique de l'Ouest (Niger) pour traiter les troubles cardiaques (Guissou *et al.*, 2014). Elle est aussi hypoglycémiante et hépato protecteur, présentant également des activités antifongiques et antibactériens notamment contre *Staphylococcus aureus* (Oyetayo *et al.*, 2011 ; Zengin *et al.*, 2015).

Remarques : De manière générale, l'espèce *Ganoderma resinaceum* est caractérisé par la présence de résine qui s'écoule rapidement de la face supérieure du pileus lorsque cette dernière est coupée ou griffée. Cet exsudat de couleur jaunâtre au contact du froid durcit rapidement et forme une surface dure et brillante d'où l'épithète *resinaceum*. C'est pratiquement l'une des seules espèces du genre à présenter jusqu'à 6 formes (Kengni., 2015 ; Tsigaing, 2024).



Fig. 5. Carpophore entier de *Ganoderma resinaceum* (Photo Mossebo, 2024).

I.2.2.2.2. Usages de *Ganoderma resinaceum*

Ce champignon est une espèce lignicole, présente sur les troncs d'arbres vivants ou morts, qui possède des vertus thérapeutiques et est utilisée en tradithérapie (Guissou, 2005 ; Kinge *et al.*, 2011). Il fait partie des produits forestiers non ligneux connus par les populations africaines et est souvent utilisé pour traiter les problèmes cardiaques en consommant l'infusion obtenue à partir de son fragment (Guissou *et al.*, 2014).

I.2.2.2.3. Méfaits ou dégâts de *G. resinaceum* aux arbres fruitiers

Ganoderma resinaceum est une espèce faisant partie du genre *Ganoderma*, qui sont des champignons pathogènes qui causent la pourriture blanche au bois en raison de leur aptitude à décomposer la lignine des tissus végétaux (Adaskaveg & Gilbertson, 1994). Ces pathogènes provoquent des pertes économiques considérables en entraînant le dépérissement et finalement la mort des plantes touchées (Manguiers, Palmiers à huile), par le biais de la nécrose et du stress hydrique (Ariffin *et al.*, 2000 ; Sanderson *et al.*, 2000).

I.2.3. Généralités sur les huiles essentielles

I.2.3.1. Définition

D'une manière générale, les huiles essentielles représentent des combinaisons naturelles complexes de métabolites secondaires volatils, extraits des plantes par des méthodes telles que l'hydrodistillation, la distillation à la vapeur et par expression (Kalemba & Kunicka, 2003). Aussi les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles, odorants et sensibles à l'effet de la chaleur. Ils sont appelés également substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices (Yahyaoui, 2005).

I.2.3.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les caractéristiques physico-chimiques des HEs varient en général selon plusieurs facteurs (lieu de provenance, climat, saison, moyens de récolte de la plante et procédés d'extraction) (Bouhali, 2014). Les huiles essentielles sont généralement des liquides volatiles, incolores à température ambiante, avec une densité inférieure à 1, à l'exception de certaines comme la cannelle, le girofle et le saffran. Elles ont un indice de réfraction élevé, un pouvoir rotatoire et sont peu solubles dans l'eau mais solubles dans les alcools, les huiles fixes (huile de coco, huile d'olive etc...) et la plupart des solvants organiques (hydrocarbures aromatiques et aliphatiques) (Paris & Hurabielle, 1981). L'analyse physicochimique à l'instar des indices d'acides et esters permettent de montrer que les huiles essentielles sont de bonne qualité et de ce fait favorable et acceptable pour être utilisée dans leurs différents domaines d'application. Selon Hilan *et al.* (2006) plus l'indice d'ester est élevé mieux est la qualité de l'huile. Cependant, en ce qui concerne les HEs, seuls les terpènes (hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou à chaîne ouverte) les plus volatiles seront présents dans leur composition (monoterpènes, sesquiterpènes) (Bruneton, 1987).

I.2.3.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques issus de la distillation. Plusieurs méthodes d'extractions sont utilisées pour obtenir ces huiles à partir des plantes, parmi lesquelles : la distillation par entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation qui sont les plus importantes à ce jours (Kulisic *et al.*, 2004). Néanmoins, d'autres méthodes ont été développées telles que l'expression à froid, l'extraction par les fluides supercritiques et l'extraction assistée par micro-ondes (Ferhat *et al.*, 2010).

I.2.4. Plantes utilisées pour l'extraction

I.2.4.1. Oranger (*Citrus sinensis*)

I.2.4.1.1. Caractères généraux

Il appartient au genre *Citrus* qui est un genre de plantes des pays chauds appartenant à la famille de Rutaceae, classe des Eudicotylédones, ordre des Rurales et l'embranchement des Spermaphytes (Guignard, 2001). Les *Citrus* sont des arbustes à feuillage vert, avec une hauteur allant de 3 à 15 mètres et un bois extrêmement dur. Leurs fleurs de couleur blanche peuvent être solitaires ou regroupées, leurs fruits sont des baies de forme variées, allant du rond à allongé. L'écorce du fruit appelée "flavédo" comprend un épicarpe externe appelé "zeste" qui change de couleur à maturité et est parsemé de nombreuses poches sécrétrices d'huile essentielle avec un mésocarpe externe (Ferhat *et al.*, 2010 ; Teuscher *et al.*, 2005). *Citrus sinensis* fait partie des agrumes les plus importants dans l'industrie alimentaire et de la parfumerie en raison de ses nombreuses variétés et de ses productions abondantes (Bruneton, 2001). Il renferme des poches schizolysigènes riches en huiles essentielles dans ses feuilles, fleurs, tiges, écorces et fruits (Ferhat, 2010). Ces huiles contiennent divers composés bioactifs tels que les coumarines, les carotènes, les flavonoïdes, les terpènes et linalol (Mondello *et al.*, 2005).

I.2.4.1.2. Travaux antérieurs

De nombreuses études ont été menées sur les activités de l'huile essentielle des *Citrus* à l'instar de l'étude sur les activités radicalaires et antifongiques de l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches de *Citrus latifolia* var. Tahiti du Cameroun contre *Phaeoramularia angolensis* (Jazet Dongmo *et al.*, 2002, 2009), l'analyse des huiles essentielles extraites de *Citrus sinensis* et leur activité antioxydante (Bouhali, 2014), l'utilisation des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Citrus aurantium* cultivées au centre du Maroc contre l'espèce *Culex pipiens* (insectes) (El-Akhal *et al.*, 2014), l'évaluation de l'activité antifongique et antibactérienne des

huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Citrus aurantifolia* contre certains microorganisme (Amanda & Michelli, 2018 ; Boughendjioua, 2019).

I.2.4.2. Citronnelle (*Cymbopogon citratus*)

I.2.4.2.1. Caractères généraux

Cymbopogon citratus encore appelé citronnelle est une plante herbacée pérenne de la famille des Poaceae. Elle présente de longues feuilles linéaires, dressées, de 90 cm à 2 m de long, à bords rugueux coupants, poussant en touffes denses pouvant atteindre 0,5 à 1,5 m de haut. C'est une plante de couleur verte et d'odeur agréable et relaxante. Ses tiges sont creuses, bulbeuses à la base et enveloppées dans la gaine des feuilles (Manvitha & Bidya, 2014). Les huiles essentielles extraites de cette plante renferment les composés bioactifs tels que le géraniol, le neral et le myrcène (Degnon *et al.*, 2016). L'HECC est également riche en monoterpènes hydrocarbonés et en monoterpènes oxygénés (Bakarnga-Via *et al.*, 2022).

I.2.4.2.2. Travaux antérieurs

Plusieurs travaux de recherches ont été menés sur l'activité de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à savoir Bakarnga-Via *et al.* (2022) qui ont étudiés l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur les moisissures isolées des poissons fumés des marchés de N'Djaména, l'utilisation des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et *Cymbopogon citratus* pour réduire la croissance mycélienne de certaines souches de *Sclerotinia sclerotiorum* responsables de la pourriture blanche du haricot (Mboussi *et al.*, 2023). Dans le même cadre, on cite également les travaux de Degnon *et al.* (2016), Kwazou *et al.*, (2009) et (Tiendrebeogo *et al.*, 2017).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Cadre d'étude

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de Cryptogamie du Département de Biologie et Physiologie Végétales ainsi qu'au Laboratoire de Microbiologie de l'annexe de l'Université de Yaoundé I.

II.1.2. Matériel Biologique

II.1.2.1. Matériel végétal

Deux espèces de plantes ont été utilisées dans le cadre de ce travail entre autres l'oranger (*Citrus sinensis*) et la citronnelle (*Cymbopogon citratus*). Les feuilles fraîches de *C. citratus* (Fig.6A) ont été récoltées manuellement au champ tandis que les peaux de *C. sinensis* (Fig.6B) ont été recueillies au marché de Mfoundi et identifiées au Département de Biologie et Physiologie Végétale de l'Université de Yaoundé I (Fig. 6).



A



B

Fig. 6. Matériel végétal utilisé : A. feuilles de *Cymbopogon citratus*, B. péricarpes (peaux) de *Citrus sinensis* (Photo Gueno, 2024).

II.1.2.2. Matériel fongique

Le matériel fongique était constitué de deux souches de champignons pathogènes. La souche de *Ustilago maydis* a été isolé des épis de maïs infectés récoltés au champ et la souche de *Ganoderma resinaceum* a été isolé du carpophore récolté sur un arbre (Manguier) dans la ville de Yaoundé.

II.1.3. Matériel de l'hydrodistillation et des tests antifongiques

II.1.3.1. Appareils électriques

Les appareils électriques utilisés inclus :

- le montage d'hydrodistillation de type Clevenger pour extraire les HEs ;

- la balance électrique pour peser les échantillons ;
- le réfrigérateur pour conserver les extraits d'HEs obtenus ;
- l'autoclave SANO CLAV pour stériliser et l'étuve pour sécher le matériel ;
- la hotte à flux laminaire pour travailler dans un milieu stérile ;
- le réfrigérateur pour la conservation et une balance électrique pour peser.

II.1.3.2. Verrerie

La verrerie utilisée est composée :

- les flacons en verre fumé (de 5-10 ml), lavés et séchés pour contenir les HEs ;
- les boîtes de Pétri en verre de 9cm de diamètre et les erlenmeyers pour la préparation des milieux de culture ;
- les béchers et les tubes à essais pour contenir les solutions ;
- les entonnoirs en verre pour transférer les solutions dans les tubes ;
- les éprouvettes graduées pour mesurer les solutions ;
- une micropipette de 200 microlitres pour mesurer les quantités précises d'extraits ou de solvant.

II.1.3.3. Solvant

Comme solvant, nous avons utilisé l'eau.

II.1.3.4. Produits

Les produits ci-après ont été utilisés :

- le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (1000mL), préparé ;
- le milieu MEA (l'extrait de Malt et de l'Agar-Agar), préparé ;
- le DMSO (Diméthyl sulfoxyde) (10mL), pour rapidement dissoudre les composés peu solubles dans l'eau lors des tests antifongiques.

II.1.3.5. Autre matériel

D'autre matériel utilisé pour ces tests sont les suivants :

- le papier aluminium pour couvrir les tubes avant stérilisation ;
- le parafilm pour couvrir les boîtes de Pétri ;
- le brûleur pour stériliser le matériel ;
- le papier mouchoir jetable pour nettoyer ;
- les embouts pour pipetter ;
- la lancette pour prélever les pathogènes ;
- une règle graduée de 30 cm pour mesurer les diamètres et le papier filtre Whatman.

II.2. Méthodes

II.2.1. Description et identification des spécimens fongiques

Les spécimens sont récoltés sur le terrain et conservés au laboratoire pour une étude taxonomique. La description des échantillons a été faite suivant le guide pratique de description des Basidiomycètes supérieurs élaboré par Mossebo *et al.*, (2018).

II.2.1.1. Description macroscopique

C'est une représentation des caractères visibles des carpophores à l'œil nu. Elle s'est faite à partir du carpophore entier récolté et photographié quand nécessaire et concerne essentiellement son aspect général (couleur, consistance etc...), la couleur est établie avec la charte des couleurs, "Metheum Handbook of color" de Kornerup & Wanscher, (1978). Ici on détermine, les caractéristiques du chapeau (forme, taille, couleur, ornements, marges et bordures) et des lamelles cas des Agaricales ou des pores cas des Polyporales (dimensions, couleur, mode d'insertion, forme vue de profil etc...) (Mossebo *et al.*, 2018).

II.2.1.2. Description microscopique

C'est la description des structures invisibles à l'œil nu des spécimens. Elle se fait à partir des exsiccata et des sporées. Elle consiste pour la description des spores, à réaliser des préparations de spores dans une goutte de Glycérine à 12 % et de Phloxine B pour observation au microscope. Pour les exsiccata, des coupes ultra minces (10-50 μ m) ont été réalisées à l'aide d'une lame de rasoir neuve sur des lamelles et revêtement du chapeau et monté dans une goutte de KOH à 10 % avec une glycérine à 12 % et de phloxine B. Des dilacérations ont ensuite été réalisées à la gomme afin de mieux observer les structures microscopiques recherchées. Les préparations ont été observées au microscope photonique à l'objectif $\times 100$ (à l'huile d'immersion) et les structures ci-après sont représentées : basidiospores, basides, cheilocystides, pleurocystides, trame de l'hyménium, revêtement pileux et différents types d'hyphes. Pour la forme des spores, 20 d'entre elles ont été sélectionnées. Le rapport R (L/l) de chaque spore a été calculé ainsi que la moyenne X_R des 20 spores. Les valeurs moyennes de la longueur (L) et de la largeur (l) sont données en italique (Mossebo, 1999).

II.2.1.3. Identification des spécimens étudiés

Elle est essentiellement basée sur la comparaison des caractères macroscopiques et microscopiques obtenus de chaque échantillon analysé à ceux des spécimens décrits dans la littérature disponible (Kengni, 2015 ; Metsebing, 2020 ; Tsigang, 2024).

II.2.2. Procédure d'extraction des Huiles Essentielles

II.2.2.1. Extraction par hydrodistillation

C'est une des méthodes les plus simples et les plus anciennes. Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou broyé) dans un alambic contenant de l'eau et l'ensemble est porté à ébullition. Les composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau et ensuite condensés dans le réfrigérant (Shila *et al.*, 2008).

II.2.2.2. Mode opératoire

Les différentes parties végétales utilisées pour l'hydrodistillation étaient constituées des peaux de *Citrus sinensis* et des feuilles fraîches de *Cymbopogon citratus*. Chaque matériel végétal est introduit dans un appareillage de type Clevenger (alambic) (Oussou, 2009) avec un volume d'eau assez important à le faire surnager. L'ensemble est porté à ébullition pendant 5h et les composants volatils de l'huile essentielle sont acheminés par la vapeur d'eau le long d'un serpentín refroidi dans un circuit d'eau. Les huiles essentielles sont recueillies dans des flacons opaques et conservées dans un réfrigérateur à basse température (Ferhat *et al.*, 2006).

II.2.2.3. Rendement d'extraction des huiles essentielles

Le rendement d'extraction Rdt (%) de chaque huile essentielle a été calculé par rapport au poids du matériel végétal selon la formule ci-dessous :

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

Pour ce fait, la masse du matériel végétal a été pesée avant l'extraction et celle de l'huile essentielle après l'extraction.

II.2.3. Évaluation *in vitro* de l'effet des huiles essentielles sur la croissance des souches de *Ustilago maydis* et *Ganoderma resinaceum*

II.2.3.1. Stérilisation du matériel et préparation des milieux de culture

Les boîtes de Pétri sont emballées dans du papier et stérilisées à l'autoclave à 120°C pendant une heure. Ensuite elles sont séchées à 100°C pendant 1h à l'étuve, puis disposées près de la flamme dans la hotte à flux laminaire préalablement désinfectée à l'éthanol à 70 %. Le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) a été utilisé comme substrat de culture au cours de cette étude. Pour préparer ce milieu, 39g de PDA sont pesés et mélangés à 1L d'eau distillée dans un

erlenmeyer. Le mélange obtenu est homogénéisé par agitation manuelle et stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 30min. À la sortie de l'autoclave, le milieu est coulé dans les boîtes de Pétri de 9cm (40 boîtes pour 1L de milieu) préalablement stérilisés en raison de 20 ml dans chaque boîte. Les boîtes sont conservées au réfrigérateur et seront utilisées pour les tests antifongiques.

II.2.3.2. Isolement et purification des souches pathogènes

II.2.3.2.1. Isolement et purification des souches de *Ustilago maydis*

Les épis de maïs présentant des galles ont été récoltés au champ puis acheminés en laboratoire où ils ont été lavés plusieurs fois à l'eau du robinet. La membrane blanche recouvrant la galle a été déchirée à l'aide d'une lancette pour exposer la masse noire pulvérulente des spores. Ces dernières ont été ensuite prélevées à l'aide d'une anse de platine stérilisée à la flamme. Une partie a été déposée sur la lame porte objet pour une observation microscopique afin d'identifier la souche du pathogène et l'autre partie a été diluée dans de l'eau distillée stérilisée. La solution de spores obtenue a été coulée dans les boîtes de Pétri contenant du milieu PDA. Après sédimentation des spores (pendant 5 min environ) dans les boîtes, l'eau a été évacuée. Les boîtes ont été scellées avec du parafilm et mis en incubation à l'obscurité et à température ambiante. Les mycéliums se sont développés à partir des spores et ont couvert la boîte de Pétri de 9 cm au bout de 10 jours de croissance. Le mycélium pur a été obtenu par repiquage successifs d'un fragment prélevé sur le front de la croissance mycélienne sur milieu PDA frais. Cette opération a été répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention des cultures pures (Fig. 7A). L'identification du pathogène *U. maydis* a été réalisée grâce à l'observation des conidies au microscope.

II.2.3.2.2. Isolement et purification des souches de *Ganoderma resinaceum*

Les carpophores de *Ganoderma resinaceum* ont été récoltés sur un arbre (Manguier) dans la ville de Yaoundé puis ramenés au laboratoire. Des fragments de chair d'un carpophore frais ont été prélevés à l'aide d'une lancette stérilisée à la flamme et déposés dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA. Les boîtes ont été scellées au parafilm et mis en incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le mycélium s'est développé à partir de l'implant et a couvert les boîtes de Pétri de 9cm après 14 jours de croissance. Le mycélium pur a été obtenu par repiquage successifs des fragments prélevés sur le front de la croissance mycélienne sur milieu PDA. Cette opération a été répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention des cultures pures (Fig.7B). L'identification de *G. resinaceum* a été réalisée grâce à la description de ses caractères

microscopiques (au microscope) et de ses caractères macroscopiques (à l'œil nu) puis comparés à ceux des spécimens décrits dans la littérature disponible (Kengni, 2015 ; Tsigain, 2024).



Fig. 7. Mycéliums purs : A. *Ustilago maydis* ; B. *Ganoderma resinaceum* (Gueno, 2024), Echelle : 1/2.

II.2.3.3. Méthodes d'ensemencement et évaluation de la croissance radiale des mycéliums de *U. maydis* et *G. resinaceum*

II.2.3.3.1. Méthode de microatmosphère

Dans les boîtes de Pétri contenant 20 mL de PDA gélosé stérilisés à l'autoclave pendant 30 minutes à 120 °C et offrant ainsi 80 ml d'air, des explants de mycélium sous forme de disque de 6 mm prélevés sur la souche pure de *U. maydis* âgée de 10 jours et la souche pure de *G. resinaceum* âgée de 14 jours sont déposés au centre des boîtes. Des papiers filtre de 80 mm de diamètre sont placés au fond du couvercle de chaque boîte de Pétri et imprégnés de différentes quantité d'HEs notamment 0 (témoin -), 10, 20, 40, 80 et 100 µL, pour obtenir respectivement les concentrations de 0 ; 0,125 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 1.25 µl/mL (obtenues en divisant les quantités d'HEs par 80, qui est le pourcentage d'air présent dans la boîte de Pétri). Pour chaque concentration, trois répétitions sont réalisées. Les boîtes sont ensuite scellées au parafilm et incubées à température ambiante et à l'obscurité (Laghchimi et *al.*, 2014). Les observations sont faites le 3^{ème}, 5^{ème}, 7^{ème}, 10^{ème} et 14^{ème} jour après incubation et portent sur la croissance mycélienne moyenne mesurée selon deux diamètres de la boîte de Pétri. En utilisant une règle graduée, chaque diamètre est respectivement mesuré sur l'une des droites formant un angle droit passant par le centre de l'explant ensemencé (Fig. 8).

II.2.3.3.2. Méthode de contact direct

13,5 ml de PDA liquide sont introduits respectivement dans 6 tubes à essais numérotés 1 - 6, stérilisés à l'autoclave pendant 30 minutes à 120 °C et maintenus en surfusion à 45 °C

dans un bain marie. 1,5 mL de DMSO 5% sont également introduits dans 6 autres tubes à essais numérotés 1 - 6, préalablement stérilisés à l'autoclave à 120 °C pendant 1h. Dans les tubes contenant du DMSO 5%, les volumes respectifs de 0 (témoin -) ; 1,875 ; 3,75 ; 7,5 ; 15 et 30 µL sont prélevés, remplacés par de l'HE et agités à l'aide d'un vortex pour obtenir les dilutions de l'HE. Ces dilutions sont introduites dans les milieux de culture PDA en surfusion, puis agitées convenablement pour obtenir les concentrations respectives de 0 (témoin -) ; 0,125 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 ; 2 µL/mL et coulées dans les boîtes de Pétri de 9 cm. Pour chaque concentration d'HE, trois répétitions sont réalisées. Des explants sous forme de disque de 6 mm de *U. maydis* et de *G. resinaceum* sont prélevés à partir des souches pures âgées respectivement de 10 et 14 jours et déposés au centre des boîtes de Pétri. Ces boîtes sont par la suite scellées au parafilm et incubées à température ambiante à l'obscurité (Hamrouni et *al.*, 2014). Les observations sont faites le 3^{ème}, 5^{ème}, 7^{ème}, 10^{ème} et 14^{ème} jour après incubation et portent sur la croissance mycélienne moyenne mesurée selon deux diamètres de la boîte de Pétri (Fig. 8).

La croissance radiale moyenne est calculée en utilisant la formule modifiée de (Singh *et al.*, 1993).

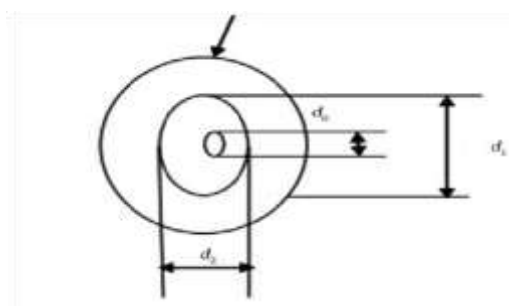


Fig. 8. Diagramme de mesure de la croissance radiale du mycélium

$$D = \frac{d_1 + d_2}{2} - d_0$$

d_1 et d_2 : diamètres perpendiculaires du pathogène ;

d_0 : diamètre de l'explant ; a : bote de Pétri de 9 cm de diamètre.

II.2.3.4. Évaluation de l'activité antifongique du mélange des Huiles Essentielles sur la croissance de *U. maydis*

Afin d'évaluer l'activité du mélange des huiles essentielles sur le mycélium de *U. maydis*, les quantités égales des HECS HECC ont été mesurées à l'aide d'une micropipette puis mélangées dans un flacon vide. Le mélange obtenu est ensuite testé sur *U. maydis* en utilisant

les deux méthodes décrites (microatmosphère et contact direct) et la croissance radiale est calculée.

II.2.3.5. Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles

Les pourcentages d'inhibition (I%) des différentes concentrations d'HE sont calculés après le temps d'incubation (10 jours pour *U. maydis* et 14 jours pour *G. resinaceum*), définis après culture des souches pures. Avec trois répétitions pour chaque concentration. Cette inhibition qui s'exprime en pourcentage (%) est déterminée en utilisant la formule de (Pandey *et al.*, 1982).

$$\% I = \frac{D_t - D_i}{D_t} * 100$$

%I : pourcentage d'inhibition ;

D_t : diamètre de culture du mycélium du champignon (en mm) dans un milieu sans HEs (témoin (-)) ;

D_i : diamètre de culture du mycélium du même champignon (en mm) dans un milieu en présence des différentes concentrations de HE.

II.2.3.6. Évaluation des activités fongicides ou fongistatique des HEs

Après incubation, les boîtes de Pétri dans lesquels la croissance du mycélium a complètement été inhibée sont recensées, les concentrations sont notées et les explants transférés dans un nouveaux milieux de culture PDA ne comportant pas d'HEs. Si on note une reprise de la croissance du mycélium dans ce nouveau milieu, l'HE est qualifiée de fongistatique, dans le cas contraire (l'explant ne repousse pas), elle est qualifiée de fongicide (Pandey *et al.*, 1982).

II.2.3.7. Détermination des concentrations minimales inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI exprimée en µl/ml d'air) représente la plus petite concentration de l'HE qui inhibe totalement la croissance mycélienne du pathogène. Les mesures du diamètre de croissance du mycélium permettent de la déterminer (Imtiaj *et al.*, 2007). Selon l'équation du type :

$$\text{Log}_{10}(\text{CMI}) = a \times D \times b$$

D : diamètre de la zone d'inhibition (en cm)

a, b : coefficients obtenus expérimentalement

CMI expérimenté en µl/ml

II.2.3.8. Corrélations entre concentration et inhibition

La corrélation entre concentration et pourcentage d'inhibition a été déterminée à partir de l'équation $y = ax + b$ avec x = concentration, y = pourcentage d'inhibition et r = coefficient de corrélation. Dans ce cas, si $a < 0$, la pente est négative ; si $a > 0$, alors la pente est positive ; si r est compris entre 0,8 et 1 alors la corrélation est parfaite et positive ; si r est compris entre -0,8 et -1 alors la corrélation est parfaite et négative ; si $r < 0,8$ alors la corrélation est positive mais imparfaite ; si $r > -0,8$ alors la corrélation est négative mais imparfaite (Heu, 2013).

II.3. Analyses statistiques

À la fin des études expérimentales, les données collectées ont été soumises à une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) à l'aide du logiciel Jamovi statistics 2.5.9. Les comparaisons multiples de moyennes ont été effectuées à l'aide du test de Kruskal-Wallis au seuil de 5%. Les graphiques ont été obtenus et les tableaux de regroupement des moyennes ont été produits à l'aide d'un programme Excel 2016 du logiciel Microsoft.

CHAPITRE III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Caractéristiques des échantillons

- *Ganoderma resinaceum*

Basidiome de $8 - 16 \times 6 \times 11 - 2,1 \times 4$ cm, semi-circulaire, sessile à sub-stipité, en console. **Pied** latéral subsessile de 0,5 cm de long et de 1 cm de large, se rétrécissant progressivement à la base ; incurvée et parfois réduite. **Pileus** lisse avec des zones concentriques bien marquées et présentant une succession de couleur, brun rougeâtre sombre (13F7) à brun jaunâtre (5E8), crémeux (4A3) vers les marges nuancées de jaune claire (5C6). **Hyménophore** poroïde avec des pores arrondis, soit 4-6 pores/mm, blanchâtre (4A1), puis crémeux (4A3) au niveau de la jonction entre la surface des pores et les bordures du pileus sur les marges, beige-ochraceus (4A2) en jeune devenant brun clair (6C5) au toucher ou en vieillissant. **Jonction entre la surface des pores et les bordures du pileus** légèrement arrondi et régulière avec délimitation pour la plupart et crémeux (4A3) à jaune pale (5A3) au toucher. **Context** peu imbriqué d'épaisseur variable, crémeux (4A3) à jaune clair (5C6) vers les extrémités. **Trame des tubes** légèrement imbriquée d'environ 0,5 cm dans la partie supérieur du context et brun clair (6C5) sur la partie inférieure, orienté latéralement par rapport à l'horizontal (Fig. 11A). **Basidiospores** de $7 - 8,9 - 11(12) \times 5 - 6,2 - 7 \mu\text{m}$; $1 \leq X_R \leq 1,83 \mu\text{m}$; $X_R = 1,44 \mu\text{m}$; $N = 20$, hyalines, à double membrane, ellipsoïdes à globose, à apex souvent tronqués, certains montrant un apicule, granuleux quelquefois guttuleux. **Cystides** absentes. **Système d'hyphe** dimitique avec hyphes générateurs hyalines de $3 - 4 \mu\text{m}$ de diamètre, à membrane épaisse sans boucle et rarement cloisonnés, hyphes squelettiques à double membrane de $3 - 6 \mu\text{m}$ de diamètre, plus ou moins ramifiées. **Cuticule** de $12 - 32 \times 6 - 11 \mu\text{m}$, avec des cellules clavées pour la plupart, et épaisses montrant quelquefois des protubérances latérales (Fig. 9).

Habitat et mode de croissance : Espèce saprophyte et lignicole sur bois mort et affectionnant aussi les palmiers à huile.

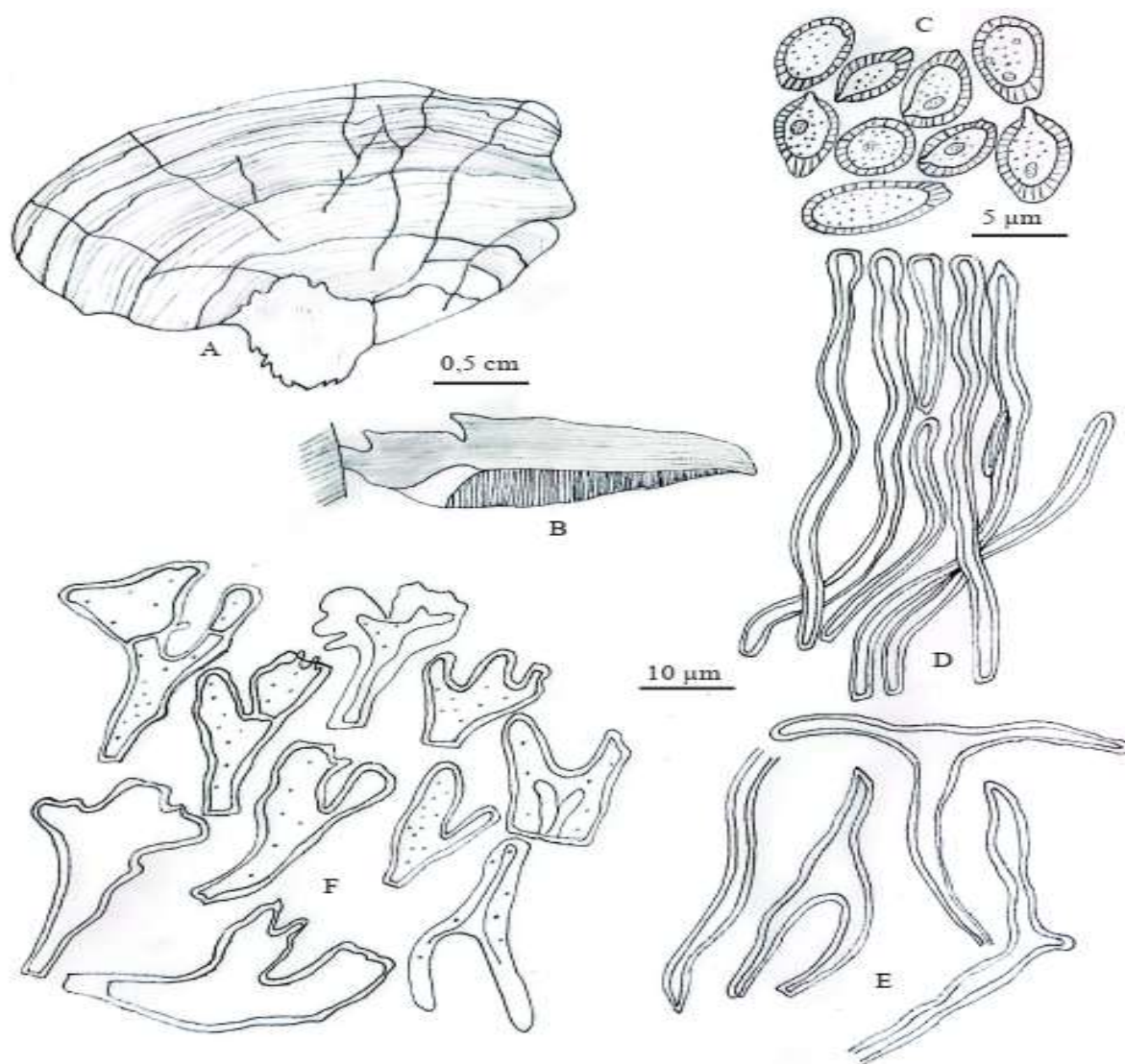


Fig. 9. DM 2007 : *Ganoderma resinaceum* (Boud.) : A) basidiocarpe entier ; B) basidiocarpe en coupe transversale ; C) basidiospores ; D) hyphes générateurs ; E) hyphes squelettiques ; F) cuticule (Gueno).

Légende des couleurs : **4A1** : Blanchâtre, **4A2** : Beige-ochraceus, **4A3** : Crémeux, **5A3** : Jaune pâle, **5C6** : Jaune clair, **5E8** : Brun jaunâtre, **6C5** : Brun clair, **13F7** : Brun rougeâtre sombre.

- ***Ustilago maydis***

Apparence : elle se manifeste sur le maïs sous forme de tumeurs galleuses souvent grisâtre (12D4) ou blanchâtre (4A1) jeune et noirâtre à maturité, présente en tuméfactions spongieuses au départ puis devint friables et pulvérulentes en vieillissant (Fig. 11B). **Conidies** de 4 – 12 μm de longueurs et de 2 – 6 μm de largeur, ellipsoïdes à ovoïdes parfois un peu régulière, à contenu granuleux et paroi lisse, hyaline à brune pale (6A4). **Système d'hyphe** monomitique avec hyphes générateurs de 2 – 4 μm de diamètre, filamenteux à ramifiés et parfois sinueux, à membrane lisse parfois légèrement épaisse sans boucle au niveau des cloisons et régulière (Fig. 10).

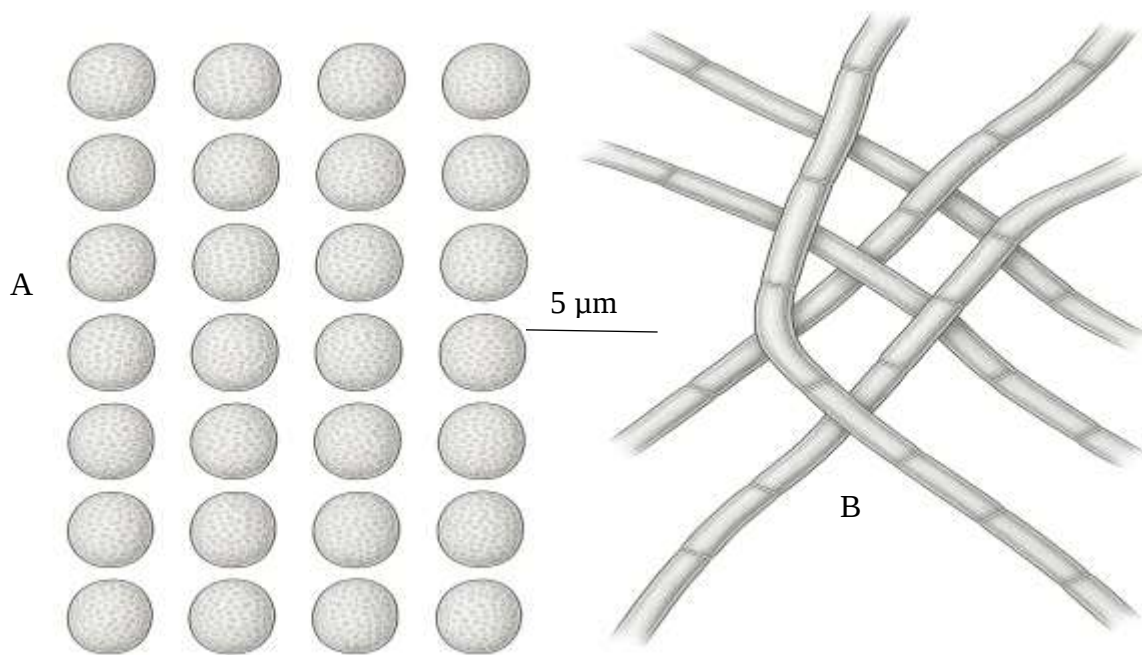


Fig. 10. RG 001 : *Ustilago maydis* : A) conidies ; B) hyphes générateurs (Gueno).



Fig. 11. DM 2007/RG 001 : A. *Ganoderma resinaceum* (Boud.) ; B. *Ustilago maydis* (Gueno).

III.1.2. Rendement d'extraction des huiles essentielles

Une fois l'hydrodistillation faite de 11h20 à 16h avec pour solvant l'eau, les rendements de 0,84 % et 0,38 % ont été obtenus respectivement avec *Citrus sinensis* et *Cymbopogon citratus* (Tableau I).

Tableau I. Rendement d'extraction (%) et caractéristiques des HEs obtenus

Nom de l'échantillon	Partie utilisée	Masse matériel végétal utilisée (g)	Rendement (%)	Aspect	Couleur
<i>C. sinensis</i>	peaux	4890,13	0,84	liquide	jaune orangé
<i>C. citratus</i>	feuilles	5321,42	0,38	liquide	jaune orangé

III.1.3. Effet des huiles essentielles sur *Ganoderma resinaceum* et *Ustilago maydis* au laboratoire

III.1.3.1. Effet des huiles essentielles sur *Ganoderma resinaceum*

III.1.3.1.1. Effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur la croissance mycélienne de *G. resinaceum*

D'une manière générale, les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *Citrus sinensis* a considérablement réduit la croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* du troisième au quatorzième jours d'incubation. Cette réduction est observée dans les deux méthodes utilisées (Fig. 12 et Fig. 13).

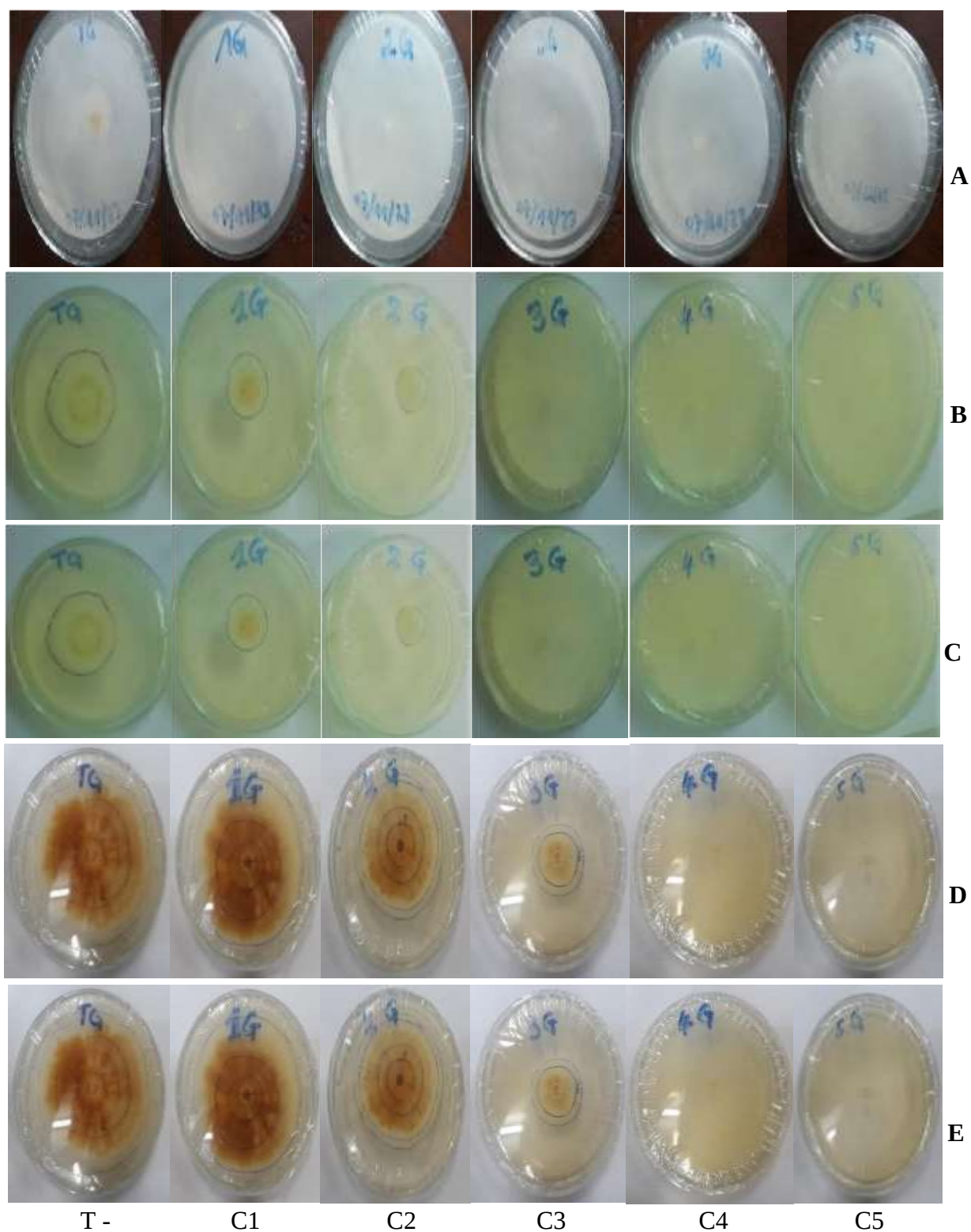


Fig. 12. Croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* sous l'effet de l'HECS par la méthode de microatmosphère : A. 3 JAI ; B. 5 JAI ; C. 7 JAI ; D. 10 JAI ; E. 14 JAI. T- = 0 µL/mL ; C1 = 0,125 µL/mL ; C2 = 0,25 µL/mL ; C3 = 0,5 µL/mL ; C4 = 1 µL/mL ; C5 = 1,25 µL/mL. JAI (jours après inoculation) ;

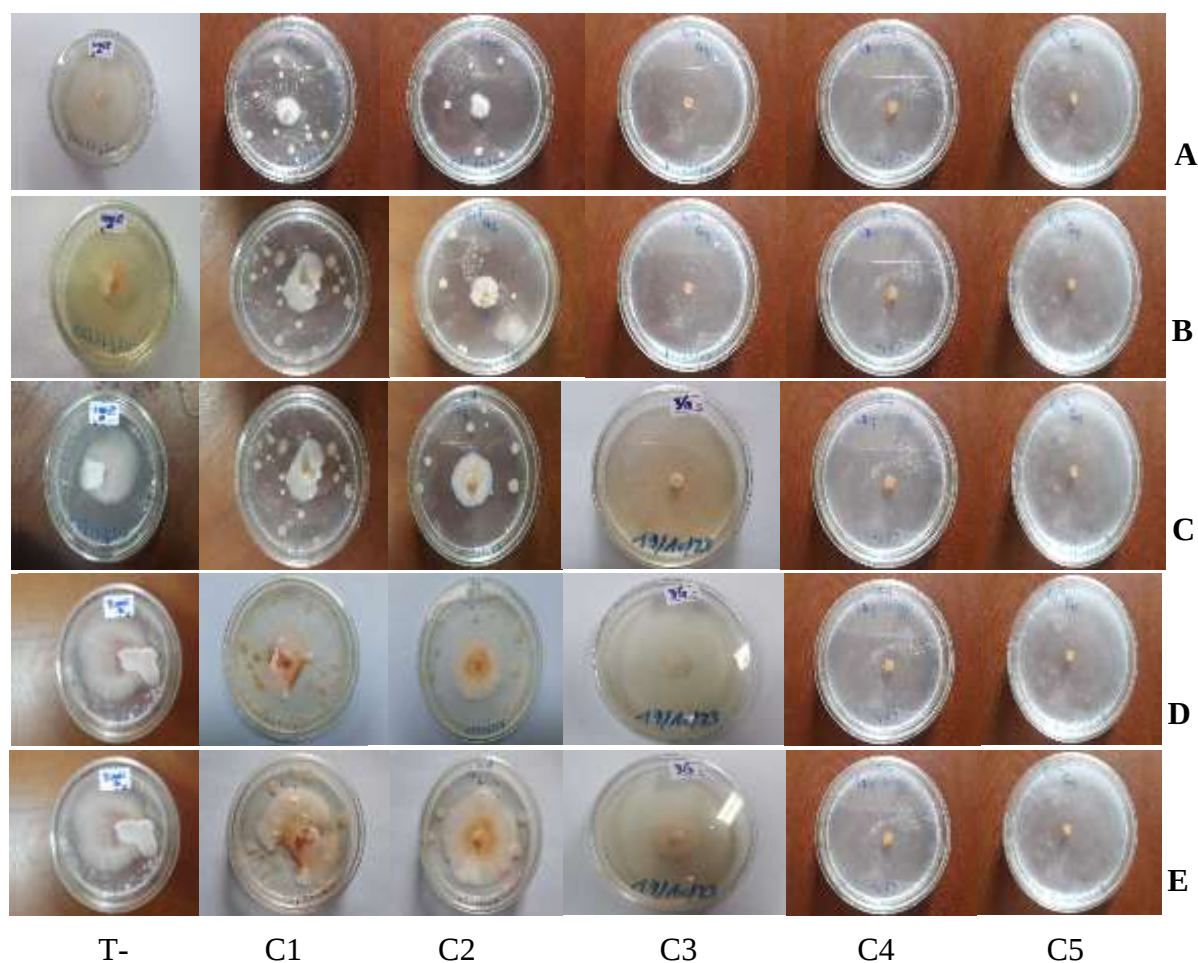


Fig. 13. Croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* sous l'effet de l'HECS par la méthode de contact direct : A. 3 JAI ; B. 5 JAI ; C. 7 JAI ; D. 10 JAI ; E. 14 JAI. T- = DMSO à 5% ; C1 = 0,125 µL/mL ; C2 = 0,25 µL/mL ; C3 = 0,5 µL/mL ; C4 = 1 µL/mL ; C5 = 2 µL/mL. JAI (jours après inoculation), DMSO (Diméthyle Sulfoxyde) ;

Les Tableaux II et III montrent que l'huile essentielle de *C. sinensis* ralentit la croissance mycélienne de *G. resinaceum*. Quatorze jours après incubation, les résultats révèlent que les diamètres du mycélium de ce champignon sous l'effet de l'HECS aux concentrations C1, C2, C3, C4 et C5 avec les deux méthodes utilisées sont significativement inférieurs ($p < 0,00$) à celui du témoin négatif ($8,31 \pm 0,16$ cm, microatmosphère et $5,19 \pm 0,36$ cm, contact direct). Cependant, les concentrations C4 et C5 de la méthode de microatmosphère et de contact direct enregistrent un diamètre moyen du mycélium égal à celui du Témoin + ($0,00 \pm 0,00$ cm).

Tableau II. Effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur la croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* par la méthode de microatmosphère

Concentration (µl/ml) Diamètre moyen du mycélium en (cm)					
	3JAI	5JAI	7JAI	10JAI	14JAI
Témoin -	1,07±0,25 ^a	2,74±0,29 ^a	3,16±0,44 ^a	4,82±0,43 ^a	8,31±0,16 ^a
C1	0,27±0,46 ^b	1,39±0,60 ^b	1,53±0,58 ^b	3,23±0,23 ^b	6,02±0,10 ^b
C2	0,00±0,00 ^b	1,02±0,44 ^b	1,37±0,33 ^b	2,92±0,64 ^b	5,62±0,65 ^b
C3	0,00±0,00 ^b	0,21±0,36 ^c	0,28±0,49 ^c	1,06±0,43 ^c	2,59±0,48 ^c
C4	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d
C5	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d
Témoin +	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d
Valeur t	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14
Probabilité	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Significativité	HS	HS	HS	HS	HS

Les valeurs moyennes dans une colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Kruskal-Wallis) ; HS : Hautement Significatif.

Tableau III. Effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur la croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* par la méthode de contact direct

Concentration (µl/ml) Diamètre moyen du mycélium en (cm)					
	3JAI	5JAI	7JAI	10JAI	14JAI
Témoin -	0,27±0,46 ^b	1,62±0,78 ^a	1,87±0,85 ^a	4,14±1,25 ^a	5,19±0,36 ^a
C1	1,27±0,26 ^a	2,15±0,67 ^a	2,91±1,12 ^a	3,59±0,99 ^{ab}	4,64±0,79 ^a
C2	1,05±0,08 ^a	1,84±0,05 ^a	2,66±0,14 ^a	2,71±0,42 ^b	4,40±1,61 ^a
C3	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	1,07±0,62 ^b	1,36±1,16 ^c	2,34±1,63 ^b
C4	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^b
C5	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^b
Témoin +	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^b
Valeur t	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14
Probabilité	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Significativité	HS	HS	HS	HS	HS

Les valeurs moyennes dans une colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Kruskal-Wallis) ; HS : Hautement Significatif.

III.1.3.1.2. Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur la croissance mycélienne de *G. resinaceum*

Les résultats obtenus montrent d'une manière générale que l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*, a complètement inhibé la croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* du troisième au quatorzième jour d'incubation. Cette réduction est observée dans les deux méthodes utilisées (Fig. 14 et Fig. 15). L'observation de ces figures montre que le pathogène croît lentement dans la méthode par contact direct comparativement à ma méthode de microatmosphère (Fig.14B et Fig.15B).

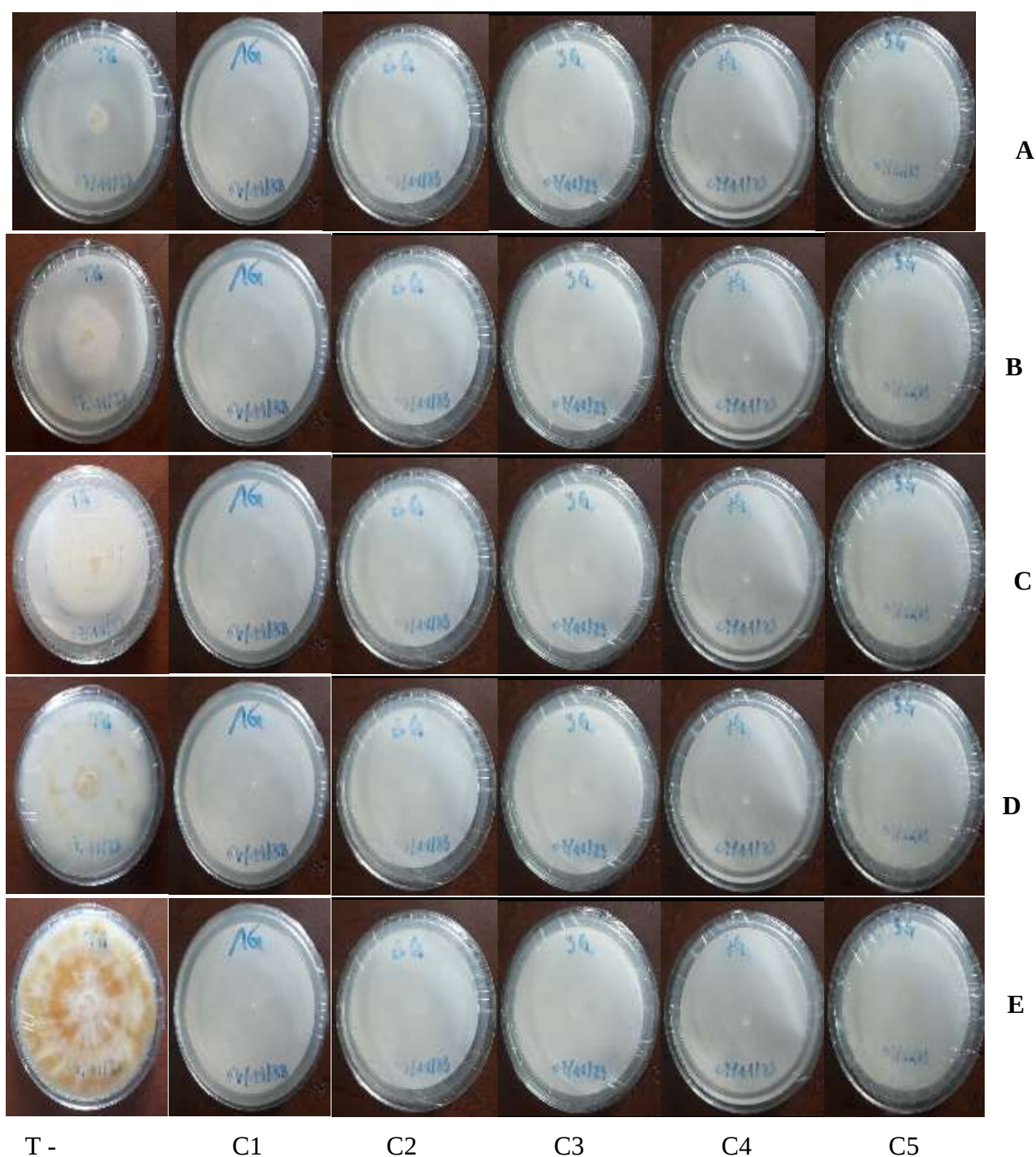


Fig. 14. Croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* sous l'effet de l'HECC par la méthode de microatmosphère : A. 3 JAI ; B. 5 JAI ; C. 7 JAI ; D. 10 JAI ; E. 14JAI. T- = 0 $\mu\text{L/mL}$; C1 = 0,125 $\mu\text{L/mL}$; C2 = 0,25 $\mu\text{L/mL}$; C3 = 0,5 $\mu\text{L/mL}$; C4 = 1 $\mu\text{L/mL}$; C5 = 1,25 $\mu\text{L/mL}$. JAI (jours après inoculation) ;

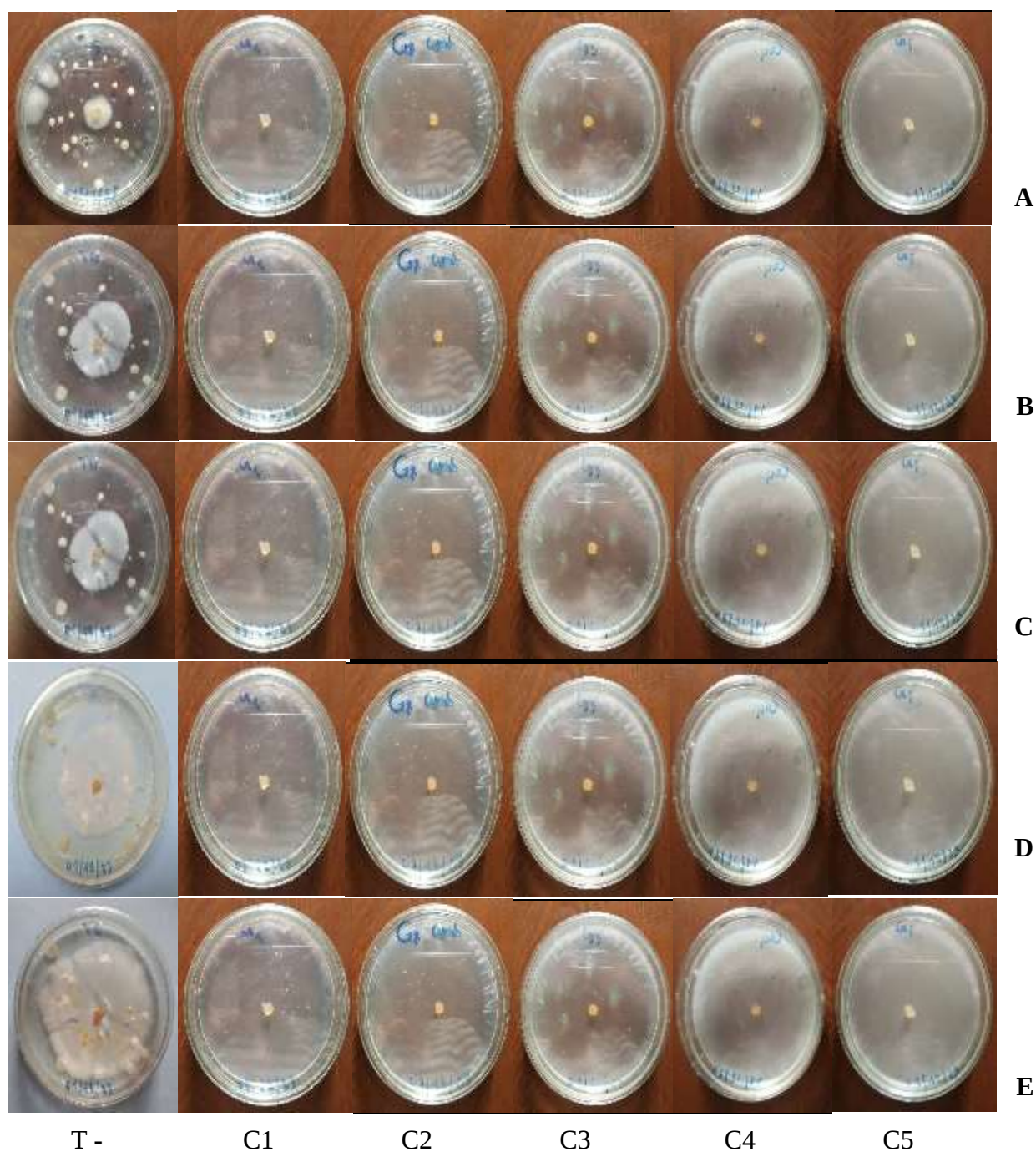


Fig. 15. Croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* sous l'influence de l'HECC suivant différentes dates d'évaluation par la méthode de contact direct. A : 3 JAI ; B : 5 JAI ; C : 7 JAI ; D : 10 JAI ; E : 14 JAI. Avec T- = DMSO à 5% ; C1 = 0,125 µL/ml ; C2 = 0,25 µL/ml ; C3 = 0,5 µL/ml ; C4 = 1 µL/ml ; C5 = 2 µL/ml. JAI (jours après inoculation), DMSO (Diméthyle Sulfoxyde) ;

Les Tableaux IV et V montrent que l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* affecte considérablement la croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum*. On observe ainsi une différence significative, au seuil de 5 %, entre le Témoin négatif et toutes les concentrations du troisième au quatorzième jours après incubation, que ce soit dans la méthode de microatmosphère ou de contact direct. Cependant, du troisième au quatorzième jours après incubation, toutes les concentrations (C1, C2, C3, C4 et C5) ont pour diamètre moyen de croissance $0,00 \pm 0,00$ et ne présentent donc aucune différence significative par rapport au Témoin positif ($0,00 \pm 0,00$).

Tableau IV. Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur la croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* par la méthode de microatmosphère

Concentration ($\mu\text{l/ml}$)	Diamètre moyen du mycélium en (cm)				
	3JAI	5JAI	7JAI	10JAI	14JAI
Témoin -	$1,12 \pm 0,30^a$	$2,72 \pm 0,99^a$	$4,50 \pm 1,02^a$	$8,17 \pm 0,41^a$	$9,00 \pm 0,00^a$
C1	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
C2	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
C3	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
C4	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
C5	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
Témoin +	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
Valeur t	2,10	2,10	2,10	2,10	2,10
Probabilité	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Significativité	HS	HS	HS	HS	HS

Les valeurs moyennes dans une colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Kruskal-Wallis) ; HS : Hautement Significatif.

Tableau V. Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur la croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* par la méthode de contact direct

Concentration ($\mu\text{l/ml}$)	Diamètre moyen du mycélium en (cm)				
	3JAI	5JAI	7JAI	10JAI	14JAI
Témoin -	1,48 $\pm$ 0,23 ^a	2,32 $\pm$ 0,42 ^a	3,02 $\pm$ 0,56 ^a	3,81 $\pm$ 1,04 ^a	5,75 $\pm$ 1,51 ^a
C1	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b
C2	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b
C3	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b
C4	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b
C5	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b
Témoin +	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^b
Valeur t	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14
Probabilité	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Significativité	HS	HS	HS	HS	HS

Les valeurs moyennes dans une colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Kruskal-Wallis) ; HS : Hautement Significatif.

III.1.3.2. Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis*

III.1.3.2.1. Effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur la croissance mycélienne de *U. maydis*

D'une manière générale, les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *Citrus sinensis* a considérablement réduit la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* du troisième au dixième jours d'incubation. Cette réduction est observée dans les deux méthodes utilisées (Fig. 16 et 17).

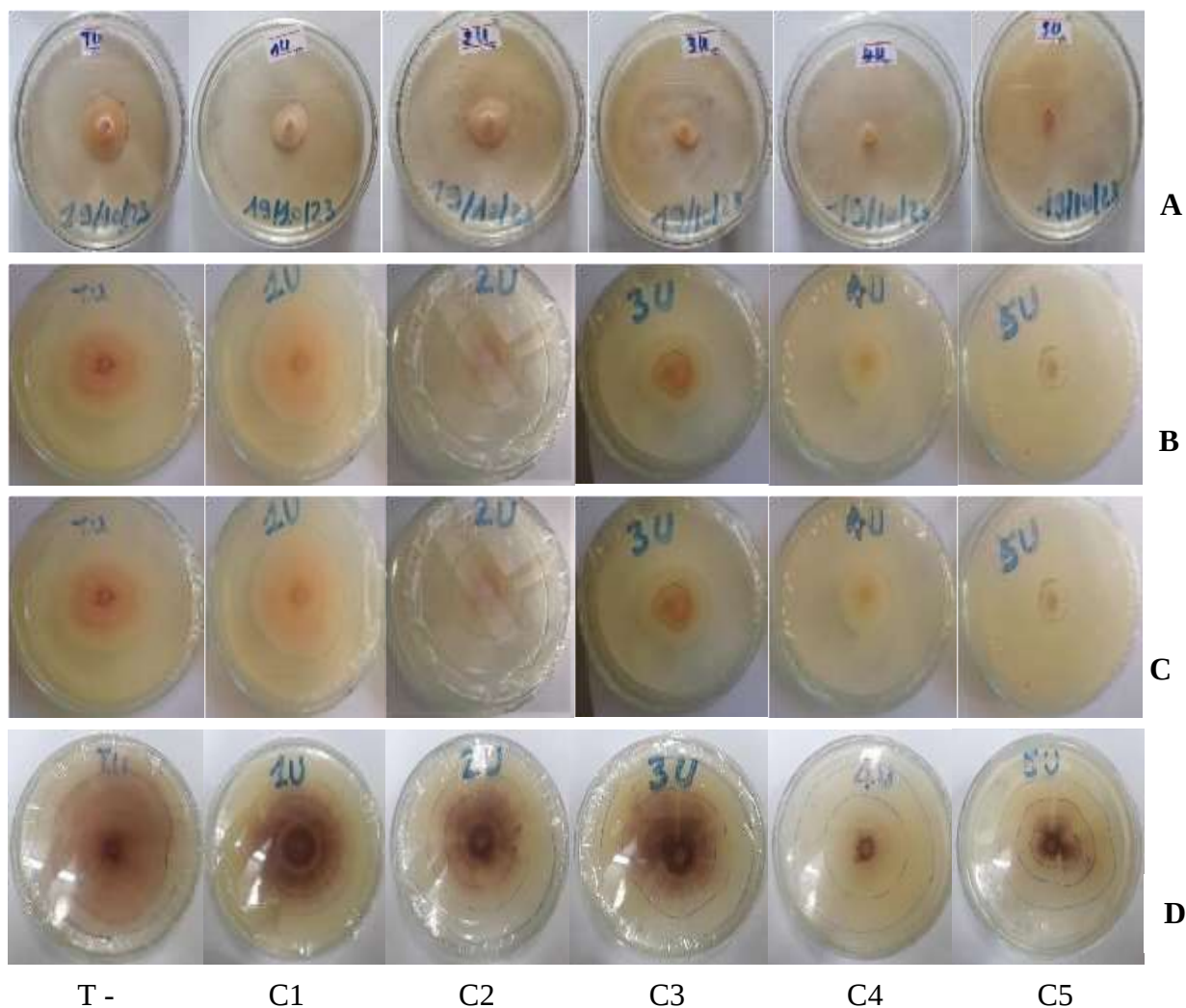


Fig. 16. Croissance mycélienne de *Ustilago maydis* sous l'effet de l'HECS par la méthode de microatmosphère : A. 3 JAI ; B. 5 JAI ; C. 7 JAI ; D. 10 JAI. T- = 0 µL/mL ; C1 = 0,125 µL/mL ; C2 = 0,25 µL/mL ; C3 = 0,5 µL/mL ; C4 = 1 µL/mL ; C5 = 1,25 µL/mL. JAI (jours après inoculation) ;

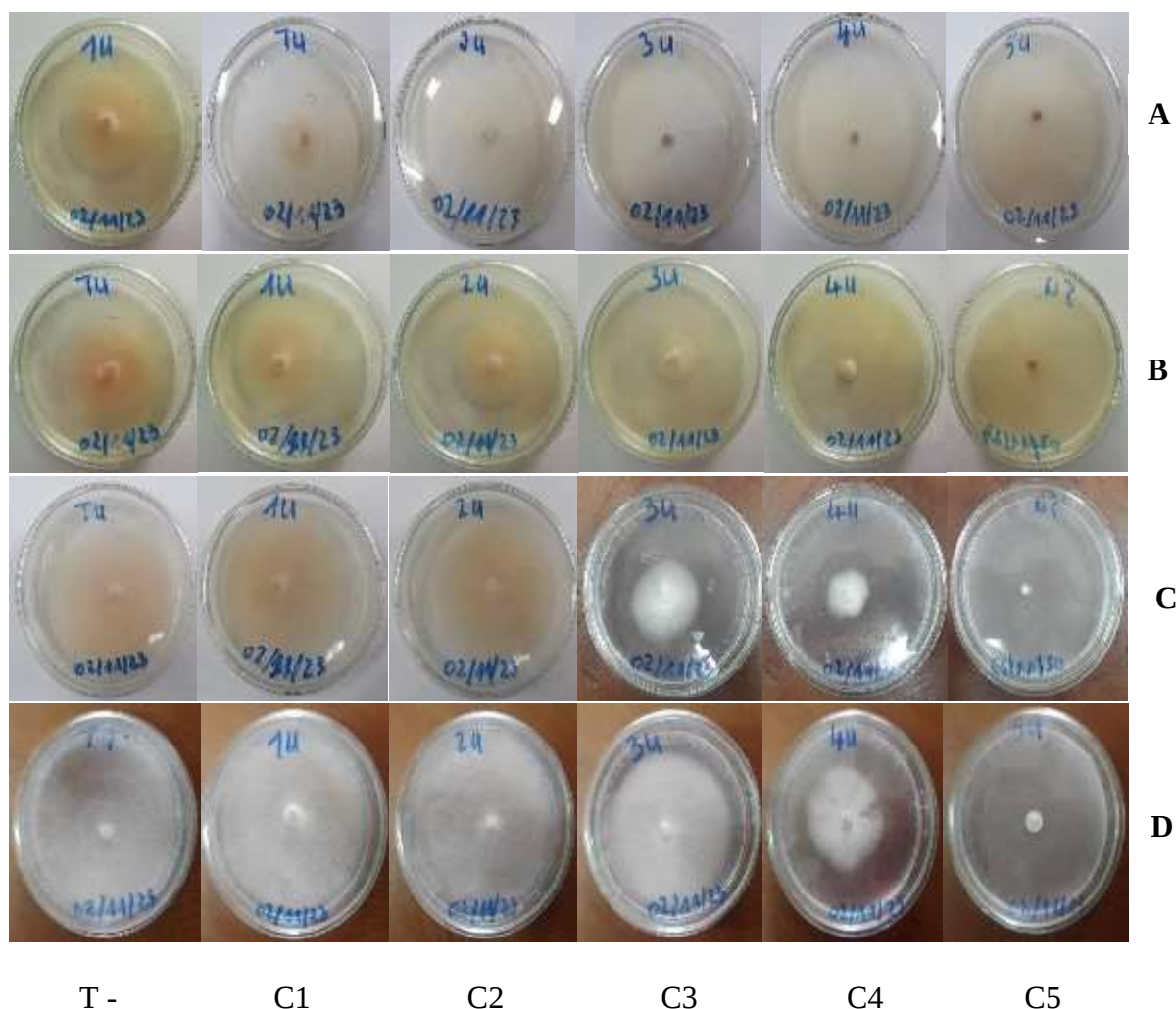


Fig. 17. Croissance mycélienne de *U. maydis* sous l'effet de l'HECS par la méthode de contact direct : A. 3 JAI ; B. 5 JAI ; C. 7 JAI ; D. 10 JAI. T- = DMSO à 5% ; C1 = 0,125 µL/mL ; C2 = 0,25 µL/mL ; C3 = 0,5 µL/mL ; C4 = 1 µL/mL ; C5 = 2 µL/mL. JAI (jours après inoculation), DMSO (Diméthyle Sulfoxyde) ;

Les données de l'effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur la croissance mycélienne de *U. maydis* sont consignés dans les Tableaux VI et VII. En effet, la croissance mycélienne diminue à mesure que la concentration de l'huile essentielle augmente. Une différence significative est observée tout au long du traitement, avec une diminution progressive du diamètre du mycélium notée à toutes les concentrations du troisième au dixième jour après incubation. Cependant, dans la méthode de microatmosphère, les concentrations C1 ($4,33 \pm 0,64$ cm), C2 ($3,50 \pm 0,36$ cm) et le témoin négatif ($3,67 \pm 1,14$ cm) ne montrent aucune différence significative au cinquième jour après incubation (Tableau VI). De même, dans la méthode de contact direct, les concentrations C2 ($4,00 \pm 0,44$ cm) et le témoin négatif ($4,20 \pm 1,06$ cm) du septième au dixième jour après incubation ne sont pas différents et les diamètres du mycélium aux concentrations C1 ($9,00 \pm 0,00$ cm), C2 ($9,00 \pm 0,00$ cm) ainsi que celui du témoin négatif

(9,00±0,00 cm) ne diffèrent pas au 10 JAI (Tableau VII). Toutefois, les résultats des deux tableaux indiquent simplement que l'HECS a réduit la croissance du mycélium de *Ustilago maydis* sans provoquer l'inhibition, car aucune des concentrations C1, C2, C3, C4 et C5 dans les deux méthodes n'a produit le même effet que le témoin positif (0,00±0,00 cm) au dixième jour après incubation.

Tableau VI. Effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* par la méthode de microatmosphère

Concentration (µl/ml)	Diamètre moyen du mycélium en (cm)			
	3JAI	5JAI	7JAI	10JAI
Témoin -	2,67±0,15 ^a	3,67±1,14 ^a	4,20±1,06 ^{ab}	6,57±1,10 ^a
C1	2,07±0,06 ^b	4,33±0,64 ^a	4,67±0,76 ^a	6,47±0,76 ^a
C2	1,80±0,26 ^c	3,50±0,36 ^a	4,00±0,44 ^{ab}	5,90±0,56 ^a
C3	1,12±0,16 ^d	2,78±0,03 ^b	3,30±0,10 ^b	5,02±0,33 ^b
C4	0,00±0,00 ^e	2,13±0,06 ^c	2,66±0,04 ^{cd}	4,86±0,01 ^b
C5	0,00±0,00 ^e	1,56±0,24 ^c	2,53±0,83 ^c	3,60±0,53 ^c
Témoin +	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d
Valeur t	2,09	2,09	2,09	2,09
Probabilité	0,000	0,000	0,000	0,000
Significativité	HS	HS	HS	HS

Les valeurs moyennes dans une colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Kruskal-Wallis) ; HS : Hautement Significatif.

Tableau VII. Effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* par la méthode de contact direct

Concentration (µl/ml)	Diamètre moyen du mycélium en (cm)			
	3JAI	5JAI	7JAI	10JAI
Témoin -	2,51±0,10 ^a	4,79±0,99 ^{ab}	6,00±1,31 ^b	9,00±0,00 ^a
C1	2,41±0,53 ^a	5,21±0,44 ^a	7,44±0,23 ^a	9,00±0,00 ^a
C2	1,25±0,05 ^b	3,97±0,09 ^b	6,69±0,10 ^b	9,00±0,00 ^a
C3	0,00±0,00 ^c	1,10±0,37 ^c	3,93±0,25 ^c	7,38±0,37 ^b
C4	0,00±0,00 ^c	0,70±0,10 ^c	2,00±0,28 ^d	4,97±0,67 ^c
C5	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^e	0,58±0,08 ^d
Témoin +	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^e
Valeur t	2,14	2,14	2,14	2,14
Probabilité	0,000	0,000	0,000	0,000
Significativité	HS	HS	HS	HS

Les valeurs moyennes dans une colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Kruskal-Wallis) ; HS : Hautement Significatif.

III.1.3.2.2. Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur la croissance mycélienne de *U. maydis*

Les résultats obtenus montrent d'une manière générale que l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* a complètement inhibé la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* aux différentes concentrations utilisées du troisième jusqu'au dixième jour d'incubation aussi bien à la méthode microatmosphère qu'à la méthode contact direct. Toutefois, on note une très faible croissance mycélienne à la concentration C1 dans la méthode microatmosphère du septième au Dixième jours d'incubations (Fig. 18 et Fig. 19).

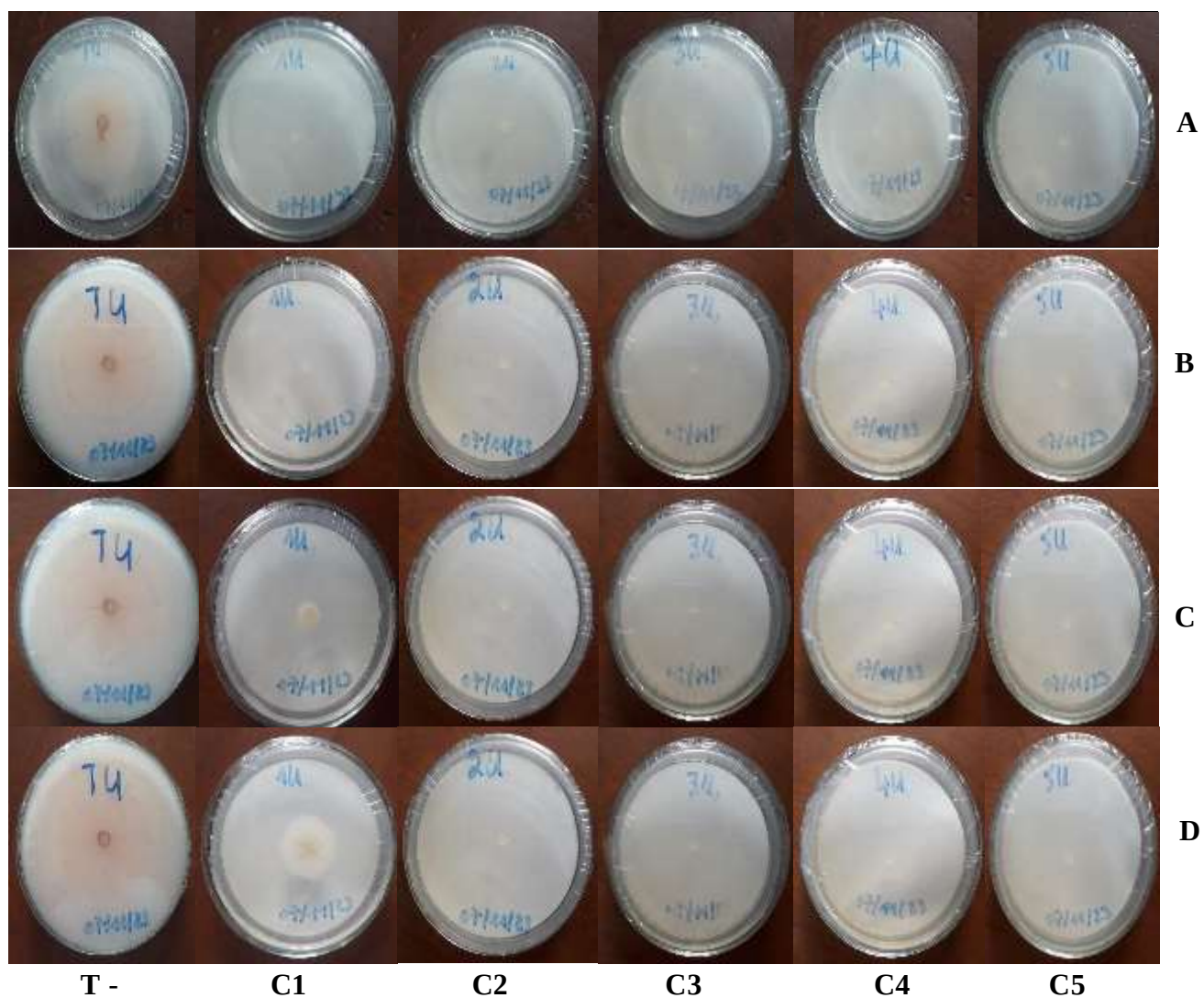


Fig. 18. Croissance mycélienne de *Ustilago maydis* sous l'effet de l'HECC par la méthode de microatmosphère : A. 3 JAI ; B. 5 JAI ; C. 7 JAI ; D. 10 JAI. T- = 0 $\mu\text{L/mL}$; C1 = 0,125 $\mu\text{L/mL}$; C2 = 0,25 $\mu\text{L/mL}$; C3 = 0,5 $\mu\text{L/mL}$; C4 = 1 $\mu\text{L/mL}$; C5 = 1,25 $\mu\text{L/mL}$. JAI (jours après inoculation) ;



Fig. 19. Croissance mycélienne de *U. maydis* sous l'effet de l'HECC par la méthode de %contact direct : A. 3 JAI ; B. 5 JAI ; C. 7 JAI ; D. 10 JAI. T- = DMSO à 5% ; C1 = 0,125 $\mu\text{L/mL}$; C2 = 0,25 $\mu\text{L/mL}$; C3 = 0,5 $\mu\text{L/mL}$; C4 = 1 $\mu\text{L/mL}$; C5 = 2 $\mu\text{L/mL}$. JAI (jours après inoculation), DMSO (Diméthyle Sulfoxyde) ;

L'analyse de la Figure 18 et du Tableau VIII montrent que durant les jours d'incubation, l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* inhibe complètement la croissance de *Ustilago maydis* aux concentrations C1 à C5 excepté le septième et le dixième jour d'incubation où on note à la concentration C1 ($0,41 \pm 0,18$ cm) et ($0,63 \pm 0,10$ cm) une très faible croissance mycélienne à la méthode microatmosphère. La Figure 19 et le tableau VIX quant à eux montrent que cette huile essentielle inhibe totalement la croissance du pathogène aux concentrations C1 à C5 ($0,00 \pm 0,00$ cm) du troisième au dixième jours d'incubation. Par ailleurs, toutes ces concentrations ($0,00 \pm 0,00$ cm) où l'huile essentielle de *C. citratus* a complétement inhibé la croissance de *U. maydis* ne présentent aucune différence significative par rapport au Témoin positif ($0,00 \pm 0,00$ cm).

Tableau VIII. Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* par la méthode de microatmosphère

Concentration (µl/ml)	Diamètre moyen du mycélium en (cm)			
	3JAI	5JAI	7JAI	10JAI
Témoin -	$4,00 \pm 0,00^a$	$6,73 \pm 0,13^a$	$9,00 \pm 0,00^a$	$9,00 \pm 0,00^a$
C1	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,41 \pm 0,18^b$	$0,63 \pm 0,10^a$
C2	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
C3	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
C4	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
C5	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
Témoin +	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^b$
Valeur t	2,14	2,14	2,14	2,14
Probabilité	0,000	0,000	0,000	0,000
Significativité	HS	HS	HS	HS

Les valeurs moyennes dans une colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Kruskal-Wallis) ; HS : Hautement Significatif.

Tableau IX. Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* par la méthode de contact direct

Concentration (µl/ml)	Diamètre moyen du mycélium en (cm)			
	3JAI	5JAI	7JAI	10JAI
Témoin -	4,40±0,12 ^a	7,01±0,19 ^a	9,00±0,00 ^a	9,00±0,00 ^a
C1	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
C2	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
C3	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
C4	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
C5	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
Témoin +	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b
Valeur t	2,14	2,14	2,14	2,14
Probabilité	0,000	0,000	0,000	0,000
Significativité	HS	HS	HS	HS

Les valeurs moyennes dans une colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Kruskal-Wallis) ; HS : Hautement Significatif.

III.1.3.3. Effet du mélange des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Cymbopogon citratus* sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis*

Les résultats obtenus montrent d'une manière générale que le mélange des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et *Citrus sinensis*, a considérablement réduit la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* du troisième au dixième jour d'incubation. Cette réduction est observée dans les deux méthodes utilisées (Fig. 20 et Fig. 21).

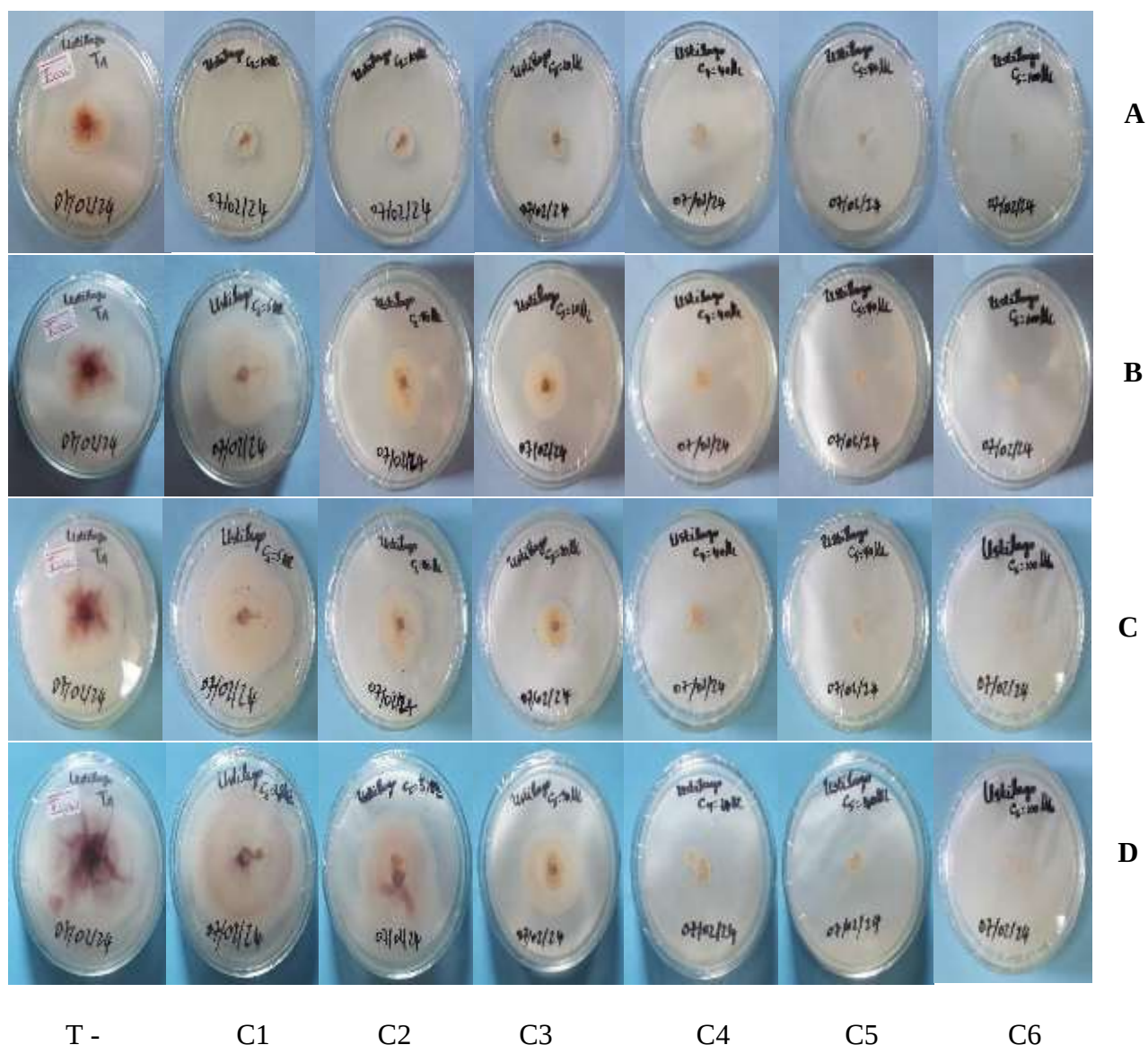


Fig. 20. Croissance mycélienne de *Ustilago maydis* sous effet du mélange des HECS et HECC par la méthode de microatmosphère : A. 3 JAI ; B. 5 JAI ; C. 7 JAI ; D. 10 JAI. T- = 0 $\mu\text{L/mL}$; C1 = 0,031 $\mu\text{L/mL}$; C2 = 0,062 $\mu\text{L/mL}$; C3 = 0,125 $\mu\text{L/mL}$; C4 = 0,25 $\mu\text{L/mL}$; C5 = 0,5 $\mu\text{L/mL}$; C6 = 1 $\mu\text{L/mL}$. JAI (jours après inoculation)

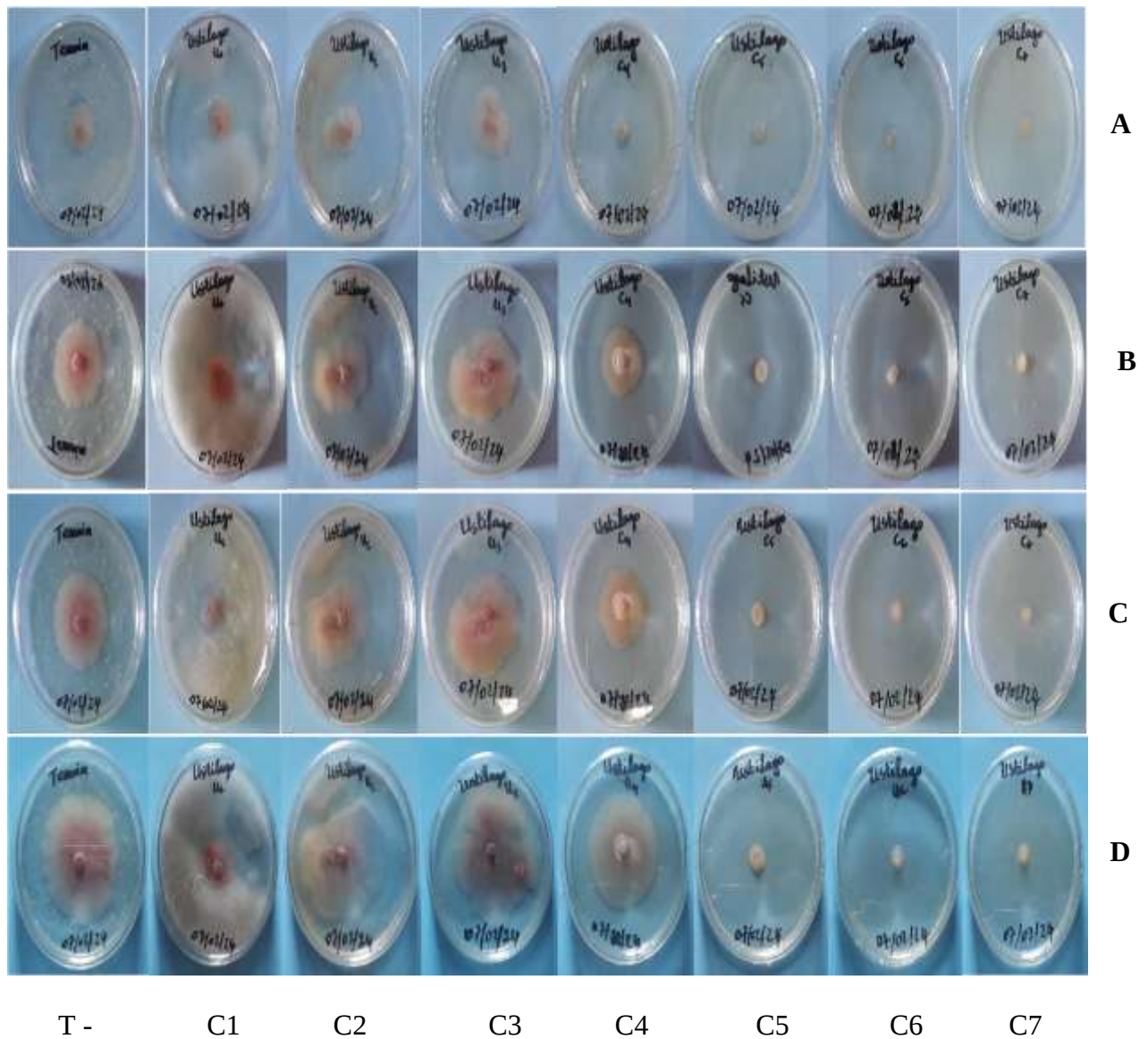


Fig. 21. Croissance mycélienne de *U. maydis* sous l'effet du mélange des HECS et HECC par la méthode de contact direct : A. 3 JAI ; B. 5 JAI ; C. 7 JAI ; D. 10 JAI. T- = DMSO à 5% ; C1 = 0,031 $\mu\text{L/mL}$; C2 = 0,062 $\mu\text{L/mL}$; C3 = 0,125 $\mu\text{L/mL}$; C4 = 0,25 $\mu\text{L/mL}$; C5 = 0,5 $\mu\text{L/mL}$; C6 = 1 $\mu\text{L/mL}$; C7 = 2 $\mu\text{L/mL}$. JAI (jours après inoculation), DMSO (Diméthyle Sulfoxyde) ;

Les Tableaux X et XI montrent que le mélange des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et de *Cymbopogon citratus* a influencé la croissance mycélienne de *Ustilago maydis*. On observe que la concentration C1 ($5,14 \pm 0,44$ cm) et le témoin négatif ($6,20 \pm 0,60$ cm) du Tableau X ainsi que les concentrations C1 ($6,41 \pm 0,00$ cm) et C2 ($5,51 \pm 1,17$ cm) du Tableau XI ne sont pas statistiquement différents au dixième jour d'incubation. Cependant, toujours au dixième jour après incubation, le mycélium croît dans les boîtes de Pétri à des concentrations C1 ($5,14 \pm 0,44$ cm), C2 ($3,62 \pm 0,54$ cm), et C3 ($0,86 \pm 0,19$ cm) dans la méthode de microatmosphère (Tableau X), ainsi qu'à des concentrations C1 ($6,41 \pm 0,23$ cm), C2 ($5,51 \pm 0,44$ cm) et C3 ($2,10 \pm 1,17$ cm) dans la méthode par contact direct (Tableau XI). Du troisième au dixième jour d'incubation, les concentrations C4 et C5 (microatmosphère et contact direct) présentent un diamètre moyen du mycélium égal à celui du témoin positif ($0,00 \pm 0,00$ cm).

Tableau X. Effet du mélange des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Cymbopogon citratus* sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* par la méthode de microatmosphère

Concentration ($\mu\text{l/ml}$)	Diamètre moyen du mycélium en (cm)			
	3JAI	5JAI	7JAI	10JAI
Témoin -	$2,34 \pm 0,27^a$	$4,05 \pm 0,26^a$	$4,66 \pm 0,17^a$	$6,20 \pm 0,60^a$
C1	$0,97 \pm 0,42^c$	$2,42 \pm 0,74^b$	$3,42 \pm 0,75^b$	$5,14 \pm 0,44^b$
C2	$0,84 \pm 0,13^c$	$1,41 \pm 0,76^c$	$2,12 \pm 0,50^c$	$3,62 \pm 0,54^c$
C3	$0,13 \pm 0,06^d$	$0,52 \pm 0,20^d$	$0,57 \pm 0,21^d$	$0,86 \pm 0,19^d$
C4	$0,00 \pm 0,00^e$	$0,00 \pm 0,00^b$	$0,00 \pm 0,00^e$	$0,00 \pm 0,00^e$
C5	$0,00 \pm 0,00^e$	$0,00 \pm 0,00^e$	$0,00 \pm 0,00^e$	$0,00 \pm 0,00^e$
Témoin +	$0,00 \pm 0,00^e$	$0,00 \pm 0,00^e$	$0,00 \pm 0,00^e$	$0,00 \pm 0,00^e$
Valeur t	2,14	2,14	2,14	2,14
Probabilité	0,000	0,000	0,000	0000
Significativité	HS	HS	HS	HS

Les valeurs moyennes dans une colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Kruskal-Wallis) ; HS : Hautement Significatif.

Tableau XI. Effet du mélange des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Cymbopogon citratus* sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* par la méthode de contact direct

Concentration (µl/ml)	Diamètre moyen du mycélium en (cm)			
	3JAI	5JAI	7JAI	10JAI
Témoin -	1,99±0,21 ^a	3,16±0,12 ^a	3,91±0,13 ^a	7,17±0,17 ^a
C1	2,24±0,17 ^b	4,10±0,00 ^b	4,96±0,00 ^b	6,41±0,00 ^d
C2	1,31±0,27 ^c	2,98±0,47 ^c	3,8±0,47 ^c	5,51±1,17 ^c
C3	0,50±0,17 ^c	0,72±0,19 ^c	0,97±0,40 ^c	2,10±0,23 ^c
C4	0,00±0,27 ^d	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d
C5	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d
Témoin +	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^d
Valeur t	2,14	2,14	2,14	2,14
Probabilité	0,000	0,000	0,000	0,000
Significativité	HS	HS	HS	HS

Les valeurs moyennes dans une colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Kruskal-Wallis) ; HS : Hautement Significatif.

III.1.3.4. Comparaison de l'effet des huiles essentielles sur la croissance de *Ganoderma resinaceum* et *Ustilago maydis*

III.1.3.4.1. Comparaison de l'effet des huiles essentielles sur la croissance de *Ganoderma resinaceum*

Les huiles essentielles utilisées se sont révélées très efficaces contre la croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum*. Des inhibitions de 100% ont été obtenues avec les concentrations de 1 µL/mL et 1,25 µL/mL (méthode de microatmosphère) ainsi que les concentrations de 1 µL/mL et 2 µL/mL (méthode de contact direct) avec l'huile essentielle de *Citrus sinensis*. Par contre, les inhibitions de 100% ont été enregistrées à toutes les concentrations (C1 à C5) avec l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* (Fig. 22). Toutefois, l'inhibition varie selon les concentrations et les types d'huiles essentielles, ces dernières réduisant ou stoppant la croissance du mycélium.

Des inhibitions de 27,56%, 32,37% et 68,83% (méthode de microatmosphère) ont respectivement été observées pour les concentrations de 0,125 µL/mL, 0,25 µL/mL et 0,5 µL/mL d'huile essentielle de *Citrus sinensis*, tandis que des inhibitions de 10,60%, 15,22% et 54,91 (méthode de contact direct) ont été obtenues respectivement à des concentrations de

0,125, 0,25 et 0,5 $\mu\text{L/mL}$. La plus faible inhibition a été obtenue avec l'huile essentielle de *Citrus sinensis*, tandis que l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* a montré un taux d'inhibition très élevé du pathogène à toutes les concentrations testées, quelle que soit la méthode utilisée (Fig. 22).

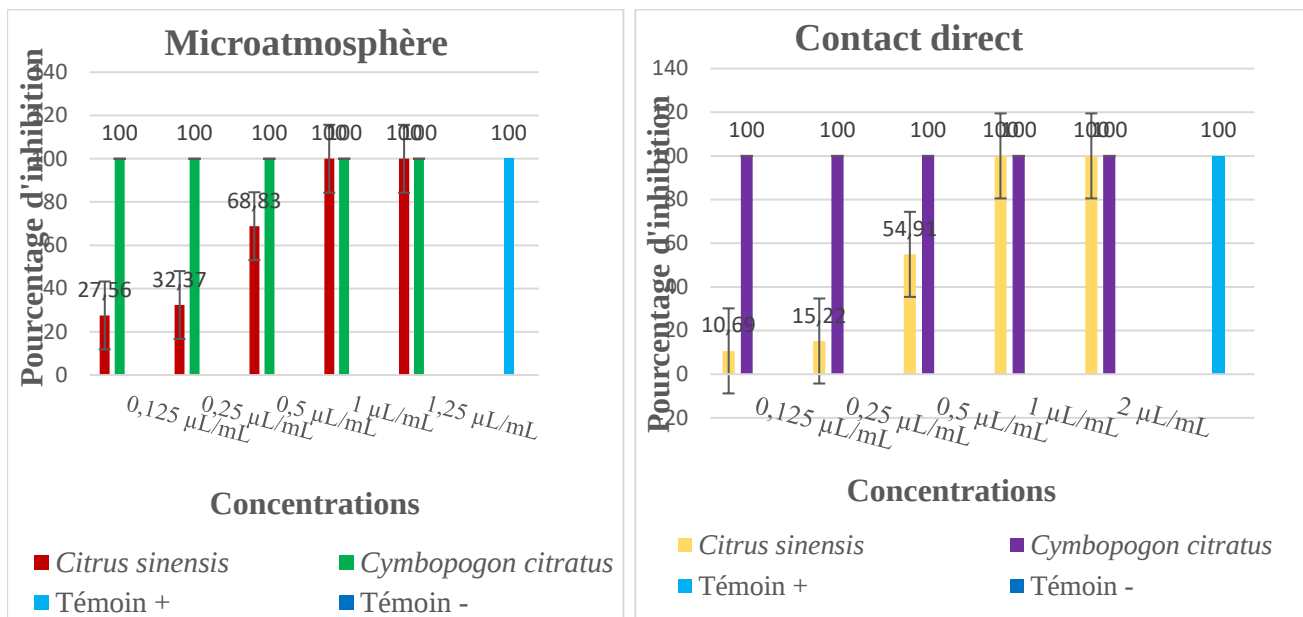


Fig. 22. Effets des HECS et HECC sur la croissance mycélienne de *G. resinaceum*. Les valeurs d'une même huile essentielle portant les lettres différentes sont significativement différentes à $p < 0,05$ (test de Mann-Whitney).

III.1.3.4.2. Comparaison de l'effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis*

Les huiles essentielles utilisées se sont montrées très efficaces sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis*. Des inhibitions de 100% ont été obtenues avec les concentrations de 0,5 à 1,25 $\mu\text{L/mL}$ (microatmosphère), 1 et 2 $\mu\text{L/mL}$ (contact direct) pour le mélange des HECS et HECC et aux concentrations de 0,125 $\mu\text{L/mL}$ à 2 $\mu\text{L/mL}$ (les deux méthodes) pour l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*. Dans la méthode de microatmosphère, l'huile essentielle de *Citrus sinensis* a présenté le plus faible taux d'inhibition du mycélium notamment 1,52%, 10,20%, 23,52%, 26,03 et 45,21% respectivement aux concentrations allant de 0,125 à 1,25 $\mu\text{L/mL}$ suivi du mélange des HECS et l'HECC avec les taux d'inhibition de 41,61% et 86,13% aux concentrations de 0,125 et 0,25 $\mu\text{L/mL}$. L'huile essentielle de *C. citratus* a présenté le taux d'inhibition le plus élevé (100%) à toutes les concentrations de la méthode de contact direct. Cependant, à la méthode de contact direct on a enregistré les taux d'inhibition de 0%, 0%, 18%, 44,77% et 93,56% respectivement aux concentrations de 0,125 à 2 $\mu\text{L/mL}$ avec l'HECS et les taux d'inhibitions de 10,65%, 23,15%,

70,71%, 100% et 100% respectivement pour les concentrations de 0,125 à 2 $\mu\text{L/mL}$ avec le mélange de HECS et HECC. Toutefois, dans les deux méthodes utilisées, l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* est celle qui a présenté les taux d'inhibition les plus élevés (Fig.23).

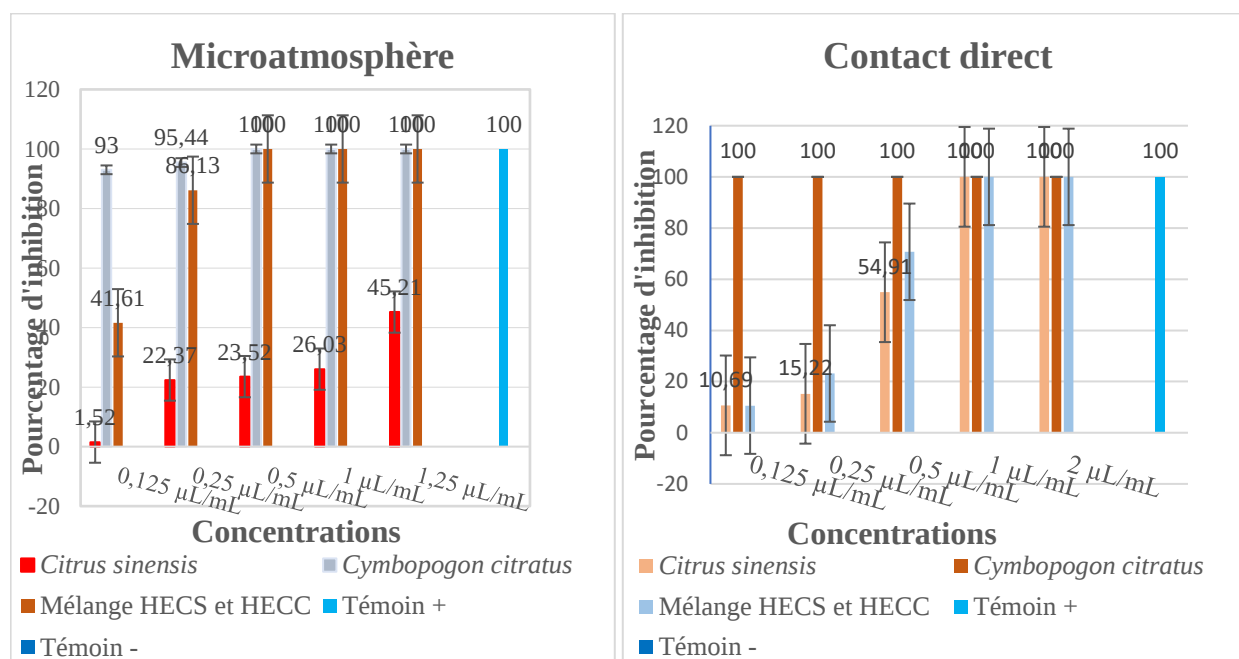


Fig. 23. Effets des HEs sur la croissance de *U. maydis*. Les valeurs d'une même huile essentielle portant les lettres différentes sont significativement différentes à $p < 0,05$ (test de MannWhitney).

III.1.3.5. Propriétés fongicides ou fongistatiques des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Ganoderma resinaceum* et *Ustilago maydis*

Pour le test fongicide/fongistatique réalisé sur le mycélium de *Ganoderma resinaceum* et *Ustilago maydis*, seules les concentrations inhibant complètement la croissance mycélienne sont considérées. Ainsi, toutes les concentrations ayant inhibées totalement la croissance du mycélium ont montré une activité fongicide (Tableau XII). Les concentrations ayant inhibées puis montrées une reprise de croissance mycélienne après repiquage sont fongistatique.

L'HECS n'a montré aucune activité sur la croissance mycélienne de *U. maydis* aussi bien à la méthode microatmosphère que de contact direct à toutes les concentrations testées preuve que HECS n'a pas d'effet sur la croissance mycélienne de ce pathogène. Mais sur *G. resinaceum*, cette huile essentielle a eu un effet fongicide aux concentrations 1 et 1,25 $\mu\text{L/mL}$ (microatmosphère), 1 et 2 $\mu\text{L/mL}$ (contact direct) avec une concentration minimale inhibitrice de 1 $\mu\text{L/mL}$.

L'HECC utilisé dans la méthode de microatmosphère a eu un effet fongicide sur *U. maydis* et *G. resinaceum* aux concentrations respectives de 0,25 à 1,25 $\mu\text{L/mL}$ et de 0,125 à

1,25 $\mu\text{L/mL}$. Tandis que dans la méthode de contact direct l'HECC a eu un effet fongicide sur ces deux pathogènes aux concentrations allant de 0,25 à 2 $\mu\text{L/mL}$, avec une CMI de 0,25 $\mu\text{L/mL}$.

Le mélange de HECS et HECC a eu un effet fongistatique sur *U. maydis* dans la méthode de microatmosphère aux concentrations allant de 1 à 1,25 $\mu\text{L/mL}$ et un effet fongicide sur ce même pathogène aux concentrations de 1 et 2 $\mu\text{L/mL}$. Avec une CMI de 1 $\mu\text{L/mL}$ (Tableau XII).

Tableau XII. Activité fongicide ou fongistatique des huiles essentielles

Souche	Huile essentielle	Concentrations (en $\mu\text{L/mL}$)	Méthode	Activité
<i>Ganoderma resinaceum</i>	HECS	1 et 1,25	Microatmosphère	Fongicide
		1 et 2	Contact direct	Fongicide
	HECC	0,125 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 1,25	Microatmosphère	Fongicide
		0,125 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 2	Contact direct	Fongicide
<i>Ustilago maydis</i>	HECS	0,125 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 1,25	Microatmosphère	Pas d'activité
		0,125 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 2	Contact direct	Pas d'activité
	HECC	0,25 ; 0,5 ; 1 et 1,25	Microatmosphère	Fongicide
		0,125 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 2	Contact direct	Fongicide
	Mélange des HECS et HECC	1 et 1,25	Microatmosphère	Fongistatique
		1 et 2	Contact direct	Fongicide

III.1.3.6. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Chez *Ganoderma resinaceum*, la CMI a été obtenue avec l'huile essentielle de *C. sinensis* à la concentration 1 $\mu\text{L/mL}$ dans la méthode dite microatmosphère et de contact direct. Par contre, la concentration de 0,125 $\mu\text{L/mL}$ a été considérée comme CMI avec l'huile essentielle de *C. citratus* aux deux méthodes utilisées car elle a bloqué totalement la croissance du pathogène (Tableau XIII).

Chez *Ustilago maydis*, aucune CMI n'a été obtenue avec l'huile essentielle de *C. sinensis* aux deux méthodes et aux concentrations utilisées sauf en élevant les concentrations à la méthode de microatmosphère où on a obtenu une CMI à la concentration 7,5 $\mu\text{L/mL}$. A cette concentration de 7,5 $\mu\text{L/mL}$, nous avons observée uniquement une activité fongistatique. Une CMI a été obtenue avec le mélange des deux huiles aux deux méthodes à la concentration 1 $\mu\text{L/mL}$. Cependant, *Cymbopogon citratus* a montré des CMI de 0,25 $\mu\text{L/mL}$ à la méthode de microatmosphère et 0,125 $\mu\text{L/mL}$ à la méthode de contact direct (Tableau XIV).

Tableau XIII. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des différentes HEs sur *G. resinaceum*

	CMI (en $\mu\text{L/mL}$)									
	Microatmosphère					Contact direct				
Huile essentielle	0,125	0,25	0,5	1	1,25	0,125	0,25	0,5	1	2
HECS	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
HECC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = croissance du mycélium et - = absence de croissance du mycélium.

Tableau XIV. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des différentes HEs sur *U. maydis*

	CMI (en $\mu\text{L/mL}$)									
	Microatmosphère					Contact direct				
Huile essentielle	0,125	0,25	0,5	1	1,25	0,125	0,25	0,5	1	2
HECS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HECC	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mélange des HEs	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-

+ = croissance du mycélium et - = absence de croissance du mycélium.

III.1.3.7. Tests de corrélation entre les concentrations et les pourcentages d'inhibition

Le but de ce test était de voir si une relation linéaire existe entre l'augmentation de l'inhibition de la croissance mycélienne et les différentes concentrations des huiles essentielles. Les équations de régression obtenues avec l'HECS ont relevé des relations linéaires croissantes entre les concentrations et les pourcentages d'inhibition. Les souches de *G. resinaceum* et *U. maydis* testées ont respectivement montré des droites de régression avec des pentes positives (y

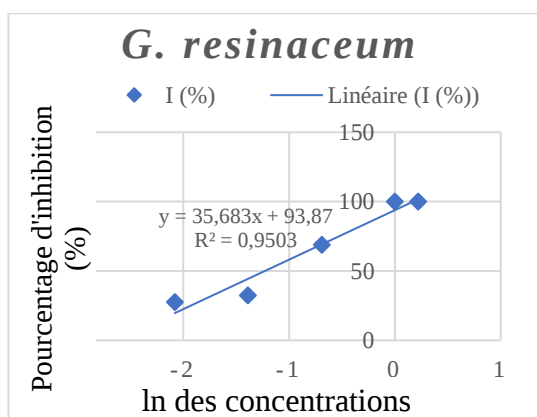
= $35,683x + 93,87$ et $y = 16,389x + 34,211$) à la méthode microatmosphère et ($y = 38,024x + 82,553$ et $y = 33,447x + 54,478$) à la méthode de contact direct (Fig. 24). Pour ces deux souches, les coefficients de corrélation obtenus étaient respectivement : $r = 0,95$ et $r = 0,89$ (microatmosphère) ; $r = 0,91$ et $r = 0,87$ (contact direct) (Tableau XV). En ce qui concerne l'HECC, les équations de régression obtenues ont révélé des comportements variables des différentes souches utilisées vis-à-vis de cet huile. Une pente positive ($y = 3,2051x + 100,21$ et le coefficient de corrélation $r = 0,88$) a été obtenue chez *U. maydis* à la méthode de microatmosphère (Fig. 25). Enfin, concernant le mélange des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Cymbopogon citratus*, les équations de régression obtenues ont révélé le comportement variable de *Ustilago maydis* envers cet aux deux méthodes utilisées. Cette souche a montré des droites de régressions avec des pentes positives : $y = 22,78x + 103,5$ à la méthode microatmosphère et $y = 36,914x + 86,51$ à la méthode contact direct (Fig. 26). Ici, les coefficients de corrélation obtenus étaient : $r = 0,75$ (microatmosphère) et $r = 0,92$ (contact) (Tableau XVI).

Tableau XV. Corrélation entre pourcentage d'inhibition et concentration des HECS et HECC chez *U. maydis* et *G. resinaceum*

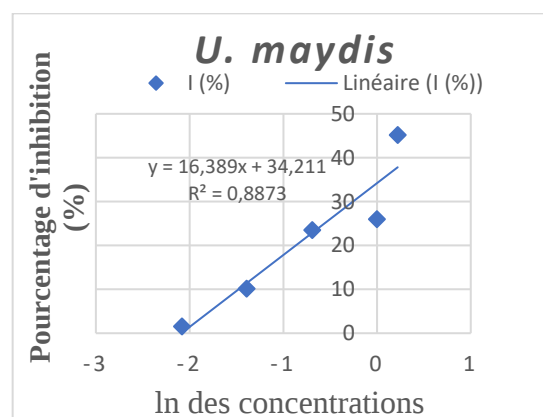
Souche	Méthode	Coefficient de corrélation®	Observation
<i>Ganoderma resinaceum</i>	Microatmosphère	0,95	Fortement corrélés
	Contact direct	0,91	Fortement corrélés
<i>Ustilago maydis</i>	Microatmosphère	0,89 et 0,88	Fortement corrélés
	Contact direct	0,87	Fortement corrélés

Tableau XVI. Corrélation entre pourcentage d'inhibition et concentration du mélange des HECS et HECC chez *Ustilago maydis*

Souche	Méthode	Coefficient de corrélation®	Observation
<i>Ustilago maydis</i>	Microatmosphère	0,75	Fortement corrélés
	Contact direct	0,92	Fortement corrélés



A



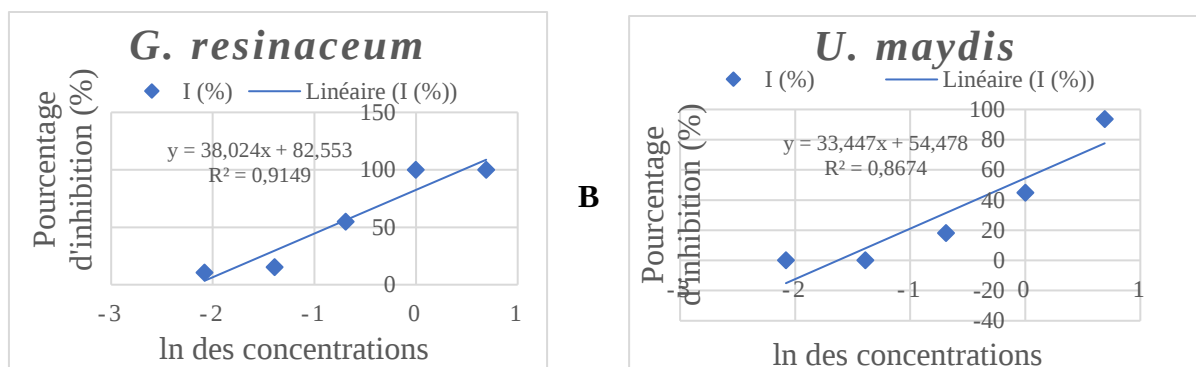


Fig. 24. Courbe de régression sur la croissance mycélienne de *U. maydis* et *G. resinaceum* en présence de l'HECS : A. Microatmosphère ; B. Contact direct

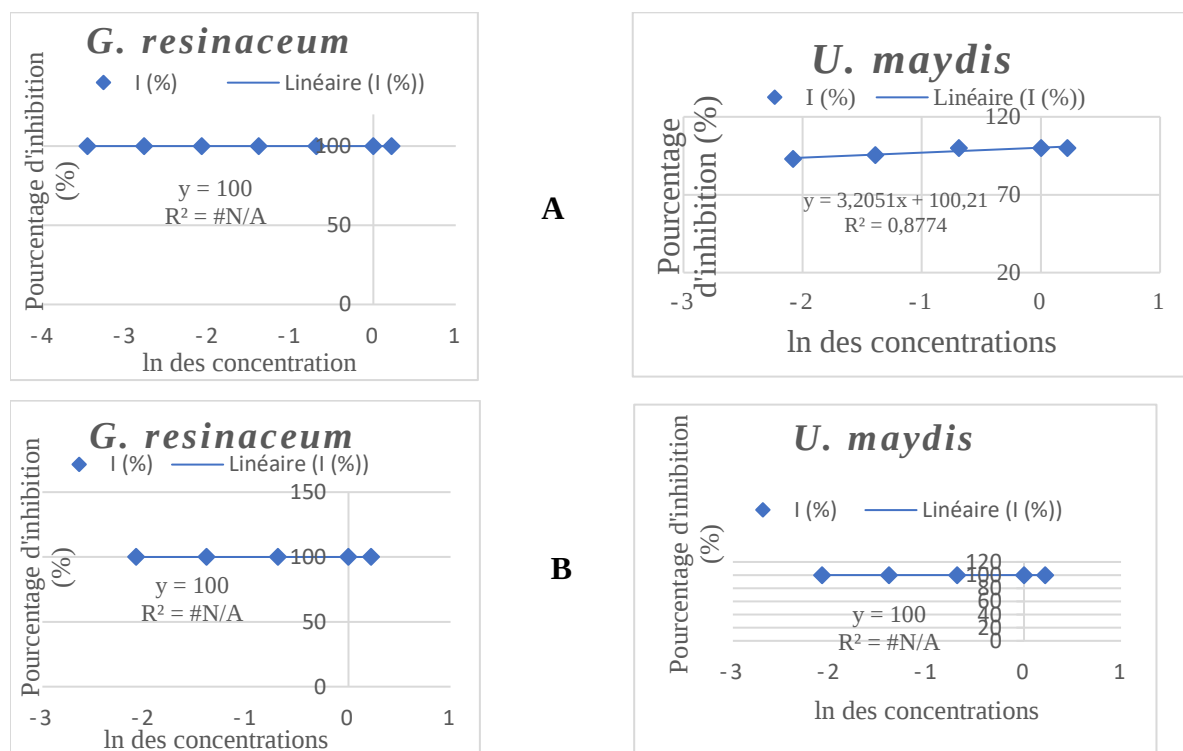


Fig. 25. Courbe de régression sur la croissance mycélienne de *U. maydis* et *G. resinaceum* en présence de l'HECC : A. Microatmosphère ; B. Contact direct

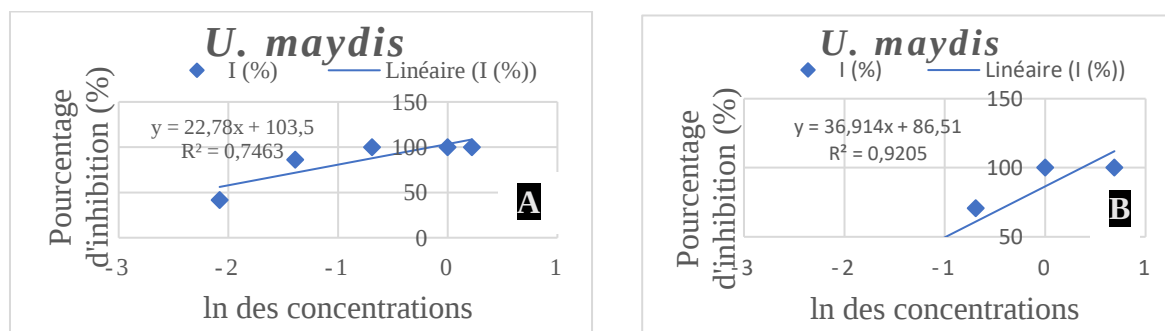


Fig. 26. Courbe de régression sur la croissance mycélienne de *U. maydis* en présence du mélange des HECS et HECC : A. Microatmosphère ; B. Contact direct

III.2. Discussion

Le présent travail était basé sur l'extraction des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* (HECC) et de *Citrus sinensis* (HECS) d'une part et d'autre part sur l'évaluation de leurs activités fongiques sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* (charbon de maïs) et *Ganoderma resinaceum* (champignon lignivore). Les deux souches fongiques étudiées ont été caractérisées morphologiquement, confirmant leur identité par comparaison avec les descriptions récentes. La souche *Ganoderma resinaceum* (Boud.) (DM 2007), caractérisé par un basidiome semi-circulaire, la surface du chapeau lisse présentant des zones concentriques bien marquées et avec une succession de couleur, sessile à sub-stipité, en console ; est presque semblable à la souche *Ganoderma resinaceum* (Boud.) décrite par Tsigaing (2024) car possédant des basidiomes de taille comparable. Néanmoins, elle présente quelques différences notables avec cette souche (*Ganoderma resinaceum* (Boud.)), qui a un basidiomes semi-circulaire dont la surface est verruqueuse formant des sillons discontinus, concentriquement zonés avec des allures d'excroissances émergentes comme des orteils humains et bien délimité à la plupart des endroits, et des basidiomes semi-circulaire, dimidié avec point d'attache, rarement flabelliforme avec des excroissances émergentes. La collection RG 001 (*Ustilago maydis*) quant à elle caractérisé par la formation de tumeurs galeuses sur les épis de maïs, les conidies de 4 – 12 µm de longueurs et de 2 – 6 µm de largeur, ellipsoïdes à ovoïdes parfois un peu régulière, à contenu granuleux, paroi lisse mais parfois légèrement épaisse et les hyphes générateurs de 2 – 4 µm de diamètre, filamenteux à ramifiés et parfois sinueux, à membrane lisse ; est similaire à celle décrite dans les travaux d'Anonyme 8 (2023) qui est caractérisé par des téliosporos de forme ellipsoïdale, mesurant environ 7 µm de diamètre, avec des parois lisses et une pigmentation brune à maturité ; et est contraire à celle décrite par Anonyme 9 (2024) dont les conidies de *U. maydis* présentent une forme allongée.

Les HEs utilisées dans cette étude ont eu un bon rendement d'extraction. Le rendement d'extraction de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* (0,38 %) obtenu à partir de feuilles fraîches de masse 4890,13g est similaire à celui rapporté (0,35%) par Bakarnga-Via *et al.* (2022), mais reste inférieur au rendement rapporté par Mboussi *et al.* (2023) obtenu à partir de feuilles sèches (1,5 %) par la même méthode d'extraction (hydrodistillation). Ce qui suggère un effet de la teneur en eau sur l'efficacité d'extraction. De son côté, l'huile essentielle de *Citrus sinensis* présente un rendement (0,84 %) obtenu à partir des péricarpes (5321,42g), qui est inférieur à celui obtenu (0,93 %) par Hamdani & Allem (2017) à partir des feuilles fraîches. Ces différences observées au niveau des rendements montrent que ce paramètre varie d'une espèce végétale à l'autre (facteurs génétiques) et de la partie utilisée (péricarpe, feuille, etc...),

mais aussi pourraient être due à d'autres facteurs (le climat, la zone de récolte et la période de récolte) (Bouderbala *et al.*, 2020).

Concernant l'activité fongique, les résultats de ces travaux révèlent une forte activité antifongique des deux huiles essentielles testées, plus particulièrement celle de *Cymbopogon citratus* avec une inhibition totale (100 %) sur la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* et *Ganoderma resinaceum* à presque toutes les concentrations testées, qu'elle soit appliquée par microatmosphère (aux concentrations allant de 0,125 µL/mL à 1,25 µL/mL) ou par contact direct (aux concentrations de 0,125 µL/mL à 2 µL/mL). Ces résultats corroborent ceux de (Moussango *et al.*, (2024), qui ont rapporté une inhibition totale (100 %) de l'HECC sur la croissance de *Phomopsis carica-papayae* et *Alternaria alternata* avec une croissance mycélienne arrêtée à 700-900 ppm ; grâce à sa forte richesse en myrcène (8,3 %) et en limonène (7,21 %) . De même, Reyhan et Mihriban (2009) dans leurs travaux ont montré que *C. citratus* a inhibé efficacement la croissance de plusieurs champignons filamenteux et levures, avec des CMI variant entre 0,0602 et 20 µL/mL. Allant dans le même sens, l'étude de Mboussi *et al.* (2023) a démontré que l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* a inhibé considérablement la croissance mycélienne des différentes souches de *Sclerotinia sclerotiorum* (Bia1, Bia2 et Njo2) responsables de la pourriture blanche du haricot, avec les concentrations de 4,76 et 26,03 ml/ml, lié à la présence des substances actives dans cette huile tel que le géraniol et le citral. Cette efficacité antifongique de l'HE de *Cymbopogon citratus* pourrait être attribuée à sa richesse en composés volatils comme le citral, le myrcène, le limonène, le géraniol et le néral, reconnus pour leur activité antibactérienne, antivirale et antifongique (Degnon *et al.*, 2016 ; Landry *et al.*, 2021 ; Mboussi *et al.*, 2023).

L'huile essentielle de *Citrus sinensis*, appliquée par microatmosphère pendant la période d'incubation, ralentit la croissance mycélienne de *G. resinaceum*. Les diamètres mycéliens passent de 9 cm à 6,02 cm, 6,37 cm et 2,59 cm respectivement aux concentrations de 0,125 µL/mL, 0,25 µL/mL et 0,5 µL/mL, avec une inhibition totale observée à 1 µL/mL et 1,25 µL/mL. Cet effet est plus élevé avec la méthode de contact direct aux mêmes concentrations où les diamètres mycéliens sont réduits à 4,64 cm, 4,4 cm et 1,56 cm après 14 jours d'incubation avec une inhibition totale à 1 µL/mL et 2 µL/mL. Ceci prouve que cette huile est fongicide pour ce champignon lignivore avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 1 µL/mL. L'inhibition complète de *G. resinaceum* n'a été observée qu'à partir de 1 µL/mL, ce qui traduit une efficacité inférieure à l'HECC. Ces résultats s'alignent avec ceux de Yakubu et Katsa (2025), où l'HECC a présenté une activité inhibitrice significativement plus élevée que celle de l'HECS contre *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* et

Aspergillus niger. Cette huile ralentit également la croissance mycélienne de *U. maydis* par microatmosphère pendant la période d'incubation dont les diamètres mycéliens passent de 9 cm à 3,60cm respectivement aux concentrations de 0,125 µL/mL d'air à 1,25 µL/mL d'air. Cet effet est plus élevé par contact direct où les diamètres passant de 9 cm à 0,58 cm respectivement aux concentrations de 0,125 µL/mL à 2 µL/mL après 10 jours. Ces résultats montrent que l'effet significatif de HECS sur les deux pathogènes est renforcé par la méthode de contact direct, ce qui est contraire aux résultats obtenus par Laghchimi *et al.* (2014), qui soulignent l'effet fongicide accru de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance des moisissures responsables de la pourriture des pommes (*Alternaria* Sp., *Penicillium expansum* et *Rhizopus stolonifer*) lors de l'utilisation de la méthode de microatmosphère. De même, les travaux de Nkodo (2020) ont montré que l'extraits bruts de *C. citratus* a inhibé la croissance mycélienne de *Ustilago maydis* de façon considérable avec une CMI de 150 mg/mL. De plus, les travaux de Landry *et al.* (2021) ont montré que les six huiles essentielles testées parmi lesquelles *C. sinensis* et *C. citratus* ont complètement inhibées la croissance radiale d'*Aspergillus niger* et *Penicillium* sp., avec des CMI compris entre 0,125 et 1 µL/mL d'air. L'efficacité antifongique de l'HE de *Citrus sinensis* pourrait être attribuer à sa richesse en composés actifs tels que le limonène, le linalol et les alcools terpéniques. L'activité fongicide des composés volatiles résulterait d'un effet combiné entre l'absorption direct des HEs par les champignons et l'effet indirect via l'absorption des HEs par le milieu de culture (Landry *et al.*, 2021).

La combinaison de ces deux huiles essentielles (HECS + HECC) a également permis de réduire la croissance mycélienne de *U. maydis* dans les deux méthodes testées. Les diamètres passent de 5,14 cm à 0,86 cm (microatmosphère) et de 6,41 cm à 2,10 cm (contact direct) respectivement aux concentrations de 0,125 à 0,5 µL/mL avec une inhibition totale observé à partir de 1 µL/mL. Mais son effet inhibiteur reste moins marqué que celui de l'huile essentielle de *C. citratus* seule. Ce résultat pourrait s'expliquer par un effet d'antagonisme partiel entre les composés actifs des deux huiles, un phénomène cohérent avec les travaux de (Nebié *et al.*, (2023) qui ont démontré qu'une distillation de deux huile essentielles (*C. citratus* + *Eucalyptus camaldulensis*) pouvait produire un effet synergique accru, à condition que leurs constituants actifs soient complémentaires (citral et 1,8-cinéole dans ce cas).

Ces mécanismes sont cohérents avec l'observation d'une inhibition totale à faible concentration et l'effet inhibiteur plus marqué dans les tests effectués par microatmosphère, confirmant l'hypothèse selon laquelle les composés volatils diffusés dans un espace confiné maximisent l'action antifongique (Laghchimi *et al.*, 2014 ; Landry *et al.*, 2021).

CHAPITRE IV : CONCLUSION ET PERSPEVTIVES

IV.1. Conclusion

Ce travail visait à évaluer l'efficacité des huiles essentielles de *C. sinensis* et de *C. citratus* sur la croissance mycélienne de *U. maydis* et *G. resinaceum*. Pour chaque huile essentielle utilisée, différentes concentrations ont été testées afin de comparer leurs effets à ceux du Ridomil Gold plus. L'effet du mélange de ces deux huiles essentielles sur la croissance d'*U. maydis* a également été évalué. La mesure des diamètres de croissance des pathogènes dans les boîtes de Pétri ainsi que les pourcentages d'inhibition des divers extraits d'huile ont permis de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque huile essentielle. Les rendements d'extraction par hydrodistillation ont montré que l'HECS avait un rendement plus élevé que celui de l'HECC. Les résultats indiquent que l'HECS aux concentrations de 1 et 1,25 $\mu\text{L/mL}$ (microatmosphère), 1 et 2 $\mu\text{L/mL}$ (contact direct), ainsi que l'HECC aux concentrations de 0,125, 0,25, 0,5, 1, 1,25 et 2 $\mu\text{L/mL}$ utilisées dans les deux méthodes sont très efficaces dans l'inhibition de la croissance mycélienne de *G. resinaceum*. Tandis que, l'HECC aux concentrations allant de 0,25 à 1,25 $\mu\text{L/mL}$ (microatmosphère), de 0,125 à 2 $\mu\text{L/mL}$ (contact direct) et le mélange des deux HE aux concentrations de 1 et 1,25 $\mu\text{L/mL}$ (microatmosphère), 1 et 2 $\mu\text{L/mL}$ (contact direct) sont très efficaces dans l'inhibition de la croissance mycélienne de *U. maydis*. Les pourcentages d'inhibition pour *G. resinaceum* étaient de 27,56% à 100% pour l'HECS et de 100% pour l'HECC, et respectivement de 10,60% à 100% et de 100%. Des CMI obtenus, l'HECC a montré les valeurs les plus faibles (0.125 $\mu\text{L/mL}$) par rapport à l'HECS dont la CMI était 1 $\mu\text{L/mL}$. Pour *U. maydis*, l'HECC a montré les valeurs de CMI les plus faibles (0,25 $\mu\text{L/mL}$) par rapport au mélange des HEs dont la CMI était de 1 $\mu\text{L/mL}$, avec des pourcentages d'inhibition allant de 1,52% à 45,21% pour l'HECS, de 93% à 100% pour l'HECC et de 41,61% à 100% pour le mélange des huiles. Dans le contact direct, les pourcentages d'inhibition étaient de 0% à 100%, 100% et de 10,65% à 100% respectivement pour ces huiles. Pour ce pathogène, aucune CMI n'a été obtenue pour l'HECS. Les tests de corrélation entre les concentrations et les pourcentages d'inhibition des HEs sur les pathogènes ont montré des corrélations linéaires croissantes et positives entre ces paramètres. En conclusion, cette étude démontre que l'HECS, l'HECC et la combinaison de ces deux huiles essentielles sont efficaces contre *U. maydis* et *G. resinaceum*. Pour une meilleure efficacité, l'utilisation de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* seule est recommandée en raison de sa très grande efficacité sur les pathogènes testés et de sa domestication permettant une disponibilité suffisante de feuilles et donc une production accrue d'huile.

IV.2. Perspectives

Cette étude a montré des résultats préliminaires très promoteurs qui nécessitent des études approfondies. Pour cette raison, nous suggérons :

- d'explorer d'autres techniques d'extraction pour optimiser les rendements d'extraction ainsi que la qualité des huiles essentielles ;
- d'analyser ces huiles essentielles afin d'identifier les composés responsables de leur activité antifongique ;
- d'extraire les composés présents dans ces huiles et évaluer leur activité biologique individuellement ;
- de tester l'effet de ces huiles essentielle sur d'autres pathogènes ;
- de poursuivre l'étude *in vivo* pour évaluer l'efficacité de ces huiles essentielles contre les pathogènes dans leur environnement naturel.

BIBLIOGRAPHIES

- Abendroth, L., Elmore, W. R., Boyer, J. M., & Marlay, k S. (2011). *Corn Growth and Development*. PMR 1009. 20p.
- Adaskaveg, J. E., & Gilbertson, R. L. (1994). Wood decay caused by *Ganoderma* species in the *G. lucidum* complex. In : *Proceedings of contributed symposium 59A, B, 5th International Mycological Congress* (P. K. Buchanan, R. S. Hseu, & J. M. Moncalvo (eds.)). *Phytopathology and pharmacology*. 14-21p.
- Agrios, G. N. (1978). Plant pathology. *Academic press, Inc*, Orlando. 398-401p.
- Amanda, S. R., & Michelli, A. B. da S. (2018). Évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle des agrumes. *Mul. Sci. J*, 3 : 106–118p.
- Anonyme 1. (2022). Technologie de production du maïs : IFATI (Institut de Formation en Agriculture et Technologies Innovantes) ARRETE MINISTERIEL N° 086 / MINEFOP / SG / DFOP / SDGSF / SACD. 3–13p.
- Anonyme 2. (2014). Guide de gestion des nuisibles du maïs à l'usage des coopérateurs, p36.
- Anonyme 3. (1993). Le maïs dans la nutrition humaine, collection FAO : Alimentation et nutrition, Rome, Italie. 174p.
- Anonyme 4. (2016). Le charbon commun du maïs (*Ustilago maydis*). *Pionier Agronomie*, 16(5) : 1–4p.
- Anonyme 5. (2000). *Ustilago maydis*. 1-3p.
- Anonyme6. (2022). Le charbon commun et le charbon des inflorescences dans le maïs. RAP. 1–4p.
- Anonyme 7. (2009). Maladies des grandes cultures : Maladies du maïs. Ministère de l'Agriculture de l'Alimentation et des Affaires rurales de l'Ontario (MAAARO). 228–233p.
- Anonyme 8. (2023). Jean-Marc-guil "Nomenclature des maladies cryptogamiques-*Ustilago maydis*". <https://www.jean-marc-gil-toutsurlabotanique.fr/.../page-4.html> (Consulté le 06/07/25).
- Anonyme 9. (2024). Adaptation of *Ustilago maydis* to phenolic and alkaloid responsive metabolites in maize B73. <https://www.frontiersin.org> (Consulté le 06/07/25).
- Ariffin, D., Idris, A. S., & Singh, G. (2000). Status of *Ganoderma* in oil palm. In : *Ganoderma Diseases of Perennial Crops* (J. Flood, P. D. Bridge, & M. Holderness (eds.)). CABI Publishing, Wallingford, UK. 49-68p.
- Bakarnga-Via, I., Lambey, E., Gédéon, W. O., Abdoullahi, H. O., Mbaigolmem, B. V., Abdelsalam, T., & Menuet, C. (2022). Activité Antifongique de l'Huile Essentielle de

- Cymbopogon Citratus* (DC) Stapf (Poaceae) : Cas des Moisissures Isolées des Poissons Fumés et Séchés des Marchés de N'Djaména. *Health Sci. Dis : The Journal of Medecine Anda Biomedical Sciences*, 23(12) : 47–54p.
- Baubricourt, A., & Hedin, L. (1988). Le maïs et les industries, éd A.M. Métailié, p97.
- Beadle, G. W. (1980). The Ancestry of Corn. *Scientific American, a Division of Nature America, Inc.*, 242(1) : 112–119p.
- Bhosle, S., Ranadive, K., Bapat, G., Garad, S., Deshpande, G., & Valdya, J. (2010). Taxonomy and diversity of *Ganoderma* from the Western parts of Maharashtra (India). *Mycosphere*, 1(3) : 249–262p.
- Bodoharisoa, O., Rabarison, T. F., & Randrian, A. L. B. (2009). Amélioration variétale du maïs. 1-31p.
- Bouderbala, A., Sandli, R., & Grana, N. (2020). Etude du potentiel de rendement en huiles essentielles de deux espèces végétales du Nord-Est Algérien (*Eucalyptus camaldulensis* et *Citrus sinensis*). 1–46p.
- Boughendjioua, H. (2019). Activité antifongique de l ' huile essentielle extraite à partir des feuilles de *Citrus reticulata*. *Nature & Technology*, 20 : 54–57p.
- Bouhali, H. (2014). Caractérisation des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et étude de leur activité antioxydante : étude comparative entre l'huile essentielle des écorces sèches et fraîches. *Mémoire de Master En Ingénierie Biochimique et Biotechnologies Université de Béjaia Algérie*, 51p.
- Brefort, T., Doehlemann, G., Mendoza-mendoza, A., Reissmann, S., Djamei, A., & Kahmann, R. (2009). *Ustilago maydis* as a Pathogen. *Annu. Rev. Phytopathol*, 47 : 423–445p.
- BRINK, M., & BAILEY, G. (2006). Céréale et légumes secs. Ressource Végétale de l'Afrique Tropicale 1. Foundation PROTA. Pays-Bas, 328p.
- Bruneton, J. (1987). Phytochimie et pharmacognosie. Ed. Lavoisier. France, 585p.
- Bruneton, J. (2001). Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux. Ed. TEC & DOC Lavoisier. 564p.
- CARVIL, O. N. (2016). Notes de cours FAMV, Haïti : Les maladies des céréales tropicales. *Phytopathologie II*. 72p.
- Christensen, J. J. (1963). Corn smut caused by *Ustilago maydis*. *Am. Phytopathol. Soc. Monogr*, 2 : 41p.
- Clesse, B. (2011). La biodiversité fongique. 58p.
- Corde. (1842). *Ustilago maydis* (DC.). In Species 2000 & ITIS, Catalogue of life. 5 : 3p.

- Degnon, G. R., Adjou, E. S., Metome, G., & Dahouenon-Ahoussi, E. (2016). Efficacité des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et de *Mentha piperita* dans la stabilisation du lait frais de vache au Sud du Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 10(4) : 1894–1902p.
- Doré, C., & Varoquaux, F. (2006). Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. INRA. 409-434p.
- Doumbouya, M., Abo, K., Lepengue, A. N., Camara, B., Kanko, K., Aidara, D., & Kone, D. (2012). Activités comparées in vitro de deux fongicides de synthèse et de deux huiles essentielles, sur des champignons telluriques des cultures maraîchères en Côte d ' Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 50 : 3520–3532p.
- El-Akhal, F., Guemmouh, R., Greche, H., & El Ouali Lalami, A. (2014). Valorization as a bio-insecticide of essential oils of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* cultivated in center of Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.*, 5 : 2319–2324p.
- Elbouchtaoui, M. C., Chebli, B., Errami, M., Salghi, R., Jodeh, S., Warad, I., Hamed, O., & Yamlahi, A. E. (2015). Efficacité du perydroxan contre deux champignons phytopathogènes *Botrytis cinerea* et *Penicillium digitatum* (Efficiency antifungal of perydroxan for *Botrytis cinerea* and *Penicillium digitatum*). *J. Mater. Environ. Sci*, 6(7) : 1938–1943p.
- Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2010). *Citrus* d'Algérie : les huiles essentielles et leurs procédés d'extraction. ED. OPU, n°5130. Alger. 157p.
- Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Smadja, J., & Chemat, F. (2006). An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*, 1112 : 121–126p.
- Fokoua, U. L. (2021). Détermination des CMI et des effets fongicides ou fongistatiques des extraits bruts d'*Afromomum* spp., *Cymbopogon citratus* et quelques polypores (Basidiomycètes) locaux sur *Urocystis cepulae*, agent causal du charbon de l'oignon. *Mémoire Master Université de YAoundé I*, 69p.
- Garcia-Muse, T., Steinberg, G., & Perez-Martin, J. (2003). Pheromone-induced G2 arrest in the phytopathogenic fungus *Ustilago maydis*. *Eukaryotic Cell*, 2 : 494–500p.
- Guignard, J. L. (2001). Botanique, Systématique moléculaire. Ed. Masson.
- Guissou, K. M. L. (2005). Les Macromycètes du Burkina Faso. *Thèse de Doctorat Université de Ouagadougou, Burkina Faso*, 188p.
- Guissou, K. M. L., Sanon, E., Sankara, P., & Guinko, S. (2014). La mycothérapie au Burkina Faso : État des lieux et perspectives. *Journal of Applied Biosciences*, 79 : 6896–6908p.

- Hamdani, F. Z., & Allem, R. (2017). Antifungal properties of leaf essential oils of *Citrus* against *Alternaria alternata* and *Penicillium* sp in vitro. *Phytothérapie*, 15 : 263–266.
- Hamrouni, L., Hanana, M., Amri, I., Romane, A., Gargouri, S., & Jamoussi, B. (2014). Allelopathic effects of essential oils of *Pinus halepensis* Miller : chemical composition and study of their antifungal and herbicidal activities. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48(2) : 1–14p.
- Heu, A. (2013). Effet des extraits de graines de *Thevetia peruviana* sur la germination des spores de *Phytophthora megakarya* et de *Colletotrichum gloeosporioides* in Vitro. *Mémoire de Master, Université de Yaoundé I, Yaoundé*. 52p.
- Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D., & Aitour, S. (2006). Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiceae. *Leb. Sci. J*, 7(2) : 13–22p.
- Hmiri, S., Rahouti, M., Habib, Z., Satrani, B., Ghanmi, M., & Ajjouri, M. El. (2011). Huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes. *Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liège*, 80 : 824–836p.
- Imtiaj, A., Jayasinghe, C., Lee, G. W., & Lee, T. S. (2007). Antibacterial and Antifungal Activities of *Stereum ostrea*, an Inedible Wild Mushroom. *Mycobiology*, 35(4) : 210–214.
- Jazet Dongmo, P. M., Kuate, J., Fekam Boyom, F., Ducelier, D., Damesse, F., Amvam Zollo, P. H., Menut, C., & Bessiere, J. M. (2002). Composition chimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de *Citrus* sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*. *Fruits*, 57(2) : 95–104p.
- Jazet Dongmo, P. M., Tatsadjieu, L. N., Tchinda Sonwa, E., Kuate, J., Amvam Zollo, P. H., & Menut, C. (2009). Essential oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal activity against *Phaeoramularia angolensis*. *African Journal of Agricultural Research*, 4(4) : 354–358p.
- Kahmann, R., & Kamper, J. (2004). *Ustilago maydis* : how it's biology relates to pathogenic development. *New Pathologist*, 164(1) : 31–42p.
- Kalembe, D., & Kunicka, A. (2003). Antibactérien et antifongique propriétés des huiles essentielles. *Curr. Med. Chem*, 10 : 813–829p.
- Kamper, J., Kahmann, R., Blokker, M., Ma, L. J., Brefort, T. (2006). Insights from the genome of biotrophic fungal plant pathogen *Ustilago maydis*. *Nature*, 44(7115) : 97 – 101p.
- Katooli, N., Maghsodlo, R., & Razavi, E. S. (2011). Evaluation of *Eucalptus* essential oil against some plant pathogenic fungi. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 3(2) : 41–43p.

- Kavira, M. S. (2013). Contribution à l'étude d'*Ustilago maydis* ; un champignon parasite de maïs à Kisangani et ses environs. *Gradué En Sciences, Université de Kisangani*, 20p.
- Kengni, M. A. B. (2015). Contribution à la Taxonomie et à la Phylogénie moléculaire (ITSADNr) des *Ganoderma* (Basidiomycota) d'Afrique centrale et détermination par corrélation des paramètres bioclimatiques de libération des spores des basidiomes de *Ganoderma resinaceum* Boud. *Thèse de Doctorat PhD, Département de Biologie et Physiologie Végétale, Université de Yaoundé 1*, 173p.
- Kengne, L. G., Nyegue, M. A., Del, E., Ndedi, F. M., & Etoa, F.-X. (2019). Antibacterial activity of selected plant essential oils on airborne bacteria and Antibacterial activity of selected plant essential oils on airborne bacteria and mode of action on membrane integrity. 7(1) : 28–35p.
- Kinge, T. R., Tabi, E. M., Mih, A. M., Enow, E. A., Njouonkou, L., & Nji, T. M. (2011). Ethnomycological studies of edible and medicinal mushrooms in the Mount Cameroon region (Cameroon, Africa). *Int J. Med. Mushrooms*, 13(3) : 299–305p.
- Kornerup, A., & Wanscher, J. H. (1978). *Metheum Handbook of colour*. 3^e édition, 144-148p.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85 : 633–640p.
- Kwazou, N., Dongmo, P., Ngoune, L., Sameza, M., Dongmo, B., Zollo, P., & Menut, C. (2009). Propriétés antifongiques des huiles essentielles de quelques plantes du genre *Aframomum* du Cameroun contre *Aspergillus flavus*. *Cameroon Journal of Experimental Biology*, 5(1) : 44–51p.
- Laghchimi, A., Znini, M., Majidi, L., Paolini, J., Desjobert, J. M., & Costa, J. (2014). Liquid and vapour-phase antifungal activities of essential oil of *Salvia aucheri* boiss. var. *Mesatlantica* maire. (Endemic from morocco) against fungi commonly causing deterioration of apple. *Der Pharma Chemica*, 6(1) : 370–378p.
- Landry, K. G., Nyegue, M. A., & Etoa, F.-X. (2021). Microatmospher and microdilution methods to evaluate antifungal activity of six essential oils on *aspergillus niger* and *penicillium* sp. isolated From the university of yaounde. 8(2) : 498–504p.
- Laomonier. (1979). Tom II.J-B Baillière « culture légumière et maraîchère », encyclopédie agricole. 276p.
- Mallet, B., Geiger, J. P., Nandris, D., & Tran, V. C. (1985). Les champignons agents de pourridiés en Afrique de l'Ouest. *European Journal of Forest Pathology*, 15(5–6) : 263– 268.
- Manvitha, K., & Bidya, B. (2014). Review on pharmacological activity of *Cymbopogon citratus*. *International Journal of Herbal Medicine*, 1(6) : 5–7p.

- Marchand, J., Berthaud, J., Clerget, B., Dintinger, J., Reynaud, B., & Dzido. (1997). Le maïs dans l'amélioration des plantes tropicales. CIRAD/ORSTOM. 401–428.
- Marie-Laure, C. (2019). Revue de presse Service Documentation EHESP : L'utilisation des pesticides et ses impacts sur l'environnement et sur la santé. 1–130p.
- Mboussi, S. B., Heu, A., Nsangou, A. N. K., Dooh, J. P. N., & Ambang, Z. (2023). In Vitro Evaluation of the Antifungal Activity of Essential Oils of *Thymus vulgaris* and *Cymbopogon citratus* on Some Strains of *Sclerotinia sclerotiorum*, Agent Responsible for White Rot of Beans. *Agricultural Sciences*, 14 : 1068–1086p.
- Mesfek, F. (2014). Etude écologique et taxonomie des champignons Forestiers et morphologie des ectomycorhizes du chene vert dans la Wilaya de Relizane. *Master, Université d'Oran ES-SENIA*, 121p.
- Mondello, L., Casilli, A., Tranchida, P. Q., Dugo, P., & Dugo, G. (2005). Comprehensive two-dimensional GC for the analysis of *Citrus essential oils*. *Flavour and Fragrance Journal*, 20 : 136–140p.
- Mossebo, D. C. (1999). Guide pratique pour la récolte et la description des Basidiomycètes supérieurs Agaricales, Bolétales et Polyporales, *Université de Yaoundé I*, 62p.
- Mossebo, D. C., Amougou, A., & Atangana, R. E. (2002). Contribution à l'étude du genre Termitomycètes (Basidiomycètes) au Cameroun : écologie et systématique. *Bulletin de La Société Mycologique de France*, 118(3) : 195–249p.
- Nankam, C. (1990). Cereal pathlogy. NCRE annual report of activities.
- Ndjouenkeu, R., Nzossie, F. J. E., Kouebou, C., Njomaha, C., Grembombo, A. I., & Oudanan, K. M. (2010). Le maïs et le niebe dans la sécurité alimentaire urbaine des savanes d'Afrique centrale. ISDA 2010, 17p.
- Ngo mbock, S. E. (2021). Détermination des CMI et des effets fongicides ou fongistatiques des extraits bruts de quelques Polypores (Basidiomycètes) locaux, *Aframomum* spp. et *Cymbopogon citratus* sur *Alternaria dauci* f. sp. *Lycopersici*, agent causal de l'Alternariose de la tomate. *Maitrise, Université de Yaoundé I*, 61p.
- Nkodo, E. (2020). Evaluation des effets bruts de *Cymbopogon citratus* et quelques champignons supérieurs sur *Ustilago maydis* (Basidiomycètes, Ustilaginales), agent causal du charbon de maïs. *Maitrise, Université de Yaoundé I*, 64p.
- Oussou, K. R. (2009). Etude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. *Thèse de Doctorat Unique, Laboratoire de Chimie Organique et Structurale, UFR SSMT, Université de Cocody Abidjan*, 241p.

- Pandey, D. K., Chandra, H., & Tripathi, N. N. (1982). Volatile Fungitoxicity Activity in Higher Plants Special Reference to That of *Callistemon lanceolatus* DC. *Phytopathology*, 105 : 175–182p.
- Paris, M., & Hurabielle, M. (1981). Abrégé de matière végétale pharmacognosie. Tome 1. Généralités monographiques. Ed. Masson. 1 : 339p.
- Piepenbring, M., Stoll, M., & Oberwinkler, F. (2002). The generic position of *Ustilago maydis*, *Ustilago scitaminea*, and *Ustilago esculenta* (Ustilaginales). *Mycological Progress*, 1(1) : 71–80p.
- Rhouma, A., Hajji-hedfi, L., Bousselma, A., & Matrood, A. A. A. (2023). Essential Oils : An Ecofriendly Approach for Plant Pest and Disease Management. *Int. J. Plant Soil Sci.*, 35(8) : 80–89p.
- Ristanovic, D. (2001). Maïs, 44-70p. In Raemackers, 1ère édition, Agriculture en Afrique tropicale. DGCI, Bruxelles, Belgique, 1634p.
- Ryvarden, L. (1991). Genera of Polypores. Nomenclature and Taxonomy. *Synopsis Fungorum*, 5 : 1–363p.
- Ryvarden, L. (2004). Neotropical polypores, Part 1. Introduction, Ganodermataceae et Hymenochaetaceae. *Synopsis Fungorum* 19, Fungiflora (edn.), Blindern, Oslo, Norway, 227p.
- Sabbagh, S. K. (2008). Adaptation à la pénétration racinaire de deux Ustilaginaceae parasites du maïs : *Ustilago maydis* et *Sporisorium reilianum* – Analyse microscopique et transcriptomique. Thèse, Université de Toulouse III, 1, 98p.
- Sanderson, F. R., Pilotti, C. A., & Bridge, Pont P. D. (2000). Basidiospores : their influence on our thinking regarding a control strategy for basal stem rot. In : Ganoderma Diseases of Perennial Crop (J. Flood, P. Bridge, & M. Holderness (eds.)). CABI Publishing, Wallingford, UK. 113-119p.
- Shiferaw, B., Prasanna, B. M., Hellin, J., & Bänziger, M. (2011). Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global Food Security. *Food Sec*, 3 : 307p.
- Shila, R., Karamatollah, R., Seyyed, H. R., & Sohrab, M. (2008). Use of Microwave-assisted Hydrodistillation to Extract the Essential Oils from *Satureja hortensis* and *Satureja montana*. *Food Sci. Technol. Res*, 14(3) : 311–314p.
- Singh, G., Padavay, R. K., Narayanam, C S Padmhurmeri, K. P., & Rao, G. P. (1993). Chemical and Fungitoxic Investigations on the Essential Oil of *Citrus Sinensis*. *Pers. Z. Dentshe Zeeits Halft Fur Pflanzenfranken Und Flanzenschutz*, 100 : 69–74p.

- Snetselaar, K. M., & Mims, C. W. (1992). Sporidial fusion and infection of maize seedlings by the smut fungus *Ustilago maydis*. *Mycologia*, 84 : 193–203p.
- Spellig, T., Bolker, M., Lottspeich, F., Frank, R. W., & Kahmann, R. (1994). Pheromones Trigger Filamentous Growth in *Ustilago Maydis*. *EMBO Journal*, 13 : 1620–1627p.
- Tchuenga, S. T. G., & Saha, F. (2017). Le maïs : une céréale à multiples usages au Cameroun sous la menace des contraintes climatiques et de ravageurs. 13(6) : 177–188p.
- Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005). Plantes aromatiques. Ed. Tec et Doc Lavoisier, Paris. 544p.
- Tiendrebeogo, A., Ouedraogo, I., Bonzi, S., & Kassankogno, I. A. (2017). *Eclipta alba* L., *Lippia multiflora* M. et *Agave sisalana* P. Antifungal activity of the *Cymbopogon citratus* (DC.) Stap, *Eclipta alba* L., *Lippia multiflora* M. and *Agave sisalana* P. *Int.J. Biol. Chem. Sci.*, 11(3) : 1202–1211p.
- Tremblay, G., Maisonhaute, J. E., Rioux, S., & Faucher, Y. (2016). Utilisation des fongicides foliaires en grandes cultures. *Stratégie Phytosanitaire*, 57p.
- Tripathi, P., & Dubey, N. (2004). Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 32 : 235–245p.
- Tsigaing, T. F. (2023). Contribution à l'étude taxonomique et enzymatique de quelques Agaricomycètes (Agaricales et Polypores lignivores) récoltés au Cameroun. *Thèse de Doctorat PhD, Département de Biologie et Physiologie Végétale, Université de Yaoundé* 1 : 413p.
- Uddin, N., Rahman, A., Ahmed, N. U., Rana, S., Akter, R., & Chowdhury, A. (2010). Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial properties of *Eclipta alba* ethanol extract. *International Journal of Biological & Medical Research*, 1(4) : 341–346p.
- Welti, S., Moreau, P. A., Azaroual, N., Lemoine, A., Duhal, N., Kouach, M., Miller, R., & Courtecuisse, R. (2010). Antiproliferative activities of methanolic extracts from a neotropical *Ganoderma* species (Aphyllophoromycetideae): Identification and characterization of a novel ganoderic acid. *International journal of Medicinal Mushrooms*, 12(1) : 17-31p.
- Yahyaoui, N. (2005). Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Mentha Spicata* L sur *Rhyzoperthys dominicus* (F.) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribolium confusum* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae). *Thèse de Magister En Sciences Agronomiques, Option Ecologie, INA, ElHarrach*. 456p.

ANNEXES

Annexe 1. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de *Ganoderma resinaceum* et *Ustilago maydis* dans les boîtes de Pétri suivant les concentrations des huiles essentielles

Annexe 1.1. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de *Ganoderma resinaceum* et *Ustilago maydis* dans les boîtes de Pétri avec traitement fongicide (Ridomil Gold +)

Concentration (en µl/ml)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation				
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation	14 jours après incubation
Témoin + de <i>G. resinaceum</i>	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
Témoin + de <i>U. maydis</i>	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0

Annexe 1.2. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de *Ganoderma resinaceum* dans les boîtes de Pétri sous l'influence de l'huile essentielle de *Citrus sinensis*

Concentration microatmosphérique de l'huile essentielle (en µl/ml)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation				
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation	14 jours après incubation
Témoin -	Répétition 1	1,3	3,07	3,57	5,25	8,12
	Répétition 2	1,1	2,55	2,7	4,8	8,4
	Répétition 3	0,8	2,6	3,2	4,4	8,4
	Moyenne	1,07	2,74	3,16	4,82	8,31
0.125	Répétition 1	0	0,7	1,2	3,1	6,05
	Répétition 2	0	1,72	1,2	3,1	5,9
	Répétition 3	0,8	1,75	2,2	3,5	6,1
	Moyenne	0,27	1,39	1,53	3,23	6,02
0.25	Répétition 1	0	0,55	1,15	2,35	5,63
	Répétition 2	0	1,42	1,2	3,62	5,61
	Répétition 3	0	1,1	1,75	2,8	5,62
	Moyenne	0	1,02	1,37	2,92	5,62
	Répétition 1	0	0	0	1,02	2,97

0,5	Répétition 2	0	0	0	0,97	2,75
	Répétition 3	0	0,62	0,85	1,2	2,05
	Moyenne	0	0,21	0,28	1,06	2,59
1	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
1,25	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0

Concentration contact direct de l'huile essentielle (en µl/ml)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation				
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation	14 jours après incubation
Témoin -	Répétition 1	0,8	2,52	2,85	5,57	5,57
	Répétition 2	0	1,15	1,35	3,25	4,85
	Répétition 3	0	1,2	1,4	3,6	5,15
	Moyenne	0,27	1,62	1,87	4,14	5,19
0,125	Répétition 1	0,97	1,42	1,7	2,6	3,72
	Répétition 2	1,4	2,72	3,92	4,57	5,07
	Répétition 3	1,45	2,32	3,1	3,6	5,12
	Moyenne	1,27	2,15	2,91	3,59	4,64
0,25	Répétition 1	1,07	1,8	2,72	3,07	3,42
	Répétition 2	0,97	1,82	2,77	2,25	6,25
	Répétition 3	1,12	1,9	2,5	2,82	3,52
	Moyenne	1,05	1,84	2,66	2,71	4,40
0,5	Répétition 1	0	0	1,07	2,22	3,25
	Répétition 2	0	0	0	0,5	1,42
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	1,07	1,36	2,34
1	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
2	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0

Annexe 1.3. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de *Ganoderma resinaceum* dans les boîtes de Pétri sous l'influence de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*

Concentration microatmosphère de l'huile essentielle (en µl/disque)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation				
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation	14 jours après incubation
Témoin -	Répétition 1	0,85	1,78	3,5	7,72	9
	Répétition 2	1,45	3,76	5,55	8,5	9
	Répétition 3	1,07	2,62	4,45	8,3	9
	Moyenne	1,12	2,72	4,5	8,17	9
0,03125	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
0,0625	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
0,125	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
0,25	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
0,5	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
1	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
1,25	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0

Concentration contact direct de l'huile essentielle (en µl/ml)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation				
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation	14 jours après incubation
Temoin -	Répétition 1	1,75	2,78	3,5	5	7,1
	Répétition 2	1,35	1,97	2,4	3,12	4,12
	Répétition 3	1,35	2,2	3,15	3,3	6,02
	Moyenne	1,48	2,32	3,02	3,81	5,75
0,125	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
0,25	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
0,5	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
1	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0
2	Répétition 1	0	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0	0

Annexe 1.4. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de *Ustilago maydis* dans les boîtes de Pétri sous l'influence de l'huile essentielle de *Citrus sinensis*

Concentration microatmosphérique de l'huile essentielle (en µl/ml)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation			
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation
Temoin -	Répétition 1	2,5	4	4,6	7,2
	Répétition 2	2,7	2,4	3	5,3
	Répétition 3	2,8	4,6	5	7,2
	Moyenne	2,67	3,67	4,20	6,57
0,125	Répétition 1	2,1	4,6	5	6,8
	Répétition 2	2	3,6	3,8	5,6
	Répétition 3	2,1	4,8	5,2	7
	Moyenne	2,07	4,33	4,67	6,47
0,25	Répétition 1	1,5	3,1	3,5	5,3
	Répétition 2	1,9	3,8	4,3	6
	Répétition 3	2	3,6	4,2	6,4
	Moyenne	1,8	3,50	4,00	5,90
0,5	Répétition 1	1,3	2,8	3,3	4,8
	Répétition 2	1,05	2,75	3,2	4,87
	Répétition 3	1	2,8	3,4	5,4
	Moyenne	1,12	2,78	3,30	5,02
1	Répétition 1	0	2,2	2,7	4,87
	Répétition 2	0	2,1	2,65	4,85
	Répétition 3	0	2,1	2,62	4,87
	Moyenne	0	2,13	2,66	4,86
1,25	Répétition 1	0	1,33	1,6	3
	Répétition 2	0	1,8	3,2	4
	Répétition 3	0	1,6	2,8	3,8
	Moyenne	0	1,58	2,53	3,60
2,5	Répétition 1	0	0	1,05	2,07
	Répétition 2	0	0	0,95	2,17
	Répétition 3	0	0	1,02	2,42
	Moyenne	0	0	1,01	2,22
5	Répétition 1	0	0	0,65	0,65
	Répétition 2	0	0	0,67	0,67
	Répétition 3	0	0	0,7	0,7
	Moyenne	0	0	0,67	0,67
7,5	Répétition 1	0	0	0,6	0,6
	Répétition 2	0	0	0,62	0,62
	Répétition 3	0	0	0,37	0,37
	Moyenne	0	0	0,53	0,53

Concentration contact direct de l'huile essentielle (en µl/ml)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation			
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation
Témoin -	Répétition 1	2,5	3,65	4,8	9
	Répétition 2	2,42	5,25	7,4	9
	Répétition 3	2,62	5,47	5,77	9
	Moyenne	2,51	4,79	5,99	9
0,125	Répétition 1	3,02	5,72	7,7	9
	Répétition 2	2,02	4,92	7,25	9
	Répétition 3	2,2	5	7,37	9
	Moyenne	2,41	5,21	7,44	9
0,25	Répétition 1	1,2	4,07	6,8	9
	Répétition 2	1,3	3,95	6,65	9
	Répétition 3	1,25	3,9	6,62	9
	Moyenne	1,25	3,97	6,69	9
0,5	Répétition 1	0	1,62	4,22	7,8
	Répétition 2	0	1,1	3,8	7,1
	Répétition 3	0	0,9	3,77	7,25
	Moyenne	0	1,21	3,93	7,38
1	Répétition 1	0	0,67	2,32	5,65
	Répétition 2	0	0,62	1,87	4,95
	Répétition 3	0	0,82	1,8	4,32
	Moyenne	0	0,70	2,00	4,97
2	Répétition 1	0	0	0	0,65
	Répétition 2	0	0	0	0,6
	Répétition 3	0	0	0	0,5
	Moyenne	0	0	0	0,58

Annexe 1.5. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de *Ustilago maydis* dans les boîtes de Pétri sous l'influence de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*

Concentration microatmosphère de l'huile essentielle (en µl/disque)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation			
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation
Témoin -	Répétition 1	3,9	6,78	9	9
	Répétition 2	4	6,82	9	9
	Répétition 3	4,1	6,58	9	9
	Moyenne	4	6,73	9	9
0,125	Répétition 1	0	0	0,41	0,87
	Répétition 2	0	0	0	0,5
	Répétition 3	0	0	0	0,52
	Moyenne	0	0	0,41	0,63
0,25	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0
0,5	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0
1	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0
1,25	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0

Concentration contact direct de l'huile essentielle (en µl/ml)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation			
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation
Temoin -	Répétition 1	4,52	7	9	9
	Répétition 2	4,27	7,2	9	9
	Répétition 3	4,42	6,82	9	9
	Moyenne	4,40	7,01	9	9
0,125	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0
0,25	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0
0,5	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0
1	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0
2	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0

Annexe 1.6. Diamètres (en cm) de croissance du mycélium de *Ustilago maydis* dans les boîtes de Pétri sous l'influence du mélange de l'HECS et HECC

Concentration microatmosphère de l'huile essentielle (en µl/disque)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation			
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation
Témoin -	Répétition 1	2,17	3,95	4,47	6,25
	Répétition 2	2,65	4,45	4,7	5,57
	Répétition 3	2,2	4,05	4,8	6,77
	Moyenne	2,34	4,15	4,66	6,20
0,125	Répétition 1	0,72	0,65	1,65	3,02
	Répétition 2	0,82	2,17	2,65	4,06
	Répétition 3	0,97	1,4	2,05	3,78
	Moyenne	0,84	1,41	2,12	3,62
0,25	Répétition 1	0,2	0,75	0,8	1,07
	Répétition 2	0,1	0,45	0,5	0,7
	Répétition 3	0,1	0,37	0,4	0,82
	Moyenne	0,13	0,52	0,57	0,86
0,5	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0
1	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0
1,25	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0

Concentration contact direct de l'huile essentielle (en µl/ml)	Répétitions (boîtes de Pétri inoculées) ↓	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation			
		3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après incubation
Témoin -	Répétition 1	2,22	3,02	3,82	7,02
	Répétition 2	1,92	3,22	3,85	7,15
	Répétition 3	1,82	3,23	4,05	7,35
	Moyenne	1,99	3,16	3,91	7,17
0,125	Répétition 1	2,32	3,9	4,77	6,2
	Répétition 2	2,47	4,9	5,75	6,37
	Répétition 3	1,92	3,5	4,37	6,65
	Moyenne	2,24	4,10	4,96	6,41
0,25	Répétition 1	1,35	3,45	4,23	5,97
	Répétition 2	1,6	2,97	3,87	5,45
	Répétition 3	1,07	2,52	3,3	5,1
	Moyenne	1,34	2,98	3,8	5,51
0,5	Répétition 1	0,6	0,85	1,4	2,77
	Répétition 2	0,6	0,8	0,9	2,77
	Répétition 3	0,3	0,5	0,6	0,75
	Moyenne	0,5	0,72	0,97	2,10
1	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0
2	Répétition 1	0	0	0	0
	Répétition 2	0	0	0	0
	Répétition 3	0	0	0	0
	Moyenne	0	0	0	0

Annexe 2. Données sur le pourcentage d'inhibition des huiles essentielles

- Huile essentielle de *Citrus sinensis* et *Cymbopogon citratus* sur *Ganoderma resinaceum*

Concentration microatmosphérique de l'huile essentielle en (µl/m)	0,031	0,062	0,125	0,25	0,5	1	1,25
Nombre de répétition	3	3	3	3	3	3	3
Moyenne I (%) de HECS			27,56	32,37	68,83	100	100
Moyenne I (%) de HECC	100	100	100	100	100	100	100

Concentration contact direct de l'huile essentielle en (µl/m)	0,125	0,25	0,5	1	1,25
Nombre de répétition	3	3	3	3	3
Moyenne I (%) de HECS	10,60	15,22	54,91	100	100
Moyenne I (%) de HECC	100	100	100	100	100

- Huile essentielle de *Citrus sinensis*, *Cymbopogon citratus* et le mélange des deux huiles sur *Ustilago maydis*

Concentration microatmosphérique de l'huile essentielle en (µl/m)	0,125	0,25	0,5	1	1,25
Nombre de répétition	3	3	3	3	3
Moyenne I (%) de HECS	1,52	10,20	23,52	26,03	45,21
Moyenne I (%) de HECC	93	95,44	100	100	100
Mélange des huiles	41,61	86,13	100	100	100

Concentration contact direct de l'huile essentielle en (µl/m)	0,125	0,25	0,5	1	2
Nombre de répétition	3	3	3	3	3
Moyenne I (%) de HECS	0	0	18	44,77	93,56
Moyenne I (%) de HECC	100	100	100	100	100
Mélange des huiles	10,60	23,15	70,71	100	100

Annexe 3. Fiche de relevé de la croissance mycélienne dans les boîtes de Pétri suivant les concentrations des huiles essentielles

Nom de l'huile essentielle :

Concentration de l'huile essentielle :

Date d'incubation des boîtes de Pétri avec les implants : .../...../20.....

	Croissance mycélienne (en cm) / jours d'incubation					
Répétitions (Boîtes de Pétri inoculées) ↓	3 jours après incubation	5 jours après incubation	7 jours après incubation	10 jours après Incubation	14 jours après incubation	Croissance total (Ø= X cm) du mycélium dans la boîte de Pétri
Répétition 1						
Répétition 2						

Répétition 3						
Moyenne de croissance dans les répétitions utilisés	→.....→.....→					

Annexe 4. Dispositif pour hydrodistillation



A : Dispositif de type Clevenger,
B : Alambic et **C** : Plaque



D : Balance



E : Flacon

Annexe 5. Quelques appareils, verreries et autres objets utilisés



A. Balance



B. Autoclave



C. Étuve



D. Hotte à flux laminaire



E : Tubes à essai



F : Erlenmeyer



G : Embouts



H : Papier filtre