

**ÉTUDE ETHNOBOTANIQUE ET ÉVALUATION
IN VITRO DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES
EXTRAITS DE FEUILLES DE *Mallotus*
oppositifolius SUR DEUX SOUCHES
PHYTOPATHOGENES DE *Sclerotium rolfsii***

Orsot Bosson Arobia Marie Bernadine

Laboratoire de Botanique, UFR Biosciences,
Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

Soro Sibirina

Laboratoire de Physiologie végétale,
Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, Daloa, Côte d'Ivoire

Ouattara Djakalia

N'guessan Edouard Kouakou

Zirih Guédé Noël

Laboratoire de Botanique, UFR Biosciences,
Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

Abstract

The study was conducted to know the medicinal plants used to treat fungal skin diseases in the department of Agboville in Côte d'Ivoire. An ethnobotanical study conducted in this department permitted to identify 26 species of medicinal plants used in the treatment of skin diseases. *Mallotus oppositifolius* (Euphorbiaceae), species most used, was employed for testing *in vitro*, by using double dilution method on PDA medium, the sensitivity of two fungal strains *Sclerotium rolfsii*. MIC and MFC of the growth of spawn were obtained at 100 mg/ml and 200 mg/ml for the aqueous extract and 12,5 mg/ml and 25 mg/ml for ethanol extract. The MIC of the sclerotia's germination was 6,25 mg/ml and the MFC was 12,5 mg/ml for the two strains. This inventory is a way of safeguard of the population's knowledge which is disappearing. This study can be considered as a basic work for *in vivo* biological struggle against *Sclerotium rolfsii*.

Keywords: Department of Agboville, traditional medicine, aqueous extract, ethanolic extract, *Mallotus oppositifolius* , antifungal, *Sclerotium rolfsii* .

Resume

L'étude a été menée pour connaître les plantes médicinales servant à traiter les maladies de la peau dans le Département d'Agboville, en Côte d'Ivoire. Une étude ethnobotanique réalisée dans ledit Département a permis de recenser 26 espèces de plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies cutanées. *Mallotus oppositifolius* (Euphorbiaceae), espèce la plus employée, a été utilisée pour tester *in vitro*, la sensibilité de deux souches fongiques de *Sclerotium rolfsii*, selon la méthode de la double dilution sur milieu PDA. Les CMI et CMF de la croissance mycélienne ont été obtenues à 100 mg/ml et 200 mg/ml pour l'extrait aqueux et 12,5 mg/ml et 25 mg/ml pour l'extrait éthanolique. La CMI de la germination des sclérotés a été de 6,25 mg/ml et la CMF, de 12,5 mg/ml pour les deux souches. Cet inventaire est un moyen de sauvegarde du savoir-faire de la population locale qui tend à disparaître. Cette étude pourrait constituer un travail de base pour la lutte biologique *in vivo* contre *Sclerotium rolfsii*.

Mots clé : Département d'Agboville, médecine traditionnelle, extrait aqueux, extrait éthanolique, *Mallotus oppositifolius*, antifongique, *Sclerotium rolfsii*.

INTRODUCTION

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est une pratique ancestrale, partout dans le monde. Cela est illustré par cette citation d'Hippocrate qui date du IV^e siècle avant J.C : « la nature est la médecine des malades ». Ainsi, presque tous les produits utilisés par les hommes pour soulager leurs maux ont trouvé leur origine dans le végétal (Aquaron, 2005). Malgré l'évolution de la médecine moderne, la médecine traditionnelle constitue soit le mode principal de prestation de soins de santé, soit un complément à ce dernier. Elle constitue un pan important et souvent sous-estimé des soins de santé. Elle existe dans quasiment tous les pays du monde, et la demande de services dans ce domaine est en progression (Anonyme, 2013).

Par ailleurs, les infections liées aux déficits immunologiques tels que le VIH ont développé des infections opportunistes, un ensemble de pathologies dont les symptômes les plus visibles se manifestent au niveau de la peau, des muqueuses et des phanères.

Une enquête ethnomédicinale réalisée dans le département d'Agboville a permis de recenser les plantes médicinales utilisées par le peuple Abbey pour soigner les maladies cutanées. *Mallotus oppositifolius* (Euphorbiaceae) a été l'espèce la plus recommandée.

Mallotus oppositifolius (Geisel.) Müll. Arg. est un arbuste pouvant atteindre 4 à 6 m de haut. Les feuilles inégales, opposées, lancéolées portent quelques poils étoilés. Le limbe, ovale, triangulaire, largement arrondi à la

base mesurant 8 à 15 cm de long et 6 à 10 cm de large, avec un sommet en pointe acuminée porte à sa base trois nervures. Le bord du limbe est denté et sa face inférieure est criblée de petites lenticelles dorées, très fines. Le pétiole est long de 1 à 5 cm. L'inflorescence, axillaire, spiciforme, portant de petites fleurs blanchâtres, est un racème long de 5 à 10 cm. Les fruits sont des capsules trilobées, large de 7 à 8 mm, formées de 3 loges accolées. *Mallotus oppositifolius* est répandue en Afrique intertropicale dans les formations anthropiques. En Côte d'Ivoire, elle est présente dans toutes les forêts denses et semi-décidues.

Cette espèce intervient en médecine traditionnelle ivoirienne dans les soins de plusieurs pathologies : la diarrhée, la toux, les infections urinaires, la tuberculose, les plaies, l'ulcère de Burili et le cancer du sein (Soladoya *et al.*, 2013 : Kouadio, 2013). Une étude réalisée sur des souches bactériennes multirésistantes a révélé le pouvoir bactéricide des extraits aqueux et hydro-alcooliques des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Kouadio *et al.*, 2015).

Sclerotium rolfsii Saccardo (Corticaceae) est un mycopathogène tellurique de la plupart des cultures maraîchères ou horticoles. Il constitue l'un des agents telluriques qui cause le plus de dégâts et dommages aux Solanaceae (Soro *et al.*, 2008). La lutte chimique reste la méthode de lutte la plus efficace contre ce champignon malgré ses nombreux effets néfastes pour l'environnement, la conservation de la biodiversité et surtout la santé du consommateur. La lutte biologique par l'utilisation des substances naturelles d'origine végétale tels que les huiles essentielles, les extraits de poudre en remplacement des fongicides de synthèse est de plus en plus recommandée.

L'objectif de cette étude est de faire une étude ethnobotanique et d'évaluer l'activité antifongique des extraits aqueux et hydro-éthanoliques des feuilles de *Mallotus oppositifolius* sur deux stades de vie de deux isolats de *Sclerotium rolfsii*.

1- MATERIEL ET METHODE

1-1- Matériel végétal et fongique

Le Matériel végétal concerné par l'enquête ethnobotanique est constitué par l'ensemble des espèces végétales inventoriées dans le département d'Agboville. Par ailleurs, les feuilles (Figure 1) de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll. Arg ont été utilisées dans le cadre des études antifongiques.

Deux souches phytopathogènes de *Sclerotium rolfsii* ont été utilisées au cours de cette étude. Ces champignons proviennent de la mycothèque du Laboratoire de Physiologie et Pathologie Végétale de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody. La souche *Sclerotium rolfsii* St, avec pour référence St2012Son07 a été isolée de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

et celle de *Sclerotium rolfsii* Sv, dont la référence est Sv20v4UA05 l'a été du voandzou (*Vigna subterranea* L. Verdc.).

1-2- Méthodes

1-2-1- Enquête ethnobotanique

L'enquête ethnobotanique a été réalisée dans le Département d'Agboville, situé à 80 km d'Abidjan. Ce département a une superficie de 3850 km² et est compris entre 5°40' et 6°18' de latitude Nord et entre 4°13' et 4°80' de longitude Ouest. Sur la base d'une fiche d'enquête, 20 tradithérapeutes, dont 13 femmes et 7 hommes ont été interrogés. L'entretien semi direct a concerné : les noms en langue locale des espèces, les parties de la plante utilisées, les modes de préparation et d'administration des remèdes.



Figure 1 : Rameau feuillé, fructifère de *Mallotus oppositifolius*
Source photo Orsot (Décembre 2014)

1-2-2- Préparation des extraits aqueux et éthanoliques

Les feuilles de *Mallotus oppositifolius* récoltées ont été séchées à l'ombre, à la température ambiante, pendant deux semaines. Elles ont été ensuite pulvérisées grâce à un broyeur électrique de type IKA Labortechnik (type MFC). La fine poudre obtenue a subi une extraction selon la méthode de Zirihi *et al.*, (2003), ainsi décrite : 100 g de poudre ont été macérés dans un litre d'eau distillée dans un mixeur (Blender). L'homogénat obtenu a été filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du

papier filtre Whatman 3 mm. Le volume du filtrat obtenu a été réduit à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Büchi à la température de 60°C. La pâte a été recueillie et lyophilisée. L'extrait ainsi obtenu est l'extrait total aqueux noté Eaq, de couleur marron foncé.

L'extrait éthanolique a été réalisé par fractionnement de l'extrait aqueux (Zirihi *et al.*, 2003), 10 g d'Eaq ont été dissous dans 200 ml d'une solution hydro alcoolique (70 % éthanol et 30 % eau distillée). On obtient une phase supérieure liquide alcoolique et un résidu qui se dépose dans le fond de l'ampoule à décanter. La phase liquide ainsi obtenue est l'extrait éthanolique (Eéth). Ce cycle d'extraction aqueuse et éthanolique a été répété trois fois. Les extraits obtenus ont été pesés pour l'évaluation de leur rendement. Les extraits ont été mis dans des récipients préalablement stérilisés. Hermétiquement fermés, ils ont été conservés au réfrigérateur à 6 °C.

1-2-3- Mesure du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Le milieu PDA (Potato, Dextrose, Agar) a été utilisé pour la culture des champignons. Les milieux ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. L'incorporation des différents extraits végétaux au milieu de culture a été faite selon la méthode de la double dilution de liaison géométrique de raison ½ (Zirihi *et al.*, 2003 ; Ahon *et al.*, 2011). Sept concentrations ont été retenues pour l'Eaq (100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml, 6,25 mg/ml, 3,12 mg/ml et 1,56 mg/ml). Six concentrations ont été retenues pour l'Eéth, Elles ont varié de 50 à 1,56 mg/ml. Le témoin n'a subi aucun amendement avec les extraits. Les différents milieux ont été coulés à 40 °C dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. Trois boîtes de Pétri ont été utilisées par répétition élémentaire et l'essai a été répété 3 fois.

Un explant de 6 mm de diamètre, de chaque champignon âgé de 7 jours, a été placé au centre géométrique de la boîte de Pétri sur le milieu solidifié. Les boîtes de Pétri ont été scellées avec du film adhésif et mises en incubation à l'étuve, pendant 24 heures, à 25 ± 2 °C.

Le taux d'inhibition de la croissance radiale mycélienne a été mesuré quotidiennement pendant 7 jours comparativement au témoin. Le taux d'inhibition de la croissance radiale mycélienne a été calculé selon la formule de Leroux et Credet (1978).

$$T (\%) = (D - d) / D \times 100$$

T : taux d'inhibition.

D : croissance mycélienne dans les boîtes de Pétri témoins.

d : croissance mycélienne dans les boîtes essais.

La détermination du taux d'inhibition de la croissance mycélienne de chaque souche fongique a permis de définir, pour chaque extrait, la

concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF). Cette dernière correspond à la plus petite concentration à partir de laquelle aucune croissance mycélienne n'est observée dans les nouvelles boîtes de Pétri où les explants ont été réensemencés.

1-2-4- Mesure du taux d'inhibition de la germination des sclérotés

L'Eéth a été retenu pour évaluer le taux d'inhibition des sclérotés des deux souches de *Sclerotium rolfsii*. Les milieux de culture ont été amendés comme décrit précédemment. Un sclérote a été ensemencé par souche fongique au centre géométrique de chaque boîte de Pétri. L'essai a été répété trois fois. La croissance du mycélium du sclérote a été mesurée quotidiennement pendant 7 jours et le taux d'inhibition a été évalué tel que décrit ci-dessus.

2- RESULTATS

2-1- Enquête ethnobotanique

L'investigation ethnobotanique a permis de recenser 26 espèces appartenant à 19 familles et 26 genres (Tableau 1). Les familles les plus représentées en espèces ont été: Les Euphorbiaceae (4 espèces, soit 15,38 %); les Mimosaceae (4 espèces, soit 15,38%) et les Fabaceae (2 espèces, soit 7,69 %). Les espèces les plus citées ont été : *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll. Arg. avec une fréquence de citation de 12,12 %, *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. And Zarucchi (9,09 %), *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle (6,06 %) et *Spondias mombin* Linn. (6,06 %). Les types morphologiques des espèces utilisées sont prioritairement les arbres (30,76 %). Viennent ensuite les arbustes, les lianes et les herbes avec un taux de 23,08 % chacun. Les microphanérophytes (53,85 %) sont les types biologiques les plus employés, suivi des nanophanérophites (26,92 %) et des chaméphytes (7,69 %). Les mésophanérophites, les mégaphanérophite et les géophytes sont représentés par une espèce chacun, soit 11, 64 % pour l'ensemble de ces 3 types biologiques. Les espèces de la région Guinéo-Congolaise sont au nombre de 17, soit 65,38 %. Celles de la région phytogéographique Guinéo-Congolaise et Soudano-Zambésienne représentent 19,23 % des espèces et 4 espèces soit 15,39 % ont été importées. Les organes les plus utilisés sont les feuilles (44,83 %), les écorces (20,69%), la tige (20,69 %), les fruits (10,34 %) et la plante entière (3,45 %). Le pétrissage, la torréfaction et la pulvérisation sont les modes les plus employés pour la préparation des remèdes (30,43 %). La décoction pour les bains (4,35 %), l'expression et la fermentation (2,18 %). L'administration des remèdes se fait par une application locale (72,41 %), par lapement (17,24 %) et par purge (10,35 %).

Tableau 1 : Plantes utilisées par les Abbey du Département d'Agboville dans le traitement des infections cutanées

Espèces	Familles	Nom local	FC	Choro logie	TM	TB	Parties	Préparation	Administra tion
<i>Acacia pennata</i> (Linn.) Willd	Mimosaceae	Alla roufié	3,03	GC - SZ	Liane	Lmp	Feuille	Pétrissage	Application locale
<i>Albizia adianthifolia</i> (Schumach.)W.F.	Mimosaceae	Kpagbahin	3,03	GC	Arbre	mp	Feuille	Pétrissage	Application locale
<i>Baphia nitida</i> Lodd.	Fabaceae	Okoué	3,03	GC	Arbuste	mp	Feuille	Pétrissage	Application locale
<i>Boerhavia diffusa</i> Linn.	Nyctaginaceae	N'djonhon dô	3,03	GC	Herbe	Gr np	Racine	Pétrissage Torréfaction Pulvérisation	Purge Application locale
<i>Caesalpinia benthamiana</i> (Baill.) Herend. And Zarucchi	Caesalpiaceae	Rocin-roufié	9,09	GC	Liane	lmp	Tige, Feuille	Torréfaction Pulvérisation	Lapement
<i>Capsicum annuum</i> L.	Solanaceae	Mignin	3,03	I	Herbe	np	Fruit	Torréfaction Pulvérisation	Lapement
<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	Rutaceae	Dédépilé	6,06	I	Arbuste	mp	Feuille	Torréfaction Pulvérisation	Application locale
<i>Combretum racemosum</i> P. Beauv.	Combretaceae	Apiadóh-roufié	3,03	GC	Liane	Lmp	Tige	Torréfaction Pulvérisation	Lapement
<i>Diodia scandens</i> Sw.	Rubiaceae	Ofomididi	3,03	GC - SZ	Herbe	Lnp	Feuille	Pétrissage	Application locale
<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.	Arecaceae	Rô	3,03	GC	Arbre	mP	Fruit	Fermentation	Application locale
<i>Erythrococca anomala</i> (Juss. Ex Poir.) Prain	Euphorbiaceae	Kpa dédépile	3,03	GC	Arbuste	np	Tige	Torréfaction Pulvérisation	Lapement
<i>Euphorbia hirta</i> Linn.	Euphorbiaceae	Echididi	3,03	GC - SZ	Herbe	Ch	Feuille	Pétrissage	Application locale
<i>Heterotis rotundifolia</i> (Sm.) Jac.-Fél.	Melastomataceae	Evidjo	3,03	GC	Herbe	Ch	Feuille	Pétrissage + jus de citron	Application locale
<i>Hibiscus surattensis</i> Linn.	Malvaceae	M'lohian	3,03	GC	Liane	Lnp	Feuille	Pétrissage + jus de citron	Application locale
<i>Jatropha curcas</i> Linn.	Euphorbiaceae	Dodo	3,03	I	Arbuste	np	Feuille	Expression	Application locale

Tableau 1 (suite) : Plantes utilisées par les Abbey du département d'Agboville dans le traitement des infections cutanées

Espèces	Familles	Nom local	FC	Choro logie	TM	TB	Parties	Préparation	Administration
<i>Mallotus oppositifolius</i> (Geisel.) Müll. Arg.	Euphorbiaceae	Araya kpa ti	12,1 2	GC - SZ	Arbus te	mp	Feuille, Ecorce	Pétrissage, décoction	Applicatio n locale
<i>Microdesmis puberula</i> Hook. F. ex Planch	Pandaceae	Kouhò kouhò	3,03	GC	Arbus te	mp	Feuille, Ecorce	Pétrissage, décoction	Applicatio n locale
<i>Millettia zechiana</i> Harms	Fabaceae	Okoué hahèlè	3,03	GC	Arbre	mp	Tige	Torréfaction, Pulvérisation	Lapement
<i>Monodora tenuifolia</i> Benth.	Annonaceae	Orovi-ti	3,03	GC	Arbre	mp	Ecorce	Torréfaction, Pulvérisation	Applicatio n locale
<i>Piper umbellatum</i> Linn.	Piperaceae	Ahon vè	3,03	GC	Herbe	np	Racine, Tige Feuille	Pétrissage, torréfaction, pulvérisation	Purge, ovule
<i>Piptadeniastrum africanum</i> (Hook.f.) Brenan	Mimosaceae	Ehé	3,03	GC	Arbre	MP	Ecorce	Torréfaction, Pulvérisation	Applicatio n locale
<i>Saccharum officinarum</i> Linn.	Poaceae	N'gala	3,03	I	Herbe	np	Tige	Torréfaction, Pulvérisation	Applicatio n locale
<i>Secamone afzelii</i> (Schultes) K. Schum.	Asclepiadacea e	Tchiriè atòh	3,03	GC	Liane	Lmp	Feuille	Pétrissage	Applicatio n locale
<i>Spondias mombin</i> Linn.	Anacardiaceae	M'gba	6,06	GC - SZ	Arbre	mp	Feuille Ecorce	Pétrissage, torréfaction, pulvérisation	Purge, Applicatio n locale
<i>Tetrapleura tetraptera</i> (Schum.et Thonn.) Taub.	Mimosaceae	Chêrê-chêrê	3,03	GC	Arbre	mp	Fruit	Torréfaction pulvérisation	Applicatio n locale
<i>Triplochiton scleroxylon</i> K. Schum.	Sterculiaceae	Hofa / Ofa	3,03	GC	Arbre	MP	Ecorce	Torréfaction Pulvérisation	Applicatio n locale

FC : Fréquence de citation ; TM : Type morphologique ; TB : Type biologique ; GC : Guinéo-Congolaise ; SZ : Soudano- Zambézienne

2-2- Rendement des extraits

L'extrait total aqueux a fourni un rendement de 21,49 % ($\pm 1,22$). La décantation de 10 g d'Eaq dans 200 ml d'une solution hydro alcoolique a donnée 6,412 g ($\pm 0,025$) d'extrait éthanolique, soit un rendement de 64,12 %.

2-3- Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

L'effet des extraits aqueux et éthanoliques de *Mallotus oppositifolius* sur la croissance mycélienne des souches Sv et St de *Sclerotium rolfsii*, comparativement au témoin est traduit par une diminution de la croissance mycélienne en fonction du temps et de la concentration des extraits (Figure 2). Dans les boîtes témoins, le mycélium a atteint la périphérie de la boîte de Pétri le 4^{ème} jour d'incubation (Figures 3 et 4). Avec les extraits aqueux, il a été constaté, à partir du quatrième jour, un faible pouvoir inhibiteur de *Mallotus oppositifolius* (< 50%) pour les concentrations inférieures ou égales à 50 mg/ml, sur les deux souches fongiques de *Sclerotium rolfsii* (Figures 3 et 4). A la concentration C7, aucune croissance mycélienne n'a été observée. Par ailleurs, avec l'extrait éthanolique, un taux d'inhibition de 93% a été obtenu pour St et de 100 % pour Sv à 6,25 mg/ml au 4^{ème} jour d'incubation. Au 7^{ème} jour d'incubation, les plus forts taux d'inhibition, variant de 68,35 à 100 % pour St et 92,40 à 100 % pour Sv, ont été obtenus pour les concentrations supérieures ou égales à 6,25 mg/ml (Figures 5, 6 et 7).

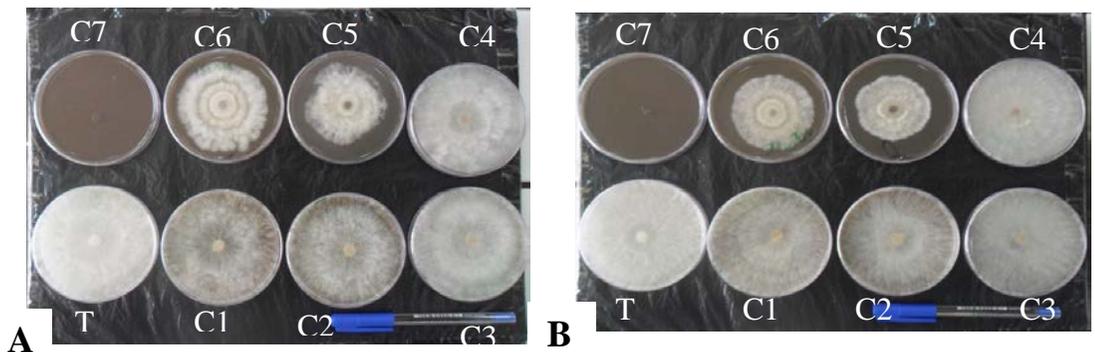


Figure 2 : Croissance *in vitro* du mycélium des souches Sv (A) et St (B) de *Sclerotium rolfsii* en présence d'extrait aqueux des feuilles de *Mallotus oppositifolius* après 7 jours d'incubation

T : Témoin 0 mg/ml ; C1 : 1,56 mg/ml ; C2 : 3,12 mg/ml ; C3 : 6,25 mg/ml ; C4 : 12,5mg/ml ; C5 : 25 mg/ml ; C6 : 50 mg/ml, C7 : 100mg/ml.

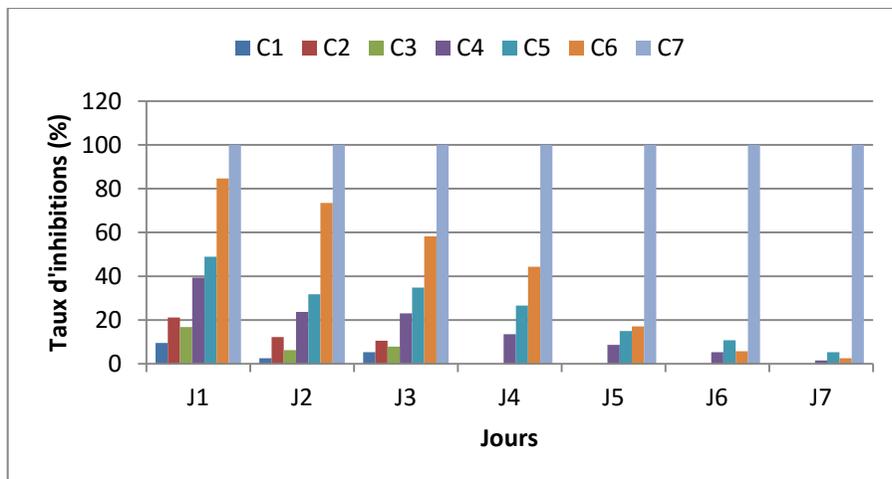


Figure 3 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Sclerotium rolfsii* Sv, en fonction de la concentration d'Eaq pendant 7 jours

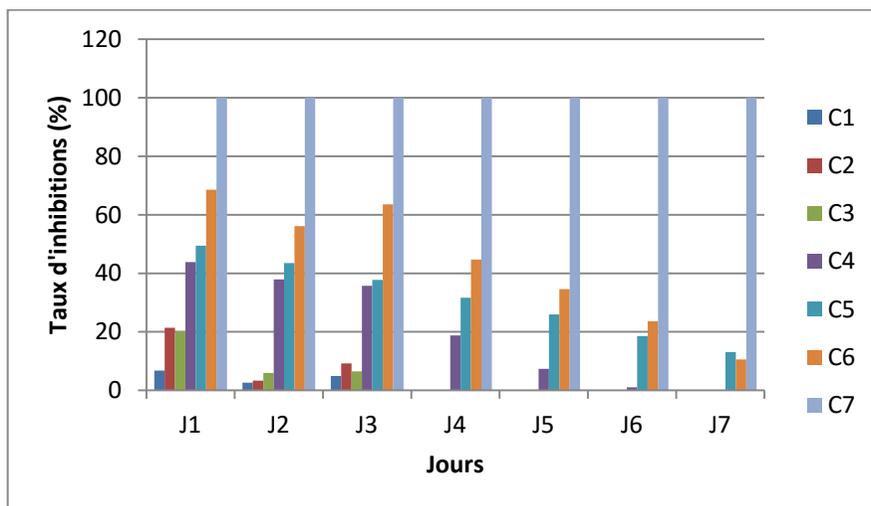


Figure 4 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Sclerotium rolfsii* St, en fonction de la concentration d'Eaq pendant 7 jours

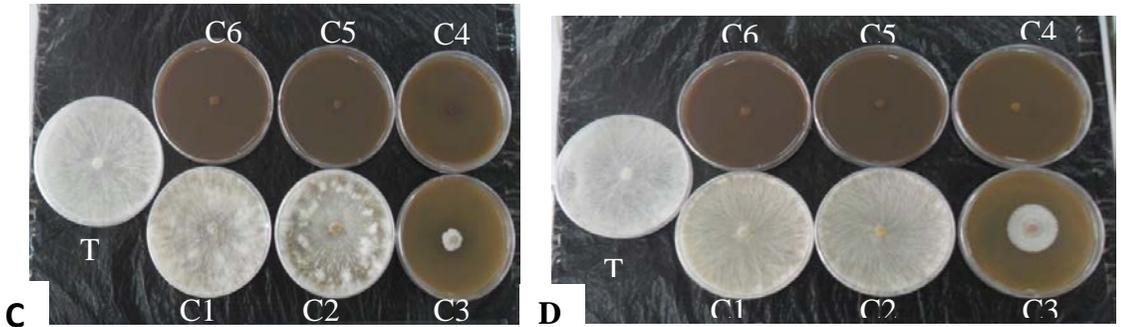


Figure 5 : Croissance *in vitro* du mycélium des souches Sv (C) et St (D) de *Sclerotium rolfii* en présence d'extrait éthanolique des feuilles de *Mallotus oppositifolius* après 7 jours d'incubation
 T : Témoin 0 mg/ml ; C1 : 1,56 mg/ml ; C2 : 3,12 mg/ml ; C3 : 6,25 mg/ml ; C4 : 12,5mg/ml ; C5 : 25 mg/ml ; C6 : 50 mg/ml.

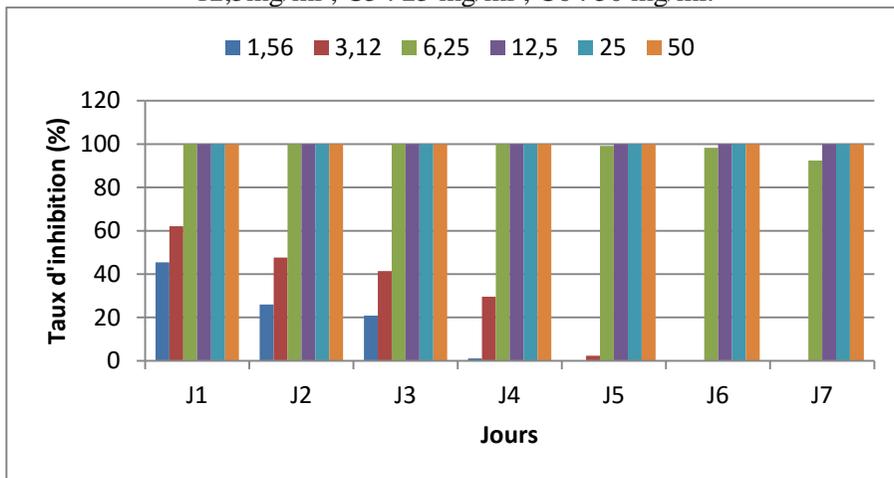


Figure 6 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Sclerotium rolfii* Sv, en fonction de la concentration d'Eéth 70% pendant 7 jours

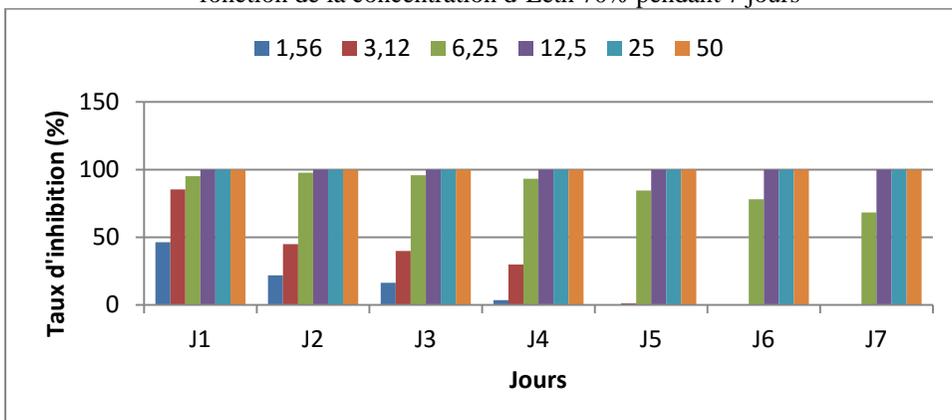


Figure 7 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Sclerotium rolfii*, St en fonction de la concentration d'Eéth 70% pendant 7jours

2-4- Concentrations minimales inhibitrices et fongicides

Les deux souches de *Sclerotium rolfsii* (Sv et St) ont eu la même sensibilité vis-à-vis des extraits aqueux de *Mallotus oppositifolius*. L'Eéth a fourni les meilleurs résultats de CMF avec 12,5 mg/ml pour St et 25 mg/ml pour Sv contre 200 mg/ml pour l'Eaq (Tableau 2).

Tableau 2 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) et fongicide (CMF) des extraits aqueux et éthanoliques de *Mallotus oppositifolius* sur les souches Sv et St de *Sclerotium rolfsii*

Mycopathogène	Extrait végétal	CMI (mg/ml)	CMF (mg/ml)
<i>Sclerotium rolfsii</i> Sv	Extrait aqueux	100	200
	Extrait éthanolique	12,5	25
<i>Sclerotium rolfsii</i> St	Extrait aqueux	100	200
	Extrait éthanolique	12,5	12,5

2-5- Taux d'inhibition de la germination des sclérotés

L'étude du taux d'inhibition de la germination des sclérotés des deux souches de *Sclerotium rolfsii* a été réalisée avec l'Eéth. Après 7 jours d'incubation, une absence de croissance de mycélium a été observée pour les concentrations supérieures à 6,25 mg/ml. A cette dernière concentration, les sclérotés ont juste germé sans poursuivre leur développement (Figure 8, 9). La CMI pour les deux souches de *Sclérotium rolfsii* est donc de 6,25 mg/ml. La CMF a été déterminée à 12,5 mg/ml pour les deux souches Sv et St de *Sclerotium rolfsii*. De ces observations, il ressort que les sclérotés de Sv et St ont la même sensibilité face à l'Eéth de *Mallotus oppositifolius*.

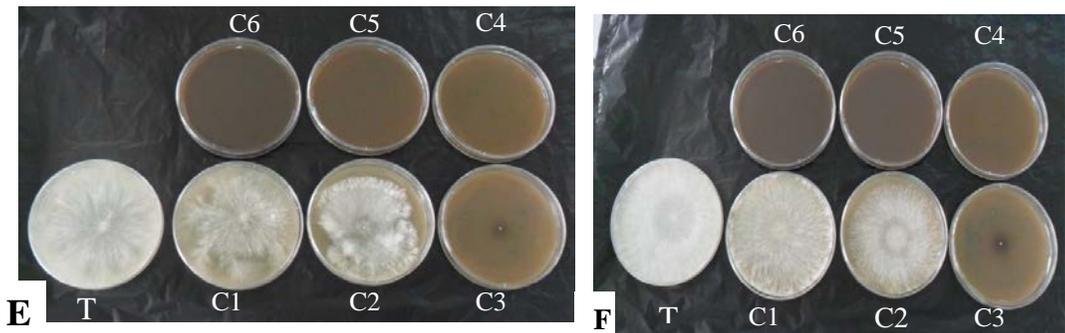


Figure 8 : Croissance *in vitro* d'un sclérote des souches St (E) et Sv (F) de *Sclerotium rolfsii* en fonction de la concentration d'Eéth de feuilles de *Mallotus oppositifolius* après 7 jours d'incubation

T : Témoin 0 mg/ml ; C1 : 1,56 mg/ml ; C2 : 3,12 mg/ml ; C3 : 6,25 mg/ml ; C4 : 12,5mg/ml ; C5 : 25 mg/ml ; C6 : 50 mg/ml.

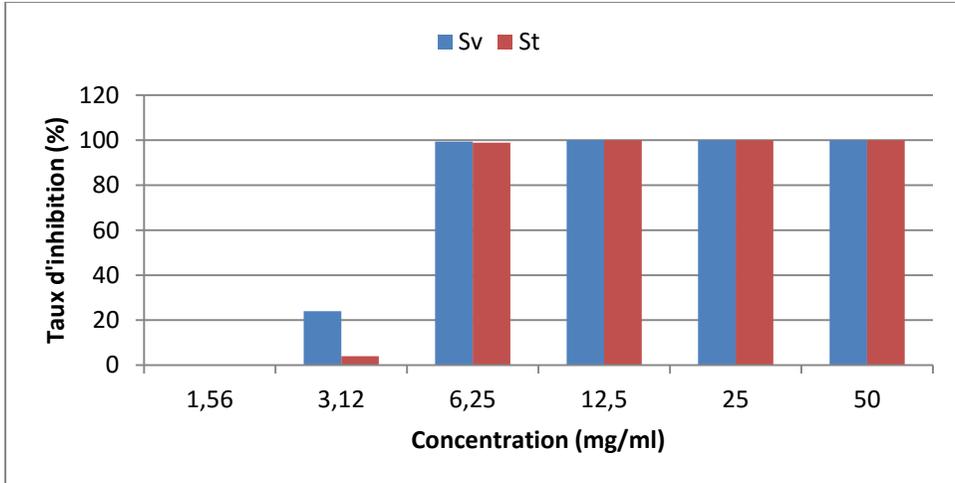


Figure 9 : Taux d'inhibition des sclérotés des souches Sv et St de *Sclerotium rolfsii* après 7 jours d'incubation

DISCUSSION

Les résultats de l'enquête ethnobotanique dans le département d'Agboville, sur les plantes médicinales utilisées par les Abbey pour traiter les maladies de la peau, a permis d'inventorier 26 espèces appartenant à 23 familles. La famille des Euphorbiaceae renferme le plus grand nombre d'espèces. Cette forte proportion des Euphorbiaceae pourrait s'expliquer par la forte représentativité de cette famille dans la flore ivoirienne (Aké Assi, 1984).

Les espèces ligneuses sont les plus représentées dans la flore médicinale constituée, soit 76,92 % contre 23,08 % d'herbacées. Ces résultats confirment les observations de Fournier (1991) et de Devineau et Fournier (1997), qui ont montré que la flore ivoirienne est plus riche en espèces ligneuses au niveau du 10ème parallèle (Sud de la Côte d'Ivoire où est localisé notre site d'étude) qu'au niveau du 6^{ème} et du 12^{ème} (Nord de la Côte d'Ivoire). La richesse floristique en espèces ligneuses ou herbacées pourrait être due à la position géographique, d'où le faible taux de ligneux observé en milieu soudanais, au Nord de la Côte d'Ivoire, par Soro *et al.* (2006). Notons cependant que tous les types morphologiques (arbres, arbustes, lianes et herbes) sont employés en médecine traditionnelle.

La dominance des microphanérophytes suivi des nanophanérophytes pourrait s'expliquer par l'appartenance du milieu d'étude (sud forestier) à la zone tropicale dominée par les phanérophytes. Traoré (2007) a obtenu les mêmes résultats dans les agro-écosystèmes élaeicoles de La Mé et de Dabou, en zone forestière de la Côte d'Ivoire.

La forte présence des espèces de la région phytogéographique Guinéo-Congolaise parmi les espèces citées pourrait être due à l'appartenance de la zone d'étude à la région phytogéographique Guinéenne.

Les organes les plus utilisés ont été les feuilles et les écorces des troncs. Cela confirme les observations de Aké-Assi et Guinko (1991) selon lesquelles les feuilles et les écorces sont les organes les plus utilisés en pharmacopée. Les résultats de plusieurs travaux réalisés en Côte d'Ivoire et ailleurs en Afrique sont en accord avec ce résultat (Ouattara 2006 ; N'guessan *et al.*, 2015 ; Ambé *et al.*, 2015 et Diatta *et al.*, 2013). La fréquente utilisation des feuilles en pharmacopée peut être lié au fait que les feuilles constituent le siège de la photosynthèse et parfois le lieu du stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés de la plante (Bigendako-Polygenis et Lejoly, 1990).

La torréfaction, la pulvérisation et le pétrissage des organes ont été les modes de préparation les plus employés. La pâte ou la poudre obtenue, quelque fois associée à de l'huile de palme sont appliquées directement sur les parties malades de la peau. L'application locale des remèdes est le mode d'administration le plus employé dans le traitement des affections dermatologiques. Ce résultat est en accord avec ceux de N'guessan (2008) et Diatta *et al.* (2013).

Mallotus oppositifolius, espèce la plus citée par les phytothérapeutes rencontrés au cours de l'enquête ethnopharmacologique et intervenant dans les soins de plusieurs infections mycosiques constitue donc une espèce végétale de choix pour les études antifongiques.

Le pouvoir inhibiteur de la croissance du mycélium et de la germination des sclérotés des différents extraits (total aqueux et éthanolique 70%) de *Mallotus oppositifolius* a été mis en évidence par la réduction de la croissance mycélienne avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. L'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique 70% (CMF = 12,5 à 25 mg/ml) a été plus important que celui de l'extrait aqueux (CMF = 200 mg/ml), soit une amélioration de 8 à 16 fois l'activité fongicide de l'extrait total aqueux. La CMI de l'Eéth des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (12,5 mg/ml) comparée à celle des écorces de *Terminalia ivorensis* (25 mg/ml) et *Terminalia superba* (25 mg/ml) réalisé par Coulibaly (2012) sur le même champignon montre que *Sclerotium rolfsii* est plus sensible à l'Eéth de *M. oppositifolius*. Face aux extraits éthanoliques de *M. oppositifolius*, la souche St (CMF = 12,5 mg/ml) a été plus sensible que la souche Sv (CMF = 25 mg/ml). L'activité d'une substance végétale dépend de sa concentration en principes actifs (Thangara *et al.*, 2000). Les études de Kouadio *et al.* (2015) sur le criblage phytochimique des extraits des feuilles de *Mallotus oppositifolius* a mis en évidence la présence de métabolismes secondaires tels que : les saponoides, les tanins, les flavonoïdes, les lactones, les

sesquiterpéniques, les phénols, les alcaloïdes et les coumarines. La majorité de ces composés seraient à la base des activités fongicides contre les microorganismes pathogènes selon Okigbo et Ajalie (2005). Kabran *et al.* (2012) ont signalé que les phénols totaux sont synthétisés par les plantes comme réponse aux conditions de stress telles que les infections, les blessures, les radiations UV. Ce qui justifierait leurs nombreux usages en pharmacopée traditionnelle. Les plantes riches en flavonoïdes ont des propriétés analgésiques, antifongiques, antimicrobiennes, hémostatiques, aphrodisiaques et astringentes. Ce qui expliquerait l'utilisation de *Mallotus oppositifolius* dans le traitement des mycoses et son utilisation probable dans la lutte contre *Sclerotium rolfsii*, le champignon tellurique étudié dans ce travail. L'extrait éthanolique de *M. oppositifolius*, exerce également un pouvoir inhibiteur sur la germination des sclérotés des deux souches Sv et St de *S. rolfsii*, Ce résultat est en accord avec ceux de Kanoun *et al.* (2014) qui ont montré que la diminution de la croissance mycélienne de *Ascochyta rabiei* et de *Fusarium oxysporum*, correspond à la diminution du nombre de leurs spores sous l'effet de l'extrait éthanolique d'écorce de *Punica granatum*. Les travaux de Serghat *et al.* (2004) ont également montré que la croissance mycélienne et la sporulation de *Pyricularia grisea* sont inhibées par les tricyclazoles.

CONCLUSION

L'enquête ethnopharmacologique réalisée dans le département d'Agboville a permis de recenser 26 espèces utilisées par les Abbey, dans le traitement des maladies cutanées. Cet inventaire est un moyen de sauvegarde du savoir-faire de la population locale qui tend à disparaître. Elle pourrait servir de base de données pour la valorisation des plantes médicinales et pour la recherche de nouveaux principes actifs utiles en pharmacologie.

L'évaluation de l'activité antifongique de *Mollotus oppositifolius*, a montré que les extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de cette espèce, posséderaient un pouvoir inhibiteur sur le stade de développement du mycélium et de conservation des sclérotés de *Sclerotium rolfsii*. Le meilleur solvant a été l'éthanol qui concentre mieux les principes actifs de cette plante. Le pouvoir inhibiteur de l'extrait éthanolique a été important aussi bien sur la croissance mycélienne que sur la germination des sclérotés des deux souches phytopathogènes de *Sclerotium rolfsii*. Ce travail préliminaire pourrait constituer une base pour la détermination des concentrations suffisantes et efficaces pour les études *in vivo*, en vue de la lutte biologique par des substances actives naturelles de *Mallotus oppositifolius* contre les agents pathogènes de *Sclerotium rolfsii*.

References:

- Ahon M.G., Akapo-Akue J.M., Kra M.A., Ackah J.B., Zirihi N.G. et Djaman J.A., 2011. Antifungal activity of the aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Terminalia superba* Engl. on the *in vitro* growth of clinical isolates of pathogenic fungi. Agric. Biol. J.N. Am., 2(2) : 250-257.
- Aké-Assi L., 1984. Flore de la Côte d'Ivoire. Etude descriptive et biogéographique avec quelques notes ethnobotaniques. Tome I. II. III. Thèse Doct. Ès-Sci Nat., F.A.S.T. Univ. Abidjan, Côte d'Ivoire, 1205p.
- Aké-Assi L. et Guinko S., 1991. Plantes utilisées dans la médecine traditionnelle en Afrique de l'Ouest. Edition Roche Basel, Switzerland, 151p.
- Ambé A.S.A., Ouattara D., Tiebre M.S., Vroh B.T.A., Zirihi G.N. et N'guessan K E., 2015. Diversité des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel de la diarrhée sur les marchés d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Journal of Animal & Plant Sciences 26(2) : 4081-4096.
- Aquaron M., 2005. Les causeries en Montagne, Sabenca de la Valéa, Barcelonnette. Conférence du 18/08/05. Consulté le 17/01/15.
- Bigendako-Polygenis M.J. et Lejoly J., 1990. La pharmacopée traditionnelle au Burundi. Pesticides et médicament en santé animale. Pres. Univ. Namur. 425-442.
- Coulibaly K., 2012. Etude botanique, pharmacologique et explorations phytochimique des extraits de *Terminalia ivorensis* et *Terminalia superba*, deux espèces ligneuses commerciales, médicinales antimicrobiennes de la forêt de Mopri. Tiassalé (sud de la Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 183 p.
- Devineau J.-L. et Fournier A., 1997. Flore et végétation. In Les sol et la végétation de la région de Bondoukou (Ouest burkinabé). Edition ORSTOM, Paris, 27-47.
- Diatta C.D., Gueye M. et Akpo L.E., 2013. Les plantes médicinales utilisées contre les dermatoses dans la pharmacopée Baïnouk de Djibonker, Sénégal. Journal of Applied Biosciences. 70 : 5599-5607.
- Fournier A., 1991. Phénologie, croissance et production végétales dans quelques savanes d'Afrique de l'ouest. Variation selon un gradient climatique, Colloque, Paris, France ORSTOM, 312 p.
- Kabran G.R.M., Ambeu N.C., Mamyrbekova-Bekro J.A. et Bekro Y. A., 2012. Phénols et flavonoïdes totaux dans les extraits organiques de dix plantes utilisées dans la tradithérapie du cancer du sein en Côte d'Ivoire. European Journal of Scientific Research. 68 (2) : 182 – 190.
- Kanoun K., Abbouni B., Bénine M.L. et Marouf B., 2014. Etude de l'efficacité de l'extrait éthanolique d'écorce de *Punica granatum* Linn. sur

deux souches phytopathogènes : *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. Et *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. European Science Journal.10 (12) : 301-315.

Kouadio N.J., 2013. Evaluation de l'activité antibactérienne de quatre (4) plantes médicinales sur la croissance *in vitro* de bactéries multirésistantes. Mémoire de Master, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire, 53 p.

Kouadio N.J., Guessennnd N.K., Kone M.W., Moussa B., Koffi M.Z., Guede K.B., Yao K., Bakayoko A., Trabi H.F. et Dosso M., 2015. Evaluation de l'activité des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll. Arg. 'Euphorbiaceae) sur des bactéries multirésistantes et criblage phytochimique. Int J. Biol. Chem. Sci., 9 (3) : 1252 – 1252.

Leroux P. et Credet A., 1978. Document sur l'étude de l'activité des fongicides. INRA. Versaille France, 12 p.

N'guessan K., 2008. Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du département d'Agboville (Côte d'Ivoire) Thèse de Docteur d'Etat ès sciences Naturelles. Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire. 235 p.

N'guessan K., Assi-Kaudjhis C. et Kouassi K. H., 2015. Ethnobotanical study of antitussive plants used in traditional medicine by Abbey and Krobou populations, in the south of Côte d'Ivoire. International Journal of Advances in Pharmacy Biology and Chemistry. 4(2) : 513-522.

Okigbo R. et Ajalie A., 2005. Inhibition of some human pathogens with tropical plants extracts *Chromolinaena odorata* and *Citrus aurantifolia* and some antibiotics. *Inter. J. Mol. Med. Adv. Sci.*, 1(1) : 34- 40.

Anonyme, 2013. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. 78 p.

Ouattara D., 2006. Contribution à l'inventaire des plantes médicinales significatives utilisées dans la région de Divo (sud forestier de la Côte d'Ivoire et à la diagnose du poivrier de Guinée : *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Rich. (Annonaceae). Thèse de Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire), UFR Biosciences, 184 p.

Serghat S., Mouria A., Ouazzani Touhami A., Badoc A. et Douira A., 2004. Effet de quelques fongicides sur le développement *in vitro* de *Pyricularia grisea* et *Helminthosporium oryzae*. Bull.Soc. Pharm Bordeaux, 143 : 7-18.

Soladoya MO, Ikotun T, Chukwuma EC, Ariwaodo JO, Ighanesebor GA, Agbo-Adediran O.A et Owolabi S.M., 2013. Our plants, our heritage: Preliminary survey of some medicinal plant species of Southwestern University Nigeria. Campus Ogun State. Nigeria Annals of Biological Research, 4(12) : 27-34.

- Soro S., N'guessan K. A., Traoré D. et Ouattara N., 2006. Impact des jachères sur la flore adventice au Nord de la Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine XVIII* (3) : 253-265.
- Soro S., Doumbouya M. et Kone D., 2008. Potentiel infectieux des sols de culture de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) sous abri avec incidence de l'âge de repiquage sur la vigueur des plants vis-à-vis de *Pythium sp.* à Songon-Dabou en Côte d'Ivoire. *Tropicultura*, 26(3) : 173 – 178.
- Thangara J.H.S., Adjei O., Allen B.W. et Portaels F., 2000. In vitro activity of Ciprofl oxacin, Sparfl oxacin, Ofl oxacin, Amikacin and Rifampicin against Ghanaian isolates of *Mycobacterium ulcerans* ; *J. Antimicrob. Agents Chemother* ; 45 (2) : 231-233.
- Traore K, 2007. Étude comparée de la flore adventice des agro-écosystèmes élaeicoles (*Elaeis guineensis* Jacq.) en basse Côte d'Ivoire : cas des localités de la Mé et de Dabou. Thèse de Doctorat, Écologie Végétale, Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire, 153 p.
- Zirihi G.N., Kra A.K.M. et Guédé-Guina F., 2003. Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lam.) O. Ktze (Asteraceae) « PYMI » sur la croissance in vitro de *Candida albicans*. *Revue médicale et pharm. Afric.* 17 : 1 – 19.