

Étude des propriétés fongicides de l'écorce des tiges de *Spondias mombin* L.

*KOUADIO Ahou Irène et YAPI Amin Paulin

Résumé

Spondias mombin L. est un arbre connu pour ses propriétés antimicrobiennes. Dans cette étude, l'extrait de l'écorce de ses tiges utilisé en médecine traditionnelle a été évalué pour son effet sur la croissance et la survie de trois espèces d'*Aspergillus* à savoir *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus nidulans* après purification de celui-ci par la méthode d'éthyle acétate. Les résultats obtenus montrent que la croissance radiale qui était de 90 mm sur le milieu sans la fraction antifongique est passée à 72,15; 55; 24,3 et 0 mm pour *A. nidulans*, 65,67; 40; 18 et 0 mm pour *A. fumigatus*, et 82,33; 54,17; 26,13 et 0 mm pour *A. flavus* après 7 jours d'incubation respectivement sur le milieu de culture à 1%, 2%, 3% et 4% de fraction antifongique. Au bout de ce même temps d'incubation, dans le milieu de culture à 4% de fraction antifongique où il a été noté une absence de croissance fongique, le pourcentage de réduction du réactif de l'Alamar Blue représentant le pourcentage de cellules survivantes était autour de 3%, 2% et 5% respectivement pour *A. nidulans*, *A. fumigatus*, et *A. flavus*.

Cet extrait de l'écorce des tiges a ainsi la capacité d'inhiber et de tuer les espèces fongiques contrairement à certains fongicides chimiques qui peuvent inhiber sans tuer les espèces fongiques. Nous pouvons donc conclure que l'utilisation de l'extrait de l'écorce des tiges de cet arbre comme fongicide naturel peut être une alternative à l'utilisation des fongicides chimiques qui sont toxiques pour l'homme, l'animal et l'environnement.

Mots clés : *Spondias mombin* L., écorce, fraction antifongique, espèces fongiques, viabilité cellulaire

Abstract

Study of the fungicidal properties of the stem bark of *Spondias mombin* L.

Spondias mombin L. is a tree known to possess antimicrobial properties. In this study, the stem bark extract used in traditional medicine was evaluated for its effect on the growth and survival of three *Aspergillus* species (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus nidulans*) after purification of this extract by the ethyl acetate method. The results obtained show that the radial growth which was 90 mm on the medium without the antifungal fraction rose to 72.15; 55; 24.3 and 0 mm for *A. nidulans*, 65.67; 40; 18 and 0 mm for *A. fumigatus*, and 82.33; 54.17; 26.13 and 0 mm for *A. flavus* after 7 days of incubation respectively on the culture medium at 1%, 2%, 3% and 4% of antifungal fraction. At the end of this same incubation time, it is noted that in the medium at 4% of antifungal fraction, where no fungal growth was observed, the percentage in reduction of the Alamar Blue reagent indicating the percentage of surviving cells, was around 3%, 2% and 5% respectively for *A. nidulans*, *A. fumigatus*, and *A. flavus*. The stem bark extract has thus the ability to inhibit and kill fungal species in opposite to some chemical fungicides which can inhibit fungi without killing them. We can therefore conclude that the use of the stem bark extract of this tree as a natural fungicide may be an alternative to the use of chemical fungicides that are toxic for human, animal and the environment.

Keywords: *Spondias mombin* L., bark, antifungal fraction, fungal species, cell viability

KOUADIO Ahou Irène

E-mail : irenekouadio@yahoo.fr

Téléphone : 00225 07250511 / 00225 40987331

Paulin Amin Yapi

E-mail: aminpaulin11@gmail.com

Téléphone : 00225 07146216

UFR Biosciences, Laboratoire de Biochimie et Sciences des Aliments (LABSA), Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

* Auteur Correspondant: irenekouadio@yahoo.fr

INTRODUCTION

De la production jusqu'à la consommation, les produits alimentaires peuvent être contaminés par des microorganismes (Heaton and Jones, 2008). Parmi ces microorganismes, figurent les moisissures qui font partie du groupe des mycètes qui arrivent au deuxième rang, juste après les insectes, pour l'ampleur des pertes qu'elles causent aux produits alimentaires

principalement d'origine végétale. Cette contamination par les moisissures peut conduire ainsi à une putréfaction d'aliments qui implique tout changement physico-chimique et rend les aliments impropres à la consommation humaine (Majumdar et al., 2018). Certaines moisissures sont également susceptibles de produire des poisons appelés mycotoxines (Steyn, 1995; Binder et al., 2007 ; Kouadio et al., 2013a). Ces poisons naturels peuvent avoir des effets aigus ou chroniques sur les humains et les animaux et ils ont été définis comme un problème majeur

de sécurité alimentaire (Kuiper-Goodman, 2004). Ils possèdent en effet, des propriétés cancérigènes, immunosuppressives, hépatotoxiques et tératogènes (Pfohl-Leskowitz A., and Castagnaro 1999; Ringot et al., 2006). Ces poisons sont généralement formés dans les aliments avant d'être mangés et ne peuvent être détectés par le goût, l'odeur ou la couleur. Des solutions doivent donc être trouvées afin de réduire voir annihiler cette contamination par les moisissures.

La première méthode de contrôle de cette contamination fongique est le respect des bonnes pratiques de production des denrées alimentaires qui ont été décrites et illustrées par Bucheli et Taniwaki, (2002). Cependant, le zéro risque de contamination est difficile à atteindre. Ainsi, de nombreux agriculteurs utilisent des fongicides chimiques pour empêcher la contamination des cultures par ces champignons. Cependant, les exigences concernant la sécurité de ces formulations ont été accentuées en raison des risques toxicologiques (Directive 91/414/CEE, 1991).

En outre, le grand public réclame une utilisation réduite des conservateurs chimiques et des additifs dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (Rouabhi, 2010). Par conséquent, l'utilisation de substances naturelles capables d'inhiber le développement des champignons ainsi que la production de mycotoxines serait d'une grande importance. La flore végétale ivoirienne regorge de plusieurs plantes qui possèdent de nombreuses activités biologiques qui pourraient être exploitées à cette fin. C'est le cas de *Spondias mombin* L., arbre de 12 à 25 m de haut appartenant à la famille des *Anacardiaceae*. Il possède un tronc recouvert d'écorce épaisse et rugueuse. Très répandue dans les pays tropicaux, *Spondias mombin* L. revêt une importance particulière du fait de ses vertus alimentaires et de ses nombreuses utilisations thérapeutiques (Adjanohoun et Aké-Assi, 1979; Arbonnier, 2002). En médecine traditionnelle, il est souvent utilisé dans le traitement de diverses affections telles que l'hypertension artérielle, la toux, la blennorrhagie, la carie dentaire, les vers intestinaux et les troubles gastro-intestinaux comme les maux de ventre, les douleurs d'estomac, la dysenterie et surtout la diarrhée (Bouquet et Debray, 1974; Ayoka et al., 2008). L'évaluation de l'effet de l'extrait des feuilles et de l'écorce de cet arbre sur des espèces bactériennes a révélé une activité antibactérienne intéressante (Maduka et al., 2014). Les activités antifongique et fongicide restent par ailleurs à explorer.

Les feuilles de cet arbre ayant montré un effet inhibiteur uniquement sur des espèces bactériennes, la présente étude a ainsi été réalisée afin d'évaluer l'activité antifongique de l'extrait de l'écorce de *Spondias mombin* L. pour une contribution à la recherche de substances naturelles pouvant être utilisées comme alternatives aux fongicides synthétiques qui ont des effets néfastes sur l'homme, l'animal et l'environnement.

MATERIEL ET METHODE

Matériel

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est composé d'écorce des tiges de *Spondias mombin* L. provenant du centre de la Côte d'Ivoire et de trois espèces d'*Aspergillus* fréquemment isolées sur divers produits alimentaires locaux. Il s'agit d'*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans* et *Aspergillus flavus* fournies par le laboratoire de parasitologie et de mycologie de l'Institut Pasteur à Abidjan (Côte d'Ivoire). Outre le fait que ces espèces soient fréquemment isolées sur des produits alimentaires, le choix de celles-ci est aussi dû au fait qu'en zone tropicale, les mycotoxines qui sont des métabolites toxiques sont produites principalement par les espèces du

genre *Aspergillus*. Le milieu de culture utilisé était le milieu Sabouraud au chloramphénicol.

Préparation de l'extrait de l'écorce des tiges

L'écorce des tiges a été broyée et 30 g de l'homogénat obtenu ont été ajoutés à 150 mL d'éthanol à 50% (V/V). Le mélange a été bouilli dans un bain-marie à 80 ° C pendant 1 heure sous agitation douce. Le mélange résultant a été centrifugé à 2000 tr / min pendant 10 min. Le surnageant a ensuite été filtré sur du papier Whatman. La solution résultante a été lyophilisée. Le lyophilisat obtenu a été dissout dans 15 mL d'eau distillée et agité jusqu'à dissolution totale. Afin de purifier l'homogénat obtenu et d'utiliser la fraction contenant les composés antifongiques, le procédé de purification par l'acétate d'éthyle a été utilisé. Cette purification de l'extrait a été réalisée en ajoutant à l'homogénat obtenu 15 mL d'acétate d'éthyle. Le mélange résultant a été agité pendant 1 min. et centrifugé à 2000 tr / min pendant 10 min. Une phase aqueuse et une phase d'acétate d'éthyle ont été obtenues. La phase d'acétate d'éthyle a été récupérée dans un nouveau tube.

Une quantité de 15 mL d'acétate d'éthyle a été ajoutée à la phase aqueuse restante. L'ensemble a été agité et centrifugé comme décrit ci-dessus. Cette purification a été faite trois fois. Les trois phases d'acétate d'éthyle ont été placées dans le même tube et la phase aqueuse dans un autre tube, puis les deux solutions obtenues ont été séchées sous hotte. Les résidus des phases aqueuse et d'acétate d'éthyle ont été dissouts respectivement dans un volume nécessaire (10 mL) d'eau distillée et d'acétate d'éthyle, puis filtrés séparément sur des membranes coupantes de 0,20 µm pour éliminer les résidus non dissouts et les contaminants éventuels. L'activité antifongique de ces fractions aqueuse et d'acétate d'éthyle a été évaluée afin d'utiliser celle contenant les composés antifongiques pour le test d'inhibition de la croissance fongique et de celui de la survie des espèces fongiques (Kouadio et al., 2011a).

Préparation des souches fongiques

Les souches d'*Aspergillus* ont étéensemencées sur la gélose Sabouraud au chloramphénicol pendant 3 jours. Les différentes suspensions de spores ont ensuite été préparées en transférant les spores issues des cultures dans 10 mL d'eau distillée stérilisée et filtrées sur du tissu Mira stérilisé. La concentration en conidies de chaque souche a été déterminée en les comptant dans un hémacytomètre et une dilution appropriée a été effectuée pour obtenir une concentration de 10⁶ spores / mL. Ces suspensions de 10⁶ spores / mL ont été utilisées pour les tests d'inhibition de la croissance fongique et de survie de ces espèces fongiques.

Evaluation des activités antifongiques des fractions obtenues après purification de l'extrait de feuilles par la méthode à l'acétate d'éthyle

Chaque suspension d'*Aspergillus* préalablement préparée a étéensemencée par étalement sur le milieu Sabouraud au chloramphénicol. Un disque de 1 cm de diamètre a été imprégné avec 100 µL de chaque fraction de l'extrait et déposé sur le milieu inoculé.

Chaque milieu avec le disque imprégné a été incubé à 30 ° C, température de croissance optimale pour *A. flavus* et à 37 ° C, température de croissance optimale pour *A. fumigatus* et *A. nidulans*. Le disque autour duquel aucune croissance fongique n'a été observée a été identifié comme étant celui imprégné par la fraction contenant les composés ayant une activité antifongique.

Suivi de la croissance fongique

La fraction contenant les composés antifongiques a été incorporée au milieu de culture pour obtenir des milieux de concentration de 1%, 2%, 3% et 4%. Chaque milieu a été coulé dans une boîte de Pétri et, après solidification, 10 µL de la suspension de spores ont été déposés de manière aseptique au centre de ce milieu de culture. Un milieu de culture sans fraction antifongique a également été inoculé. Pour chaque teneur en fraction antifongique, trois boîtes de pétri ont été inoculées et mises à incuber à différentes températures, comme décrit ci-dessus. La croissance radiale a été déterminée en mesurant chaque jour le diamètre de la colonie selon la méthode de Pitt, (1988). Cette expérience a été réalisée pendant 7 jours.

Test de l'évaluation de l'effet de la fraction antifongique sur la survie des espèces fongiques

L'expérience a été menée sur une période de 5 jours. Après chaque mise à incubation de 24 heures, 700 µL de Sabouraud au chloramphénicol liquide et 300 µL de réactif Alamar Blue ont été ajoutés dans chaque tube. La concentration finale du réactif Alamar Blue dans chaque tube à essai était de 10%. Ensuite, la suspension microbienne contenant le réactif Alamar Blue a été mise à incuber à 37 ° C pendant 4 heures. Le milieu de culture sans suspension microbienne mais contenant le réactif Alamar Blue a également été mis à incuber.

Après ce temps d'incubation, 100 µL de chaque suspension ont été placés dans des puits séparés d'une microplaque et l'absorbance a été déterminée à 570 nm en utilisant 600 nm comme longueur d'onde de référence dans l'appareil ELISA de Bio-Teck (Kouadio et al., 2013b).

Analyses statistiques des données

L'analyse statistique des données a été réalisée par une analyse de variance (ANOVA) en utilisant un niveau de signification de 5%. Le logiciel statistique utilisé est IBM SPSS Statistics version 20. Le test de comparaison multiple de Tukey a été utilisé pour identifier ces différences.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus montrent une absence de croissance autour des disques imprégnés par la fraction aqueuse (Figure 1). Les composés antifongiques sont donc hydrosolubles. Des travaux précédents ont également révélé que l'extrait de l'écorce possède des propriétés antimicrobiennes (Maduka et al. 2014). Cependant, ces auteurs ont plutôt évalué l'effet de l'extrait éthanolique sur la croissance de certaines bactéries et non sur la croissance des espèces fongiques.

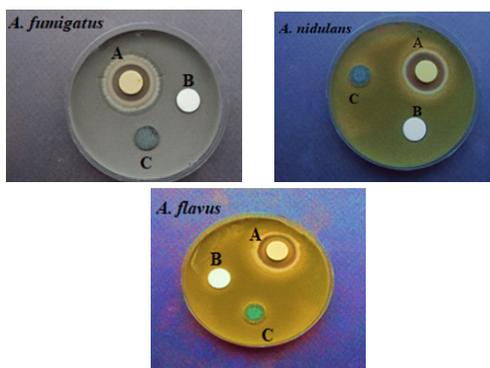


Figure 1. Effet de (A): la fraction aqueuse, (B): l'acétate d'éthyle et (C): la fraction éthyle acétate sur la croissance fongique

Cette fraction aqueuse contenant les composés antifongiques possède un effet inhibiteur dose dépendante sur la croissance des espèces fongiques traitées (Tableau 1). En effet, la croissance radiale qui était de 90 mm sur le milieu sans la fraction possédant l'activité antifongique (fraction antifongique) est passée à 72,15; 55; 24,3 et 0 mm pour *A. nidulans*, 65,67; 40; 18 et 0 mm pour *A. fumigatus*, et 82,33; 54,17; 26,13 et 0 mm pour *A. flavus* après 7 jours d'incubation respectivement sur le milieu de culture à 1%, 2%, 3% et 4% de fraction antifongique (Figure 2).

Tableau 1: Effet dose dépendante de la fraction antifongique de l'extrait de l'écorce de *Spondias mombin* L. sur la croissance fongique

Sous ensembles homogènes		Croissance radiale (mm)					
Tukey HSD		alpha = 0,05					
Teneur de la fraction antifongique dans le milieu de culture		N					
		1	2	3	4	5	
<i>A. fumigatus</i>	0%	3	90 ± 0,00				
	1%	3		65,67 ± 0,04			
	2%	3			40 ± 0,02		
	3%	3				18 ± 0,06	
	4%	3					0
	Signification		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
<i>A. nidulans</i>	0%	3	90 ± 0,00				
	1%	3		72,15 ± 0,01			
	2%	3			55 ± 0,11		
	3%	3				24,3 ± 0,03	
	4%	3					0
	Signification		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
<i>A. flavus</i>	0%	3	90 ± 0,01				
	1%	3		82,33 ± 0,22			
	2%	3			54,17 ± 0,04		
	3%	3				0,9143 ± 0,01	
	4%	3					0
	Signification		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

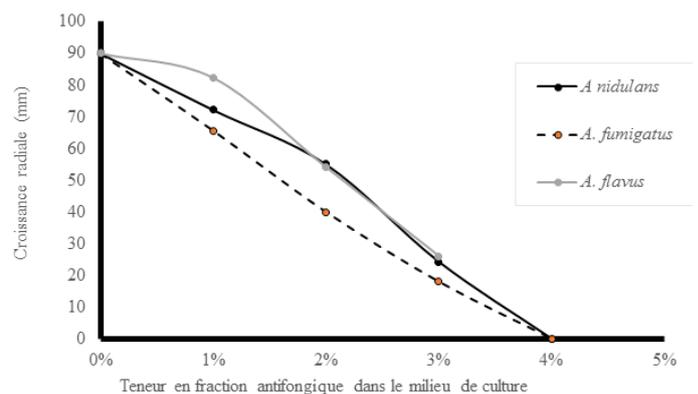


Figure 2: Effet de la fraction antifongique sur la croissance fongique au bout de 7 jours d'incubation

L'analyse effectuée a montré que les croissances observées sur les milieux de culture à différente teneur en fraction antifongique sont significativement différentes (P<0,05). Par ailleurs, à 4% de fraction antifongique dans le milieu de culture, une inhibition totale de la croissance a été observée. Cette teneur en extrait antifongique dans le milieu de culture est donc la concentration minimale inhibitrice (CMI). L'absence de la croissance observée sur le milieu de culture à 4% de fraction antifongique pourrait s'expliquer par l'absence de germination des conidies comme le montrent les résultats de l'observation microscopique effectuée (Figure 3). La majorité

des travaux précédents (Ajao et Shomukan 1985; Corthout et al., 1991, Abo et al., 1999; Maduka et al. 2014) ayant montré que l'extrait de l'écorce des tiges de cet arbre a principalement un effet antibactérien, l'effet antifongique observé dans cette présente étude, montre que l'écorce des tiges peut avoir un effet inhibiteur aussi bien sur les bactéries que sur les moisissures.

de cellules survivantes était de 73,16%, 69,061%, et 77,01% respectivement pour *A. nidulans*, *A. fumigatus*, et *A. flavus* au bout de la même durée d'incubation (Figure 4). Dans le milieu de culture ne contenant pas de fraction antifongique, le pourcentage de réduction du réactif Alamar Blue représentant le pourcentage de cellules survivantes était autour de 100%.

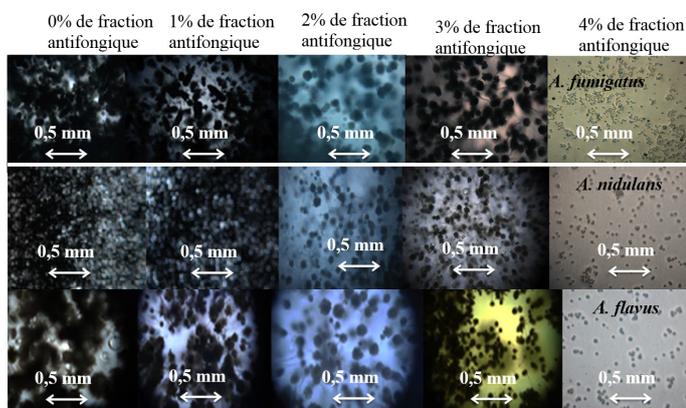


Figure 3: Effet de la fraction antifongique de l'extrait de l'écorce de *Spondias mombin* L. sur la germination des conidies

L'évaluation du pourcentage de réduction du réactif Alamar Blue représentant le pourcentage de cellules survivantes a également montré que la fraction antifongique exerce un effet fongicide dose dépendante sur les espèces fongiques testées (Tableau 2). En effet, dans le milieu de culture à 4% de fraction antifongique où il a été noté une absence de croissance fongique, le pourcentage de réduction du réactif de l'Alamar Blue représentant le pourcentage de cellules survivantes était autour de 3%, 2% et 5% respectivement pour *A. nidulans*, *A. fumigatus*, et *A. flavus* au bout 5 jours d'incubation tandis que dans le milieu à 1% de fraction antifongique, le pourcentage

Tableau 2: Effet dose dépendante de la fraction antifongique de l'extrait de l'écorce de *Spondias mombin* L. sur le pourcentage de réduction du réactif Alamar Blue par les espèces fongiques

Sous ensembles homogènes Tukey HSD	Pourcentage de réduction du réactif Alamar Blue						
	Teneur en fraction antifongique dans le milieu de culture	N	1	2	3	4	5
Alpha = 0.05							
<i>A. fumigatus</i>	0%	3	100				
	1%	3		69,06173 ± 0,164			
	2%	3			29,7287 ± 0,372		
	3%	3				3,56373 ± 0,188	
	4%	3					2,0996 ± 0,143
	Signification		1,000	1,000	1,000	0,461	
<i>A. nidulans</i>	0%	3	100				
	1%	3		73,156 ± 0,554			
	2%	3			32,1044 ± 0,440		
	3%	3				3,52139 ± 0,0958	
	4%	3					3,003 ± 0,183
	Signification		1,000	1,000	1,000	0,072	
<i>A. flavus</i>	0%	3	100				
	1%	3		77,00999 ± 0,4242			
	2%	3			38,735 ± 0,583		
	3%	3				8,574 ± 0,162	
	4%	3					5,05 ± 0,415
	Signification		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

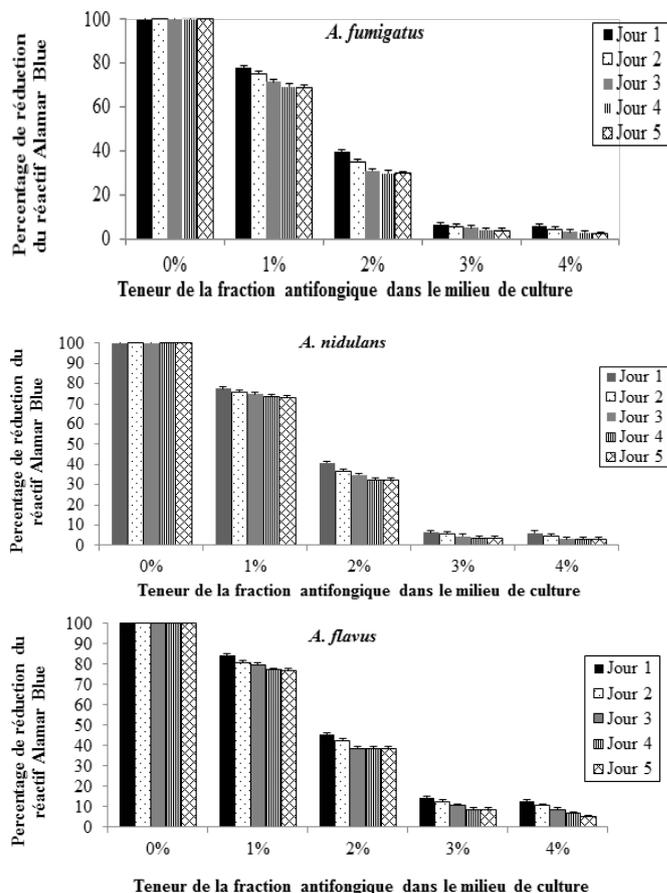


Figure 4: Effet de la fraction antifongique de l'extrait de l'écorce des tiges de *Spondias mombin* L. sur le pourcentage de réduction du réactif Alamar Blue par *A. fumigatus*, *A. nidulans* et *A. flavus*

tiges pourrait être due à sa richesse en polyphénols comme l'ont montré Maduka et al. (2014). D'autres plantes à savoir *Solanum indicum* L. *Lycopersicon esculentum* M. possèdent également la capacité d'inhiber et tuer les espèces fongiques (Kouadio et al., 2013a et b). Cela offre des perspectives intéressantes quant à l'utilisation de substances naturelles comme alternatives aux fongicides chimiques.

CONCLUSION

Cette étude a révélé que l'écorce des tiges de *Spondias mombin* L. possède des activités antifongiques importantes en raison de leur effet inhibiteur sur la prolifération des champignons et de leur capacité à les tuer. Il met en évidence la découverte d'extrait naturel qui pourrait être utilisé comme alternative aux fongicides chimiques dont certains peuvent inhiber la croissance des champignons sans les tuer comme l'a montré Rouabhi en 2010. Depuis de nombreuses années, cette plante a été utilisée aussi bien à des fins thérapeutiques qu'à des fins culinaires dans de nombreux pays africains sans aucun effet toxique noté à notre connaissance.

Par conséquent, afin d'éviter les risques toxicologiques pour l'environnement, l'animal et l'homme, dus à l'utilisation

de fongicides chimiques d'une part, et d'autre part, réduire l'utilisation d'agents de conservation et d'additifs chimiques dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, l'extrait de l'écorce des tiges peut être utilisé. Cet effet inhibiteur de l'écorce des tiges pourrait être dû à leur richesse en polyphénols. Des recherches supplémentaires doivent être menées sur ces polyphénols afin de confirmer ce fait.

Remerciements

Les auteurs remercient le laboratoire de parasitologie et de mycologie de l'Institut Pasteur à Abidjan (Côte d'Ivoire) pour les souches fongiques testées.

Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

REFERENCES

Abo KA, Ogunleye VO and Ashidi JS. 1999. Antimicrobial potential of *Spondias mombin*, *Croton zambesicus* and *Zygotritonia crocea*. *Phytotherapy Research*, 13:494-497.

Ajao AO and Shonukan O. 1985. Antibacterial effect of aqueous and alcohol extracts of *Spondias mombin* and *Alchomea cordifolia*: 2 local antimicrobial remedies. *International Journal of crude drug Research*. 23: 67-72.

Adjanohoun EJ, Aké-Assi L. 1979. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte-d'Ivoire. Centre national de floristique de l'université nationale de Côte-d'Ivoire 1, Abidjan, Côte-d'Ivoire, pp. 21-2.

Arbionnier M. 2002. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches de l'Afrique de l'Ouest. 2e édition. Cirad-MNHN, pp. 154-5.

Ayoka AO, Akomolafe RO, Akinsomisoye OS, Ukponmwan OE. 2008. Medicinal and economic value of *Spondias mombin*. *African Journal of Biomedical Research*, 11: 129-36.

Binder EM, Tan LM, Chin LJ, Handl J & Richard J 2007. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities feeds and feed ingredients. *Animal Feed Science and Technology*, 137: 265-282.

Bouquet A, Debray M. 1974. Plantes médicinales de la Côte-d'Ivoire. *Orstom Paris* 32: 15-6.

Bucheli P, and Taniwaki MH. 2002. Research on the origin, and on the impact of post-harvest handling and manufacturing on the presence of Ochratoxin A in coffee. *Food Additives & Contaminants*, 19(7):655-665.

Corthout J, Pieters LA Claeys M, Vanden Berghe DA and Viletinck AJ. 1991. Antibacterial and molluscicidal phenolic acid from *Spondias mombin*. *Planta medica*, 60:460-463.

Directive 91/414/CEE du Conseil du 15 juillet 1991 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques. *Official Journal*, L 230 du 19.8.1991 1.

Heaton JC, Jones K. 2008. Microbial Contamination of Fruit

and Vegetables and the behaviour of Enteropathogens in the Phyllosphere, A Review. *Journal of Applied Microbiology*, 104:613-626. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03587.

Kouadio AI, Oulahal N, Nguyen Thi P, Adt I and Degraeve P. 2011. Study of the antimicrobial activities of *Solanum indicum* ssp. *Distichum* (Schumach. and Thonning 1827) fruits ("gnangnan" berries) from a tropical humid zone (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(3): 1190-1200. ISSN 1991-8631.

Kouadio IA, Koffi LB, Dosso MB. 2013a. Prevention of crops contamination by fungi and mycotoxins using natural substances derived from *Lycopersicon esculentum* Mill. *Leaves*. *Journal of Food Security* 1(2):16-26. DOI:10.12691/jfs-1-2-2.

Kouadio IA, Lee Mi-K, Han K-H, Yu J-H. Effect of *Solanum indicum* L. Green Berries Extract on Proliferation and Survival of *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flavus*, and *Aspergillus fumigatus*. 2013b. *American Journal of Food Science and Technology*, Vol. 1, No. 3, 50-59. DOI:10.12691/ajfst-1-3-8.

Kuiper-Goodman T. 2004. Risk assessment and risk management of mycotoxins in food. In: *Mycotoxins in food Detection and control*, Magan N. and Olsen M. (eds). Cambridge, England. Woodhead Publishing Limited, 3-31.

Maduka HCC, Okpogba AN, Ugwu CE, Dike CC, Ogueche PN, Onwuzurike DT, and Ibe DC. 2014. Phytochemical, antioxidant and microbial inhibitory effects of *Spondias mombin* leaf and stem bark extracts. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, 9(2): 14-17. e-ISSN: 2278-3008, p-ISSN:2319-7676.

Majumdar A, Pradhan N, Sadasivan J, Acharya A, Ojha N, Babu S, and Bose S. 2018. Food Degradation and Foodborne Diseases: A Microbial Approach. *Microbial Contamination and Food Degradation*, 109-148.

Pfohl-Leszkowiz A, and Castegnaro M. 1999. "L'ochratoxine A, In: Pfohl-Leszkowiz A, "Ed., Les Mycotoxines dans L'Alimentation: Evolution et Gestion des Risques", Lavoisier Paris, 249-277.

Pitt JI. 1988. A laboratory guide to common *Penicillium* species, *Tingalpa Food Science*, 197 p.

Ringot D, Chango A, Schneider YJ, Larondelle Y. 2006. Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chemico-Biological Interactions*, 159(1):18-46.

Rouabhi R. 2010. Introduction and Toxicology of Fungicides. Odile Carisse (Ed.), ISBN: 978-953-307-266-1. Intech (14) Brul S, Coote P Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food and Microbiology*, 50: 1-17.

Steyn PS. 1995. Mycotoxins, general view, chemistry and structure. *Toxicology Letters*, (82): 843-851.