

Liste des sigles et abréviations

CNRA : Centre National de Recherches Agronomiques

°C: Degré Celsius

Incid ram: Incidence à la ramification

Incid fruct : Incidence à la fructification

Incid mat : Incidence à la maturité

ILCRC : Innovation Lab Climate Resilient Cowpea

IITA: International Institute of Tropical Agriculture

INERA : Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles

ISRA : Institut Sénégalais de Recherches Agricoles

SARI: Savanna Agricultural Research Institute

Sév fruct: Sévérité à la fructification

Sév mat: Sévérité à la maturité

PDA: Potato Dextrose Agar

UCAD: Université Cheikh Anta Diop

UCR: University of California Riverside

Résumé

Le niébé (*Vigna unguiculata*) constitue la 2^{ème} légumineuse la plus produite et la plus consommée en Afrique après l'arachide. Ainsi, à cause de sa tolérance à la sécheresse et de son cycle de développement relativement court, le niébé est devenu l'une des principales légumineuses vivrière au Sénégal. Cependant, la culture du niébé est confrontée à plusieurs contraintes d'ordre abiotiques et biotiques liés principalement aux champignons phytopathogènes dont *Macrophomina phaseolina* responsable de la pourriture charbonneuse. L'objectif de notre présente étude est de cribler des lignées de niébé par rapport à la pourriture charbonneuse et de tester *in vitro*, l'activité antifongique d'extraits végétaux sur le champignon *M. phaseolina*. Pour ce faire, un essai a été conduit au champ sur une parcelle infestée. L'étude est menée au CNRA de Bambey avec 153 lignées provenant de 5 pays : Sénégal, Burkina fasso, Nigéria, Ghana et Etats-Unis. Tout d'abord, une évaluation de l'incidence et de la sévérité de la pourriture charbonneuse a été faite au champ. Ensuite l'efficacité des extraits aqueux d'*Azadirachta indica* (neem) et de *Lawsonia inermis* (henné) a été testée sur la croissance mycélienne du champignon. Les résultats ont montré que la pourriture charbonneuse a une forte incidence sur les lignées de niébé au cours du stade de développement de la plante. A la maturité, seules 10 lignées ont présenté une incidence inférieure à 100%. Concernant la sévérité, une différence significative entre les lignées a été notée avec une moyenne de 60,7%. 27 lignées ont été ciblées comme résistantes à la maladie avec une sévérité inférieure à 50%. L'évaluation *in vitro* des extraits d'*Azadirachta indica* et de *Lawsonia inermis* sur le champignon *M. phaseolina* a montré, une bonne réduction de la croissance mycélienne. Ces extraits ont présenté respectivement des taux d'inhibition de 65,03% et de 69% aux concentrations respectives de 15% et de 10%. Pour un meilleur choix des lignées de niébé il serait important de faire un suivi des lignées tolérantes à la maladie. Les résultats de cette étude laissent également entrevoir de bonnes perspectives pour l'utilisation des extraits végétaux afin de limiter les pertes de la production du niébé.

Mots clés : *Vigna unguiculata* - criblage – Pourriture charbonneuse – Activité antifongique

Abstract

Cowpea (*Vigna unguiculata*) is the second most produced and most widely used legume in Africa after peanut. Thus, because of its tolerance to drought and its relatively short development cycle, cowpea has become one of the main food legumes in Senegal. However, the cowpea culture is confronted with several abiotic and biotic constraints mainly related to phytopathogenic fungi including *Macrophomina phaseolina* responsible for anthrax rot.

The objective of our present study is to screen cowpea lines against anthrax and to test, in vitro, the antifungal activity of plant extracts on the fungus *M. phaseolina*. To do this, a trial was conducted in the field on a naturally infested plot. The study is conducted at CNRA Bambey with 153 lines from 5 countries: Senegal, Burkina Faso, Nigeria, Ghana and the United States. First, an assessment of the incidence and severity of anthrax was made in the field. Then the efficacy of the aqueous extracts of *Azadirachta indica* (neem) and *Lawsonia inermis* (henna) was tested on mycelial growth of the fungus. The results showed that anthrax has a strong impact on cowpea lineages during the development stage of the plant. At maturity, only 10 lines have an incidence of less than 100%. Regarding severity, a significant difference between the lines was noted with an average of 60.7%. 27 lines were targeted as resistant to the disease with a severity of less than 50%. The in vitro evaluation of neem and henna extracts on the *M. phaseolina* fungus showed a good reduction in mycelial growth. Extracts of *Azadirachta indica* and *Lawsonia inermis* showed respectively 65.03% and 69% inhibition of mycelial growth of *Macrophomina phaseolina* at concentrations of 15% and 10%, respectively. For a better choice of cowpea lines it would be important to monitor disease-tolerant lines. The results of this study also suggest good prospects for the use of plant extracts in order to limit losses of cowpea production.

Key words: *Vigna unguiculata* - screening - Anthrax - Antifungal activity

INTRODUCTION

Le niébé (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) est une espèce rustique qui s'adapte bien aux écosystèmes des régions sèches. En Afrique, il constitue la deuxième légumineuse la plus produite et la plus consommée après l'arachide. Le niébé est ainsi, devenu avec la péjoration des conditions climatiques qui frappe les pays soudano-sahéliens, l'une des principales légumineuses vivrière au Sénégal à cause de sa tolérance à la sécheresse et de son cycle de développement relativement court (Ngoy *et al.*, 2018).

La production annuelle mondiale est estimée à 5670076 tonnes de graines sèches dont 95% est réalisée en Afrique (FAOSTAT, 2015). Le niébé est consommé non seulement sous forme graines sèches, mais aussi de gousses vertes de haricots frais. La superficie cultivée annuellement dans le monde est estimée à plus de 12,76 millions d'ha dont environ 9,8 millions d'hectares sont réalisés en Afrique de l'Ouest, faisant de cette région la première productrice et consommatrice de niébé dans le monde (Omobude *et al.*, 2013).

Cependant, la culture du niébé est confrontée à plusieurs contraintes d'ordre abiotiques et biotiques qui entravent son développement. Les contraintes abiotiques sont liées à la pluviométrie, aux températures, aux vents et à une faible fertilité des sols. Les contraintes biotiques quant à elles, sont relatives aux insectes nuisibles, aux mauvaises herbes, aux nématodes, aux virus, aux bactéries et aux champignons phytopathogènes.

De cette gamme de maladies, la pourriture charbonneuse due à *Macrophomina phaseolina* occasionne des pertes non négligeables sur la production du niébé (Tengo, 2011). Dans la zone Sahélienne Ouest-africaine, la pourriture charbonneuse cause des pertes de rendement moyen de 10 % ce qui est équivalent à 30 000 tonnes de niébé avec une valeur estimée en dollars américains à 146 millions seulement pour le Niger et le Sénégal (Ndiaye, 2007).

Compte tenu de son intérêt économique et alimentaire, le niébé fait l'objet de nombreuses recherches au niveau des structures de recherche telles que : l'International Institute for Tropical Agriculture (IITA) à Kano (Nigeria) et l'Institut Sénégalais de Recherche Agricole (ISRA) à Bambey (Sénégal) pour augmenter les rendements de la culture (Ndiaye, 1986).

C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude dont l'objectif général est de contribuer à l'augmentation de la productivité et de la production du niébé au Sénégal.

Les objectifs spécifiques sont :

- cribler des lignées de niébé par rapport à la pourriture charbonneuse au champ ;

- évaluer l'activité antifongique *in vitro* d'extraits aqueux d'*Azadirachta indica* (neem) et de *Lawsonia inermis* (henné) sur la croissance mycélienne du champignon *Macrophomina phaseolina*.

Ce présent mémoire fait la synthèse de nos travaux de recherche et sera structuré en quatre parties. En premier lieu, il apporte une revue bibliographique sur la culture du niébé, la pourriture charbonneuse due à *Macrophomina phaseolina* et quelques généralités sur les extraits végétaux utilisés. Ensuite, le matériel et les méthodologies adoptés dans cette étude. Les résultats obtenus seront présentés et discutés. Enfin une conclusion et des perspectives seront dégagées.

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur le niébé

Le niébé constitue avec l'arachide, la principale légumineuse à graines cultivée dans la savane ouest africaine (Ngoy *et al.*, 2018). Il est produit à la fois comme une culture vivrière et une culture de rente. Sa culture présente ainsi un intérêt capital sur le plan agronomique, nutritionnel et socio-économique.

1.1. Description sommaire

1.1.1. Origine

Vigna unguiculata est une légumineuse annuelle dont le centre d'origine était controversé avant les études de Faris (1963 ; 1965). Piper (1913), a donné une double origine au niébé: l'Inde et l'Afrique. Faris (1963, 1965), après des études qui se sont reposées sur une description cytologique et morphologique des formes sauvages et cultivées du niébé montre que l'Afrique de l'Ouest et plus probablement le Nigeria est le centre d'origine du niébé. Selon Vavilov (1951), une zone présentant une diversité maximale pour une plante cultivée donnée est également susceptible de devenir le centre de domestication de l'espèce. La grande diversité et la large distribution des espèces sauvages de niébé en Afrique constitueraient donc une des preuves les plus sérieuses quant au fait que le niébé soit originaire du continent africain (Padulosi et Ng, 1997). Certains auteurs ont situé cette origine en Ethiopie (Vavilov, 1951 ; Steele, 1972) tandis que d'autres la situent en Afrique de l'Ouest (Piper, 1913 ; Rachie et Roberts, 1974). Cependant, les travaux de Rawal (1975) indiquant une abondance d'espèces sauvages à la fois dans les écologies de savanes et de forêts au Nigeria sont en faveur d'une origine ouest africaine et plus vrai semblablement nigériane.

1.1.2. Classification

Le niébé (*Vigna unguiculata*) est une dicotylédone appartenant à l'ordre des Fabales, à la famille des Fabaceae, à la sous famille des Faboideae, à la tribu des Phaseoleae, à la sous tribu des Phaseolinae (Verdcourt, 1970; Maréchal *et al.* 1978). Le niébé, qui est mentionné dès l'Antiquité par Dioscoride, a été décrit par Linné, à partir d'une forme cultivée provenant des Antilles, sous le nom de *Dolichos unguiculatus*, qui deviendra *Vigna unguiculata* (Pasquet et Baudouin, 1997). *V. unguiculata* inclut des formes cultivées et des formes sauvages. Les formes cultivées se distinguent des formes sauvages par des gousses indéhiscentes, des graines et des gousses de taille plus importante (Lush et Evans, 1981).

1.1.3. Bio-écologie du niébé

Le niébé est une espèce qui se présente bien aux écosystèmes des pays du sahel. Le plant de niébé a une tige cylindrique légèrement striée hélicoïdale quelquefois creuse et glabre. Les feuilles sont alternes, trifoliées et de couleur vert foncé ou vert clair ; leur forme est globuleuse à effilée avec des formes intermédiaires. Le système racinaire est pivotant avec une abondante ramification, ce qui confère au niébé une certaine tolérance à la sécheresse. Les racines portent des nodosités de bactéries fixatrices d'azote. L'inflorescence est un racème axillaire non ramifié portant plusieurs fleurs. Le rachis est contracté et le pédoncule a une longueur variable. Le cycle des variétés est déterminé au stade 50% de floraison. On distingue des variétés à cycle court (60-65 jours), à cycle intermédiaire (65-85 jours) et les variétés tardives (85-110 jours) (Pandey, 1987). Les gousses sont rattachées à l'axe du racème. A maturité, elles renferment des graines dont la couleur, la taille et la forme sont variables. Le niébé est une légumineuse herbacée, plante des régions tropicales et subtropicales. Les températures optimales de sa culture varient entre 25 et 28°C. Le niébé affiche une bonne performance dans les zones agro-écologiques où la pluviométrie est de 500 à 1200 mm/an. Cependant, grâce aux variétés précoces et extra-précoces, il peut pousser dans le Sahel où la pluviométrie est inférieure à 500 mm/an (Dugje *et al.*, 2009). Selon Diaw, (1999), les besoins en eau du niébé sont de l'ordre de 200 mm/tonne de matière sèche/ha. En matière de sol, le niébé n'est pas très exigeant mais croît de préférence sur des sols bien drainés, sablo-limoneux à limono-argileux, à pH= 6 ou 7 (Dugje *et al.*, 2009).

1.1.4. Importance de la culture

Le niébé est l'une des légumineuses les plus importantes en Afrique tropicale, en témoignant la production et les multiples usages de la plante (FASO *et al.*, 2016). En effet, il est cultivé sur environ 12,76 millions d'hectares par an dans le monde (Omovbude *et al.*, 2013). La production annuelle mondiale est estimée à 5670076 tonnes de graines sèches dont 95% est réalisée en Afrique (FAOSTAT, 2015). Le Nigeria, le Niger, le Burkina Faso et le Sénégal, constituent les principaux bassins de production (Soule et Gansari, 2010) tropicale. Sa culture présente des retombées nutritionnelles, agronomiques et économiques, considérables.

✓ Sur le plan nutritionnel

Les jeunes feuilles, les gousses immatures, et les graines sont utilisées dans l'alimentation humaine. La valeur nutritionnelle des graines est élevée avec en moyenne 23 à 25% de

protéines et 50 à 67% d'amidon, ce qui confère au niébé un rôle important dans la lutte contre la déficience protéique chez les enfants (Quin, 1997). La graine du niébé est également riche en lysine et en zinc. Les teneurs élevées en calcium (90 mg/100 g), en fer (6 à 7 mg/100 g), en acide nicotinique (2 mg/100 g) contenues dans le niébé contribuent pour une part substantielle à combler les besoins alimentaires des populations dans les pays tropicaux (Bressani, 1997 ; N'gbesso *et al.*, 2013). En cela, il constitue un supplément important pour les aliments à base de céréales généralement pauvres en ces éléments nutritifs (Madamba *et al.*, 2006). La graine sèche est généralement moulue et consommée dans plusieurs plats traditionnels africains (bouillie, pain, beignets, aliment de sevrage pour enfants, etc.). Le niébé joue ainsi un rôle important dans la sécurité alimentaire des populations en tant qu'aliment de soudure. L'alimentation animale bénéficie aussi des qualités nutritionnelles du niébé. En effet, le niébé est généralement utilisé sous forme de fanes ce qui joue une part importante dans l'alimentation animale notamment pendant la saison sèche en l'absence de pâturage.

✓ **Sur le plan agronomique**

Le niébé n'est pas seulement une plante d'intérêt alimentaire. Il a aussi des vertus agronomiques. C'est une plante améliorante très utile dans les assolements. De par sa croissance rapide, le niébé assure une couverture du sol, le protégeant ainsi contre l'érosion et contre l'envahissement des adventices. Les fanes abandonnées au champ constituent une source importante d'enrichissement du sol en matières organiques et en éléments minéraux. Le niébé améliore la teneur du sol en azote grâce à ses racines qui comportent des nodules renfermant des bactéries du genre *Rhizobium* capables de fixer l'azote atmosphérique ce qui contribue à restaurer la fertilité du sol (Adjei nsiah *et al.*, 2006). Les travaux de Bado (2002) ont montré qu'une culture pure de niébé peut fixer de 50 à 115 kg d'azote/ha; ce qui participe pour 52 à 56% à la satisfaction de ses propres besoins en azote. En association avec le sorgho ou le mil, le niébé contribue à lutter contre *Striga hermonthica* par la réduction du stock de semences de *Striga* dans le sol (Lawané *et al.*, 2009). La couverture du sol par le niébé permet de garder une humidité constante au niveau du sol et le protège ainsi contre l'érosion hydrique (Dabiré, 2001). Cette couverture soustrait aussi le sol de la dégradation causée par le vent, le soleil, et l'eau de pluie. Enfin, le niébé facilite l'intégration entre l'agriculture et l'élevage car les animaux nourris avec les fanes du niébé produisent un fumier de qualité pour la fertilisation des champs (Kaboré, 2004). Ces multiples atouts nutritionnels et agronomiques montrent donc l'importance du niébé au niveau économique.

✓ **Sur le plan économique**

Le niébé est une source de revenus pour les pays producteurs. Selon Langyintuo *et al.*, (2003) le Nigeria, le Niger, le Burkina Faso, le Bénin, le Mali, le Cameroun, le Tchad, et le Sénégal sont les principaux pays exportateurs du niébé ; tandis que, le Ghana, le Togo, la Cote d'Ivoire, le Gabon, et la Mauritanie sont les pays importateurs. En plus du commerce des graines du niébé, les fanes sont aussi commercialisées et utilisées dans l'alimentation du bétail. En Afrique occidentale et centrale, le commerce du fourrage du niébé permet une augmentation de 25% du revenu annuel des paysans (Quin, 1997).

Malgré sa large adaptation et son importance, la productivité du niébé est généralement très faible à cause de nombreuses contraintes biotiques et abiotiques (Ishikawa., *et al.*, 2013).

1.1.5. Contraintes de la culture du niébé

L'accroissement de la production de niébé notamment par l'amélioration de la productivité se heurte à plusieurs contraintes qui limitent ou même anéantissent les récoltes. Ces contraintes sont d'ordres biotiques et abiotiques.

✓ **Les contraintes abiotiques**

Les contraintes abiotiques constituent l'une des principales contraintes de la production du niébé. Elles sont essentiellement de type pédoclimatiques. Les contraintes climatiques sont liées à la mauvaise répartition des pluies, aux températures très élevées, et aux vents. Les contraintes pédologiques sont liées essentiellement à une faible fertilité des sols en éléments minéraux nécessaire à la croissance et au développement de la plante. De plus, malgré sa plasticité, le niébé est rarement cultivé sous des conditions édaphiques et climatiques optimales permettant d'obtenir les rendements potentiels liés aux variétés utilisées (Hamidou *et al.*, 2018).

✓ **Les contraintes biotiques**

Au champ, le niébé subit durant tout son cycle végétatif l'action de plusieurs ennemis. Les mauvaises herbes interviennent dès les premiers stades de la croissance de la plante en établissant une compétition ou un parasitisme avec celle-ci. Elles peuvent ainsi avoir un effet négatif direct par compétition avec la culture vis-à-vis des éléments nécessaires à la croissance : eau, nutriments, lumière, espace de développement occasionnant les pertes de récolte. A cause de son adaptation aux zones tropicales, le niébé subit les attaques de différents insectes ravageurs. Il est en effet attaqué par les insectes à tous les stades de son développement. Certains insectes ravageurs du niébé jouent aussi un rôle important de vecteurs de maladies. Il s'agit par exemple des pucerons et des coléoptères fréquemment

impliqués dans la transmission de virus. Le niébé est également l'hôte de nombreuses maladies. Celles dignes d'intérêt sont constituées de maladies cryptogamiques, bactériennes et virales. Le Cowpea Aphid Borne Mosaic Virus (CABMV) ou virus de la mosaïque du niébé transmis par les pucerons constitue la maladie virale endémique en Afrique de l'ouest (Sawadogo, 2004). Les maladies bactériennes et fongiques majeures qui affectent particulièrement la production de niébé sont celles causées par *Macrophomina phaseolina* (pourriture charbonneuse), *Colletotrichum capsici* (maladie des taches brunes), *Rhizoctonia solani* (rhizoctone noire) et *Xanthomonas vignicola* (chancre bactérien) (Séréomé, 1985).

2. Aperçu sur la pourriture charbonneuse

2.1. Systématique et caractérisation de l'agent causal

La pourriture charbonneuse du niébé est causée par *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *M. phaseolina* est un champignon tellurique appartenant à la classe des *Ascomycètes*, à l'ordre des *Sphaeropsidales* et à la famille des *Botryosphaeriaceae* d'après des données phylogénétiques récentes (Umer, 2010).

Historiquement, plusieurs synonymes ont été assignés à *M. phaseolina* à cause des caractéristiques biologiques de ce pathogène et de la difficulté de sa classification taxonomique (Holliday *et al.*, 1970). *M. phaseolina* a été nommé pour la première fois par Halsted en 1890 *Rhizoctonia bataticola*, après avoir observé les nodules noirs (sclérotés) sur les racines des plantes d'*Ipomoea batatas*. Plus tard, le stade pycnide a été décrit par Tassi (1901) et fut nommé *Macrophomina phaseolina* et *Macrophomina phaseolus* par Maublanc en 1905. En 1912, Shaw décrit un champignon avec des sclérotés noirs et qui attaquant les semis de jute blanc, de niébé, d'arachide et de coton en Inde et qu'il appela *Sclerotium bataticola* (Dhingra and Sinclair, 1978). Ashby en 1927, a maintenu le nom *Macrophomina phaseolus*, tandis que Goidanich (1947) a proposé le nom *Macrophomina phaseolina*. *Tiarosporella phaseolina*(Tassi) Van der Aa a été employé en 1981 par Van der Aa pour désigner l'espèce. Mihail (1992) indiqua qu'il y avait un rapport non confirmé d'un stade téléomorphe nommé *Orbilia obscura* (Ghoshet *al.* 1964), mais depuis il n'y a pas eu de confirmation de ce stade téléomorphe Crous *et al.* (2006), en se basant sur les caractéristiques morphologiques ont inclus le pathogène dans la famille des *Botryosphaeriaceae*, en démontrant une ressemblance entre *Macrophomina* et les espèces de *Tiarosporella*. Tous les deux ont des conidies avec un appendice apical hyalin. Cependant, *Tiarosporella* n'a pas de microsclérotés,

les conidies ne brunissent pas avec l'âge, et ses cellules conidiogènes n'ont pas de proliférations percurrentes visibles.

M. phaseolina est caractérisé par un mycélium très ramifié, d'abord hyalin puis noirs charbon ou gris cendre avec l'âge. Très rapidement, ce mycélium forme des microsclérotos noirs de 50 à 90 µm de diamètre (Adam, 1995). Les pycnides sont noirs et globuleuses de 100 à 200µm avec des ostioles par lesquels sont libérées les conidies qui sont hyalines, de forme ovale ou elliptique. Sur 75 isolats de *M. phaseolina* étudiés par Ndiaye (2005) à différentes températures peu ou pas de microsclérotos étaient formés à 37 ° C dans les milieux de culture après 48 heures d'incubation. Cependant, les travaux de Ndiaye (2007) et Adam (1986 ; 1995) ont montré que les températures optimales de croissance *in vitro* de *M. phaseolina* se situent entre 35-37 ° C pour 92 % des isolats. Après deux jours d'incubation, les colonies de *M. phaseolina* ont une croissance optimale entre 30 et 36°C (Sarr, 2015).

2.2. Cycle biologique de *Macrophomina phaseolina*

Macrophomina phaseolina est un champignon transmis par le sol et les semences. Il survit dans le sol et dans les résidus de culture sous forme de microsclérotos (Sy, 2001) et dans les graines de niébé sous forme de microsclérotos ou de mycélium (Rémi, 1997). Ces microsclérotos constituent l'inoculum primaire (Ndiaye, 2007). Ils sont formés à partir d'agrégats de cellules hyphales jointes par un matériau de mélanine. Dans les conditions favorables (températures entre 28 et 35°C), les exsudats racinaires induisent la germination des microsclérotos qui produisent de nombreux tubes germinatifs (hyphes) qui infectent les racines de la plante hôte (Darcy, 2003). La pénétration se fait à travers les parois cellulaires épidermiques ou par les ouvertures naturelles par pression mécanique et / ou ramollissement chimique (Bressano *et al.*, 2010). Les hyphes envahissent d'abord le tissu cortical de la plante hôte. A ce niveau, les cellules adjacentes s'affaiblissent et les plants fortement infectés meurent précocement suite à la production de toxines fongiques appelées phaseolinone et la production de tissus fongiques qui bloquent les vaisseaux de l'hôte (Bhattacharya *et al.*, 1994). Une fois dans le tissu vasculaire le pathogène provoque la maladie par l'encombrement mécanique du xylème par les sclérotos, par la production de toxines et par des enzymes pectinolytiques entraînant une destruction des cellules de la plante hôte (Monteiro, 2008). A la maturité, les plants infectés montrent une perte de vigueur, les feuilles chlorotiques et nécrotiques restent fixées sur la tige. Finalement, quand le niveau d'infestation par *M. phaseolina* dans les racines et les tiges est élevé, une décoloration grise ou argentée peut être

observée sur les cellules épidermiques et sous-épidermiques des racines et des tiges (Ammon *et al.*, 1974). Cette forte expression du champignon à ce stade aboutit généralement à la mort de la plante. Après la mort des plantes infectées, la colonisation par le mycélium et la formation de sclérotés dans le tissu hôte continuera jusqu'à ce que les tissus soient secs. La pourriture des racines et des débris végétaux infectés conduit à la libération des microsclérotés dans le sol (Monteiro, 2008). Les microsclérotés ainsi libérés peuvent survivre dans le sol pendant 2 à 15 ans selon les conditions environnementales (Ndiaye, 2007).

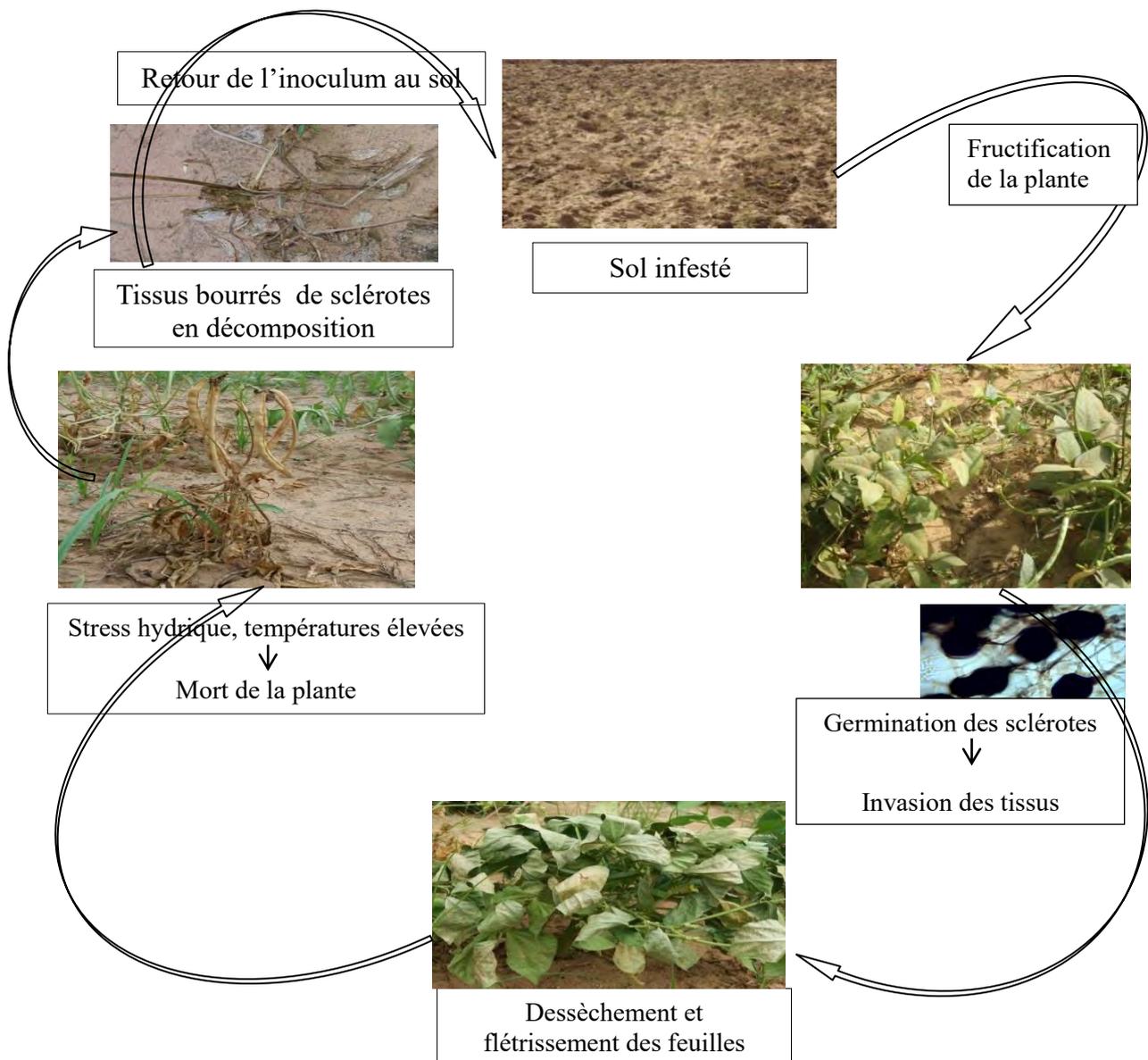


Figure 1 : Cycle de développement de *M. phaseolina* sur le niébé dans un champ infesté

2.3. Symptômes

M. phaseolina présente une certaine variabilité morphologique, pathogénique, physiologique et génétique qui lui permet de s'adapter et d'attaquer les hôtes spécifiques dans divers environnements. Bien que la maladie soit retrouvée sous des climats tropicaux humides, la pourriture cendrée ou pourriture charbonneuse des tiges est favorisée par des conditions de croissance chaudes et sèches (Beas-Fernández *et al.*, 2006; Reyes-Franco *et al.*, 2006). Ainsi, *Macrophomina phaseolina* peut infecter plus de 500 espèces végétales cultivées et sauvages. Le pathogène peut entraîner la brûlure des plantules, la pourriture charbonneuse, la pourriture sèche des racines, le flétrissement et la fonte des semis avant et après la levée de différentes espèces. Sur le niébé, les symptômes de l'attaque de *M. phaseolina* sont clairement visibles à partir de l'émergence et peuvent être évalués à différents stades de développement de la plante (Somda & Membres).

- sur les plantules, il provoque la fonte de semis: une pourriture charbonneuse qui commence généralement sur les cotylédons avant d'envahir l'hypocotyle qui s'affaisse. La plantule disparaît peu après.

- S'il n'y a pas de fonte de semis, à l'émergence, les symptômes sont caractérisés par des taches brunes à noires sur les cotylédons. Souvent, ils sont recouverts d'un tapis de mycélium grisâtre portant des sclérotés dispersés.

- Au stade de la feuille unifoliée, les symptômes typiques sont des taches semblables à une tête d'épingle sur la tige. Ces taches s'étendent et se développent en grandes lésions nécrotiques.

- Au stade de la maturité des plantes, les tiges sont tapissées de ponctuations noires constituées par les microsclérotés et les pycnides qui aboutissent à une nécrose de la tige.

Le pathogène peut également infecter les racines qui présentent des lésions nécrotiques. Il s'ensuit un dessèchement des feuilles qui prennent un aspect gris cendré caractéristique.

Le symptôme le plus frappant à ce niveau est le brusque flétrissement et dessèchement de la plante entière. Ces deux symptômes (flétrissement et dessèchement) sont le résultat de la nécrose des racines et des tiges et le colmatage mécanique des vaisseaux du xylème par les microsclérotés, mais aussi de la production de toxines et de l'action enzymatique. Les gousses et les graines peuvent être affectées et montrer les mêmes ponctuations où elles sont transformées en flocons mycéliens gris ou noirs.

2.4. Méthodes de lutte

Il est difficile de contrôler *M. phaseolina* à cause de la persistance des sclérotés dans le sol et dans les débris végétaux. L'utilisation des fongicides systémiques et/ou de contact semble avoir un effet satisfaisant en condition expérimental. Cependant, le traitement des semences s'avère inefficace contre le champignon en cas de forte infestation du sol (Jana et al, 2005). Le développement du pathogène peut aussi être réduit significativement dans les parcelles infestées et les rendements de niébé corrigées par l'utilisation de rotation appropriés et par des amendements organiques (Monteiro, 2008). En effet la monoculture du fonio sur des parcelles fortement infestées a permis de réduire la densité de l'inoculum du sol de 81% dès la première année et de 100% après trois années (Ndiaye et al., 2008). L'apport localement dans les trous de semis (méthode Tassa) suivant la dose de 2,5 tonnes de compost ha-1 seul ou combiné avec une dose de 50 kg de NPK ha-1 a entraîné une réduction de 79 % de la sévérité de la maladie et le triplement des rendements en niébé. Un meilleur contrôle a été obtenu avec l'apport de 3 tonnes ha-1 de compost inoculé avec l'agent biologique *Clonostachys rosea* (Ndiaye, 2007). Egalement, la solarisation de parcelles amendées avec des matières organiques riches en azote tels que les contenus de panse des animaux abattus (3 tonnes ha-1) a permis une réduction de 66% de l'inoculum initial du sol et un doublement des rendements en niébé (Ndiaye et al., 2007). La lutte biologique est très prometteuse dans le cas des maladies d'origine tellurique qui sont difficilement contrôlés avec les pesticides de synthèse ou les variétés résistantes (Alabouvette et al., 1993). Les avantages offerts par les procédés biologiques résident surtout dans l'absence presque totale de risques toxicologiques. A cet égard, des formulations techniques ont été mises au point pour favoriser l'utilisation des agents de lutte biologique, tels que : *Trichoderma harzianum* ; *Fusarium oxysporum* non pathogène (Eparvier, 2003); *Gliocladium spp.* (Alabouvette et al., 1993); *Penicillium sp* (Wakelin et al., 2007) ; *Pythium oligandrum* (Karine, 2002).

3. La lutte biologique

L'utilisation des moyens de lutte biologique contre les champignons phytopathogènes a connu un essor considérable durant ces dernières années, due en partie à un certain échec de la lutte chimique qui constitue un danger sur l'environnement et sur l'homme (MOURIA *et al.*, 2013). Les fongicides biologiques et extraits végétaux sont plus faciles à convertir en une matière organique que les produits chimiques et peuvent créer moins de problèmes de santé. De plus face à un champignon tellurique présentant une biologie et une physiologie complexe tel que *Macrophomina phaseolina*, l'utilisation de produits systémiques semble être peu satisfaisante. La lutte biologique apparaît ainsi comme une alternative très prometteuse.

3.1. Généralités sur *Azadirachta indica*

Le neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) appelé aussi margousier est un arbre originaire de l'Inde et fait partie de la famille des Meliaceae. C'est une plante des régions tropicales et subtropicales. Il s'adapte bien au climat semi-aride, semi humide et même aux climats aux précipitations inférieures à 500 mm. Le neem peut atteindre 30 m de haut et plus de 2 m de circonférence. Au Sénégal, l'arbre ne dépasse pas 10 à 12 m. Le neem s'accommode sur des terres maigres, pierreuses ou sableuses (TEC *et al.*).

Très tôt, *Azadirachta indica* a fait l'objet de recherches. En effet, les premiers écrits médicaux en sanscrit font référence aux propriétés bénéfiques des fruits, des noyaux, de l'huile, des feuilles, de l'écorce et des racines. Présent dans de nombreux pays sub-sahariens, le neem est l'arbre aux milles vertus. Ses feuilles et ses fruits sont très utilisés en médecine (Pohe & Agneroh, 2013). Il a également retenu l'attention des chercheurs à cause de toutes les parties de la plante qui peuvent être utilisées dans la lutte phytosanitaire. L'azadirachtine qu'il contient est un composant majeur faisant l'efficacité du neem contre plusieurs maladies bactériennes et fongiques (Bélangier & Musabyimana, 2005).

3.2. Présentation de *Lawsonia inermis*

Lawsonia inermis (henné) est un arbuste épineux de la famille des Lythracées pouvant atteindre 6 m de hauteur et vivre jusqu'à 50 ans. C'est une plante ancestrale du milieu désertique qui résiste à la sécheresse prolongée et aux sols pauvres. Il est cultivé comme haies

pour protéger les sols contre l'érosion grâce à sa longévité et ses racines tenaces (Abdellaoui *et al.*). Le henné a été utilisé par de nombreuses ethnies pour teindre les cheveux, les ongles, les paumes des mains, les plantes des pieds et les visages et avait la réputation anti pelliculaire et anti séborrhéique. Il est aussi employé dans l'industrie pour ses propriétés tinctoriales, cosmétologiques et esthétiques. Les propriétés colorantes du henné sont dues à la présence de la lawsone (2-hydroxy-1,4-naphthoquinone) contenue dans ses feuilles. La plante contient également des terpénoïdes (effets antimicrobiens), des stérols, des dérivés aliphatiques, des xanthonnes (colorants jaunes au pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire), de la coumarine, des flavonoïdes, des acides gras, des acides aminés, des huiles essentielles et d'autres constituants. *Lawsonia inermis* possède également des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, antivirales, antiparasitaires, antifongiques, anti-inflammatoires, antidiabétiques, anticancéreuses, hépatoprotectrices et immunomodulatrices (Lemordant & Forestier, 1983).



Figure 2 : Présentation des plantes utilisées A arbre d'*Azadirachta indica* B feuilles de *Lawsonia inermis*