

UNIVERSITE DE KISANGANI
FACULTE DES SCIENCES

**Département des
Sciences Biotechnologiques**



B.P :2012
KISANGANI

**EVALUATION DE LA SENSIBILITE DES
SOUCHES DE *Mycosphaerella fijiensis* AUX
EXTRAITS DE QUELQUES PLANTES
MEDICINALES DE LA REGION DE KISANGANI
(RD CONGO)**



Par

Stéphane **TSHOMBA ODIMBA**

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de licence en
Sciences

OPTION : Biologie

ORIENTATION : Sciences biotechnologiques

DIRECTEURS : Pr J.P ETOBO KALUNGA

Dr Didy ONAUTSHU ODIMBA

Année académique 2013 - 2014

Deuxième session

RESUME

EVALUATION DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES DE *MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS* AUX EXTRAITS DE QUELQUES PLANTES MEDICINALES DANS LA REGION DE KISANGANI (RD CONGO)

Dans le but de tester la sensibilité des extraits de quelques plantes médicinales sur les souches de *Mycosphaerella fijiensis*, agent causal de la maladie des raies noires du bananier, une étude a été réalisée dans la région de Kisangani. Dans cette étude, les extraits bruts concentrés, éthanoliques et étherés de *Mitracarpus scaber*, *Spermacoce latifolia* et *Synedrella nodiflora* ont été testés sur les souches de *M. fijiensis* en vue de sélectionner celles qui pourraient être utilisées dans la lutte contre la cercosporiose noire du bananier dans la région de Kisangani.

Les extraits bruts aqueux ont été obtenus conformément au mode de préparation des tradipraticiens tandis que les extraits éthanoliques et étherés ont été obtenus par la méthode d'extraction à l'aide de l'éthanol à 70 % et de l'éther de pétrole. L'activité antifongique a été déterminée selon la méthode de l'inhibition de la croissance mycélienne sur boîte de Pétri en milieu solide. Le logiciel R nous a permis de réaliser le test d'Anova.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits concentrés de *Mitracarpus scaber* et de *Synedrella nodiflora* Zucc ont présentés une très faible sensibilité à la croissance mycélienne par rapport au *Spermacoce latifolia* qui a ralenti la croissance mycélienne de *M. fijiensis*. Par ailleurs, les extraits éthanoliques de *Mitracarpus scaber* ont montré une croissance nulle contrairement à la croissance de *Synedrella nodiflora*. Ceci suggère qu'elle pourrait être utilisée pour lutter contre cette maladie. Enfin, les extraits étherés de *Mitracarpus scaber* et *Synedrella nodiflora* ont présentés une très faible activité contrairement à *Spermacoce latifolia*. Les recherches ultérieures approfondies sont à encourager dans le but de disposer aux cultivateurs des produits naturels efficaces et moins couteux pour lutter contre la cercosporiose noire dans la région de Kisangani.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF SENSITIVITY OF THE STRAINS OF *MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS* TO THE EXTRACTS OF SOME MEDICINAL PLANTS IN THE AREA OF KISANGANI (DRC)

With an aim of testing the sensitivity of the extracts of some medicinal plants on the strains of *Mycosphaerella fijiensis*, causal agent of the black sigatoka, a study was carried in the area of Kisangani. In this study, the concentrated rough extracts, ethanolic and ether of *Mitracarpus scaber*, *Spermacoce latifolia* and *Synedrella nodiflora* were tested on the strains of *M. fijiensis* in order to select those which could be used in the fight against the black sigatoka the banana tree in the area of Kisangani.

The aqueous rough extracts were obtained in accordance with the mode of preparation of the tradipraticians while extracts ethanolic and ether were obtained by the method of extraction using ethanol with 70% and of ether of oil. The antifongic activity was given according to the method of the inhibition of the mycelial growth on limps of Petri in solid medium. The software R enabled us to carry out the test of Anova.

The results obtained showed that the concentrated extracts of *Mitracarpus scaber* and *Synedrella will nodiflora* Zucc had a very low sensitivity to the mycelial growth compared to *Spermacoce latifolia* which slowed down the mycelial growth of *M. fijiensis*. In addition, the extracts ethanolic of *Mitracarpus scaber* showed a null growth contrary to the growth of *Synedrella will nodiflora*. This suggests that it could be used to fight against this disease. Lastly, the éthérés extracts of *Mitracarpus scaber* and *Synedrella nodiflora* presented a very weak activity contrary to *Spermacoce latifolia*. Thorough later research is to be encouraged with an aim of laying out with the farmers of the effective and less expensive natural products to fight against the black cercosporiose in the area of Kisangani.

INTRODUCTION

1. PROBLEMATIQUE

Les maladies et les ravageurs de *Musa* causent de problèmes majeurs dans le monde entier et constituent une menace grandissante pour les petits et grands producteurs pouvant provoquer de pertes catastrophiques. Ces maladies affectent toutes les parties d'une plante et sont causées par des champignons, des bactéries et divers autres germes (JONES, 2000).

L'utilisation systémique des fongicides luttent efficacement contre la maladie des raies noires dans les plantations commerciales, mais leurs effets sur l'environnement sont préoccupants. La fréquence élevée d'émission foliaire des bananiers a pour conséquence des applications fréquentes de fongicides afin de réduire le nombre annuel de traitements et diminuer les risques d'apparition de souches de *Mycosphaerella fijiensis* et *Mycosphaerella musicola* résistantes aux fongicides et ceux derniers ont développé une résistance à certains de ces produits dans les caraïbes et en Amérique centrale.

La lutte contre la MRN est essentiellement chimique. Cependant, cette méthode de lutte a un coût élevé et la fréquence d'application entraîne l'apparition des souches résistantes aux fongicides. En plus, l'impact des traitements a des profondes répercussions sur l'environnement et sur la santé humaine (ANONYME, 2010). L'agent pathogène a un potentiel élevé d'adaptation à des conditions nouvelles de climat, fongicides ou de génotypes de la plante hôte (PLOETZ et PEGG, 2000). Ceci est amplement démontré par la perte d'efficacité de certains groupes de fongicides chimiques tels que les triazoles et benzimidazoles utilisés dans la lutte chimique (GUZMAN *et al.*, 2000 ; ROMERO, 2000). La solution la plus appropriée à long terme est certainement la résistance génétique, surtout pour les petits exploitants qui ne peuvent avoir accès à une lutte chimique pour des raisons économiques (MOURICHON *et al.*, 1987)

La recherche de nouveaux produits d'origine naturelle ne polluant pas l'environnement et disponible à moindre coût représente un élément important de l'agriculture durable (SANCHEZ RODRIGUEZ *et al.*, 2002). Actuellement, des chercheurs et producteurs travaillent ensemble pour développer des solutions alternatives et innovantes permettant de réduire l'utilisation des pesticides dans la protection des bananeraies (ANONYME, 2010). C'est ainsi que les analyses ou les études sur l'activité antifongique de quelques plantes médicinales doivent être réalisées au préalable avant leurs utilisations

suivies de l'identification de groupes phytochimiques qu'elles contiennent et surtout la détermination de molécules responsable de l'activité.

C'est dans ce cadre que nous proposons de mener notre étude sur l'évaluation de l'activité antifongique de quelques plantes qui peuvent avoir des propriétés pharmacologiques contre les souches de *Mycosphaerella fijiensis*.

2. HYPOTHESES

Compte tenu de leurs utilisations par certaines populations comme médicament, nous supposons que nos différentes plantes contiennent les principes actifs. Voici les hypothèses émises :

- Les extraits aqueux concentrés auraient une activité inhibitrice sur les souches de *Mycosphaerella fijiensis* ;
- Les extraits éthanoliques, éthers réagiraient à divers degré ;
- Les différents extraits utilisés réagiraient à de degrés différents sur les souches.

3. OBJECTIFS

3.1. Objectif général

La présente étude a pour objectif général de contribuer à la connaissance de l'activité antifongique des extraits de quelques plantes médicinales utilisées dans le traitement des certaines affections dans la région de Kisangani.

3.2. Objectifs spécifiques

Le présent travail s'est fixé comme objectifs spécifiques :

- Tester l'activité antifongique des extraits aqueux concentrés de quelques plantes utilisées par les tradipraticiens ;
- Tester les extraits éthanoliques et éthers sur les souches de *Mycosphaerella fijiensis* *in vitro* ;
- Comparer l'activité des différents extraits de plantes utilisées sur ces souches.

4. INTERET

Ce travail a un double intérêt notamment :

- Contribuer à la connaissance des substances naturelles actives sur les agents fongiques courants dans notre pays, sur le plan scientifique ;
- S'inscrire dans le cadre de conservation et de la valorisation de la biodiversité végétale de la région de Kisangani enfin d'élargir des recherches sur les plantes médicinales, sur le plan pratique.

5. TRAVAUX ANTERIEURS

Sur cette étude, il n'ya pas de travaux effectués ici à Kisangani. Néanmoins à Kinshasa, Mukendi (2011) a travaillé sur efficacité de deux extraits de plantes à action biocides (*Tephrosia vogelii* et *Zingiber officinale*) sur la croissance *in vitro* de *Mycosphaerella fijiensis*, agent causal de la maladie des raies noires du bananier.

6. SUBDIVISION

Hormis l'introduction et la conclusion, le présent travail comporte trois chapitres :

- Le premier chapitre traite des généralités ;
- Le second s'attèle au matériel et méthodes ; et
- Le troisième est consacré aux résultats et à la discussion.

CHAPITRE PREMIER : GENERALITES

1.1. PLANTES MEDICINALES

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans les synthèses des drogues utiles, ceux - ci regroupent les propriétés thérapeutiques et les composants ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales mais qui n'ont pas encore fait l'objet d'une étude scientifique consciencieuse (BONGENDE, 2003)

L'organisation mondiale de la santé (OMS) a depuis 1980 fait un inventaire des plantes médicinales connues dans 90 pays et en a dénombré environ 20 milles espèces (CHRISTIANE, 1985). Cela veut dire que chaque plante ayant une réputation pharmaceutique doit faire l'objet d'une étude spéciale.

Actuellement la voie de recherche passe par l'isolement des principes actifs, la détermination de leur structure et la préparation par synthèse ou héli - synthèse des ces principes actifs. Pour cela, deux sciences entrent en jeu :

- L'éthnopharmacognosie : qui est la recherche des plantes à action thérapeutique. Les enquêtes ont permis d'inventorier un très grand nombre de végétaux dont la répartition est établie par la médecine populaire.

- La chimio taxinomie : c'est-à-dire la classification des espèces en fonction de la structure de leurs constituants chimiques. Elle s'appuie sur des techniques physico - chimiques récentes, analysant les composants et leurs métabolites qui peuvent être spécifiques d'une famille, d'un genre, d'une espèce végétale (CHRISTIANE, 1985).

Bref, quoiqu'il en soit, et depuis la nuit de temps, les plantes médicinales sont la base de l'arsenal des toutes les médecines.

1.2. MEDECINE TRADITIONNELLE

Il n'est pas aisé de définir une médecine traditionnelle compte tenu de la diversité de la complexité des éléments biologiques et socio - culturels qui interviennent dans son fonctionnement au sein d'une société (WOME, 1985). Cela implique des enquêtes sur les conceptions locales des maladies et leurs causes, sur la dénomination de maladies dans les langues vernaculaires, sur les divers types de thérapeutes et formes de thérapie.

Selon la définition officielle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS en sigle), la médecine traditionnelle se rapporte aux pratiques, méthodes, savoirs et croyances en matière de santé qui impliquent l'usage à des fins médicales de plantes, de parties d'animaux et de minéraux, de thérapie spirituelles, de techniques et d'exercices manuels en utilisant séparément ou en association pour soigner, diagnostiquer et prévenir les maladies ou préserver la santé(OMS, 2007). Mais, on peut dire que la médecine traditionnelle est une médecine globalisant en face d'une maladie, elle envisage une démarche qui tient compte à la fois des dimensions corporelles ou physiques et psycho-sociales de patient et de sa famille (WOME, 1985). Cette médecine englobe deux systèmes, le premier s'apparente à la phytothérapie qui signifie traitement des maladies par les plantes ; le second s'apparente à la psychothérapie (WOME, 1985).

Du point de vue historique, la médecine traditionnelle est vieille comme le monde. Vouloir reconstituer les grandes lignes évolutives qui ont marqués l'histoire de cette médecine est une tâche difficile ; cette reconstitution suppose une révision complète des moments qui ont dominé la civilisation africaine. Néanmoins, certains documents anciens nous apprennent qu'aux alentours de 1555 avant Jésus – Christ un papyrus Egyptien découvert par EBER est le plus ancien texte connu qui donne les formules pharmaceutiques (WOME, 1985).

Les premiers travaux sur les plantes médicinales et utiles de la République Démocratique du Congo remontent en 1894 et ont été réalisés par DEWEVRE qui publia successivement les " Strophantus du Congo" et les "plantes utiles du Congo Belge", puis de 1891 à 1924 par R.P. WELLENS qui publia des notes sur des plantes médicinales utiles du Mayumba (MABIKA, 1983). C'est à partir de 1975 que débute le projet de recherche sur la médecine traditionnelle en République démocratique du Congo.

En fait, la médecine traditionnelle, une de nos potentialités culturelle, avait sa place bien marquée dans la vieille civilisation Africaine. Celle – ci constitue un véritable patrimoine dont il faut rechercher et conserver les traces par tous les moyens à notre disposition (WOME, 1985).

Dans ce même ordre d'idée, les questions ont été posés à un échantillon moyen de la population française et ont montré non seulement l'intérêt que le public attache à l'auto médication par les plantes mais aussi le crédit dont continuent à jouir les guérisseurs locaux ; 81 % des personnes interrogées se sont prononcées en faveur de la médecine par les plantes et 5 % seulement l'estimaient dépassée (PELT, 1986). Il a été démontré qu'en

Afrique, les plantes médicinales représentent un véritable remède thérapeutique pouvant soigner dans certains cas plus de 90 % de la population (BONGENDE, 2003).

1.2.1. Phytothérapie

La phytothérapie est une médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des extraits de plantes et les principes actifs naturels de plantes (Valnet, 1985). Cette utilisation des plantes en thérapeutique (phytothérapie) est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser de plantes entières ou des produits d'extraction qu'elles fournissent.

Actuellement, l'intérêt pour la phytothérapie se trouve par tout dans le monde (DE SOUZA *et al.*, 1993).

La valorisation des plantes médicinales est une préoccupation majeure de nombreux chercheurs des pays du sud, car une grande partie de la population recourt largement à la médecine traditionnelle. Souvent, les gens n'ont pas d'autres choix compte tenu du prix élevé de médicaments ou de l'impossibilité de consulter un médecin (ADJANOHOUN *et al.*, 1989). On peut la distinguer en trois types de pratiques :

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne, basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Selon OMS, cette thérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est le plus souvent une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique.

- Une pratique basée sur les avancées et preuves scientifiques qui recherchent des extraits actifs dans les plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. Cette pratique débouche souvent les cas sur la fabrication de médicaments pharmaceutiques ou phyto-médicaments, et selon la réglementation en vigueur dans le pays, leur circulation est soumise à l'autorisation de mise sur le marché pour les produits finis, et à la réglementation sur les matières premières à l'usage pharmaceutique pour les préparations magistrales de plantes médicinales, celles – ci étant délivrées exclusivement en officine. On parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique.

- Une pratique de prophylaxie déjà utilisée dans l'antiquité. Nous sommes tous phytothérapeutes sans le savoir : c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage de la ciboulette, de l'ail, du thym, du gingembre ou simplement du thé vert... Une alimentation

équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique (Zahalka, 2005).

1.3. La cercosporiose noire du bananier

1.3.1. Origine et distribution

La cercosporiose noire du bananier ou maladie des raies noires (MRN) ou encore Sigatoka noire est une maladie fongique foliaire causée par *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Elle est considérée comme la maladie la plus dévastatrice des bananiers (LASSOUDIERE, 2007) et la plus importante sur le plan économique (PENNISI, 2010). Le champignon responsable est un ascomycète appartenant à la classe des Dothideomycètes et à la famille des Mycosphaerellaceae. La MRN a été identifiée pour la première fois dans l'île de Vitu Levu de la République des îles Fiji en 1963 (RHODES, 1964).

La MRN cause des dégâts importants dans les cultures des bananiers et bananiers plantains dans le monde (STOVER, 1989 ; GANRY, 1992 ; GAUHL *et al.*, 1993). Au cours des dernières décennies, *M. fijiensis* s'est répandu de manière globale à travers presque toute l'aire de culture des bananiers y compris les zones subtropicales car il est capable d'attaquer (ou infecter) presque tous les types de bananes comestibles (dessert et cuire) en raison du manque de résistance (JONES, 2009 ; PLOETZ, 2001).

Cette maladie a remplacé progressivement la cercosporiose jaune (maladie de Sigatoka, MS) causée par un champignon du même genre, *M. musicola*, en Asie et en Amérique centrale, en raison de sa virulence plus grande et du spectre d'hôtes plus large. Celui-ci inclut non seulement les bananes dessert, mais aussi les bananiers plantains et à cuire qui ne sont pas affectés par la cercosporiose jaune.

En Afrique, cette maladie a été rapportée une première fois en Zambie en 1973. Elle a aussi été identifiée au Gabon en 1978. En Afrique de l'Est, la MRN a été rapportée au Kenya en 1998 (KUNG'U *et al.*, 1992), au Rwanda en 1986 (SEBAGIRI, 1990), au Burundi en 1987 (SEBAGIRI et STOVER, 1988), en Ouganda en 1990 (TUSHEMEREIRWE et WALLER, 1993) et au Malawi en 1990 (PLOETZ *et al.*, 1992) (MOURICHON, 2003). Elle a été signalée en RDC par Mourichon en 1986. Des études épidémiologiques menées à Kinshasa (MOBAMBO, 2002) et à Kisangani (ONAUTSHU, 2007) ont confirmé la présence de cette maladie en RDC.

Les pertes de rendement attribuables à la MRN ont progressivement augmenté de plus de 50 % (CORDEIRO et PIRES DE MATOS, 2003 ; PLOETZ, 2001).

Le contrôle chimique de la maladie dans les plantations commerciales a augmenté les coûts de production jusqu'à 1800 \$ par hectare (MARIN *et al.*, 2003), ce qui n'est pas abordable pour les petits producteurs des pays en développement.

1.3.2. Symptômes

La cercosporiose noire du bananier est caractérisée par des tâches foliaires arrondies à elliptiques, brun-foncé ou noirâtre qui peuvent atteindre 1,5 à 2 centimètres de long. En vieillissant, leur centre devient grisâtre, limité par une bordure foncée et parfois entourée d'un halo jaunâtre. La confluence de ces tâches ou la nécrose des tissus les séparent entraînant la formation des larges plages desséchées, brunâtres (souvent plus étendues vers l'extrémité de la feuille et qui progressent depuis les bords du limbe vers la nervure centrale). Les feuilles fortement atteintes couvrant le pseudo-tronc occasionnent la pourriture de la base des pétioles. En phase végétative, ces symptômes ne sont généralement pas visibles qu'à partir de la 4ème ou de la 5ème feuille et leur sévérité s'accroît avec l'âge de la feuille (STEWART *et al.*, 1999).

La maladie des raies noires est plus virulente. Elle s'est introduite en Afrique au début des années 1970 et menace actuellement la production bananière dans le monde entier. Elle s'attaque également aux bananiers plantains et les bananiers d'altitude étant donné sa virulence.

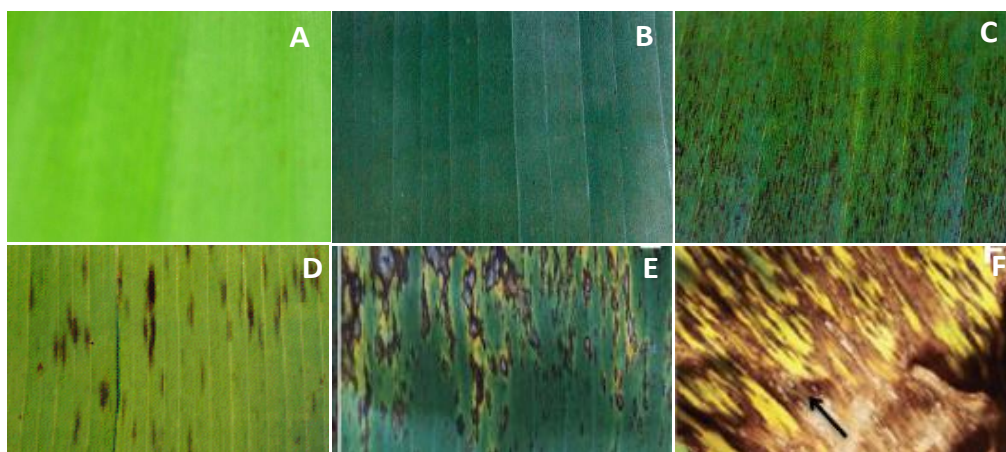


Figure 1. Description des stades de développement de la cercosporiose noire en champs d'après Fouré (1982). A = Stade 1 : Décolorations et ponctuations brunes de moins de 0,5 mm sur la surface inférieure de la feuille ; B = Stade 2 : Raies brunes rouillées inférieures à 4 mm et visible sur les deux faces ; C = Stade 3 : Raies allongées et élargies ; D = Stade 4 : Taches brun-noir elliptiques ; E = Stade 5 : Taches brun-noir entourées d'un halo jaune ; F = Stade 6 : Taches desséchées virant au gris avec en son centre des points noirs qui

correspondent aux fructifications du pathogène (Source : adapté de CHURCHILL *et al.*, 2011).

1.3.4. L'agent pathogène : systématique et biologie

L'agent causal de la MRN du bananier est *Mycosphaerella fijiensis* Morelet.

Ce champignon appartient au Phylum des Ascomycota, Classe des Dothideomycètes, Sous-classe des Dothideomycetidées, Ordre des Capnodiales, Famille des Mycosphaerellaceae, Genre *Mycosphaerella* (CHURCHILL, 2011). *M. fijiensis* est un champignon hétérothallique (plusieurs types de thalles) qui se reproduit de façon sexuée et asexuée (FAHLESON *et al.*, 2009). La forme asexuée (anamorphe) est appelée *Paracercospora fijiensis* (CROUS, 2009 ; CROUS *et al.*, 2003, 2009 ; STEWART *et al.*, 1999). Le cycle sexuel joue un rôle épidémiologique important pour la survie et la dispersion des populations fongiques. Le champignon a été décrit pour la première fois en 1969 sur les spécimens en provenance de Fiji par Morelet.

La maladie aurait été introduite en Afrique via l'importation de plantes infectées en provenance d'Asie. La maladie se serait ensuite disséminée vers le Cameroun, la Côte d'Ivoire, la RDC, le Nigeria et le Ghana. D'après CARLIER *et al.* (2000), une deuxième source d'inoculum serait responsable de la dissémination de la maladie au niveau de la côte Est de l'Afrique où la maladie a d'abord été détectée dans l'île de Pemba en 1987, d'où la maladie se serait ensuite rapidement disséminée vers l'île de Zanzibar, puis sur le continent en Tanzanie (DABEK et WALLER, 1990).

1.4. Epidémiologie

1.4.1. Cycle infectieux et développement

M. fijiensis développe un cycle infectieux haplo biotique (AGRIOS, 2005) qui comprend quatre phases: l'infection, l'incubation et latence correspondant au début de la colonisation des tissus, la sporulation suivie de la formation de propagules infectieuses, et la dissémination de l'inoculum secondaire (Figure 2).

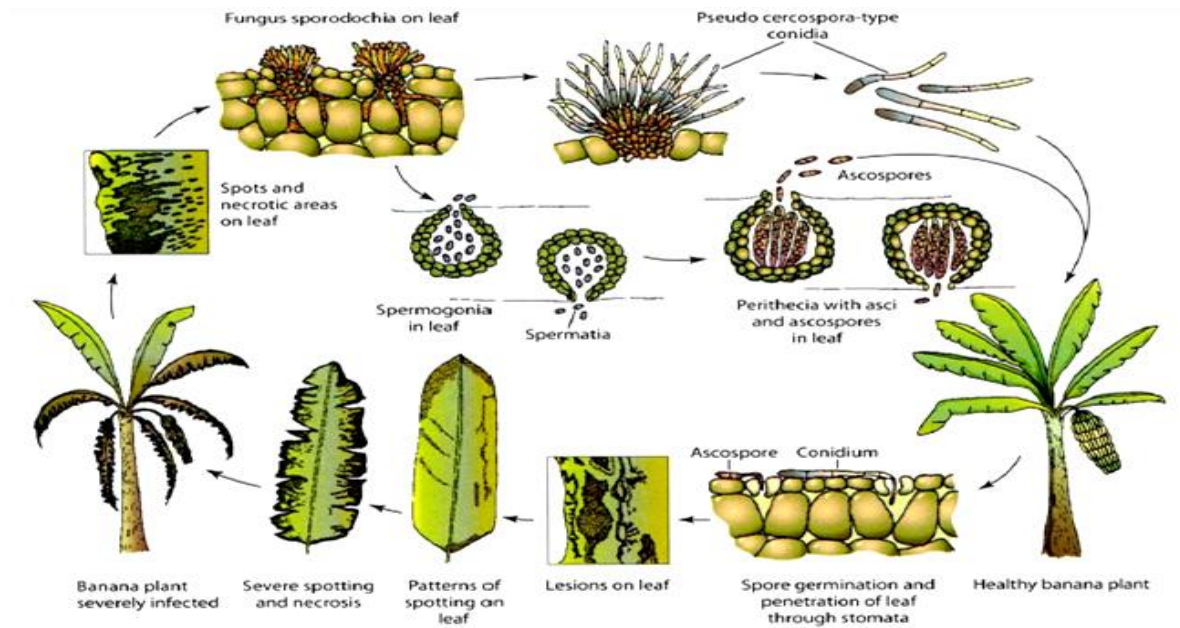


Figure 2. Représentation schématique du Cycle infectieux de *M. fijiensis* (AGRIOS, 2005).

M. fijiensis est un champignon hétérothallique produisant des propagules infectieuses de deux types : des ascospores ou des conidies par voie de reproduction sexuée ou asexuée respectivement. Ces propagules sont responsables de la survie et de la dispersion de la maladie. Pour produire la forme sexuée, le champignon développe des spermogonies, plus abondants à la face axillaire des feuilles. Les spermaties sont hyalines, produites dans des spermogonies, fertilisent des hyphes récepteurs femelles (trichogynes) qui ensuite évoluent en pseudothèces. Les asques sont oblongs et contiennent huit ascospores. Le cycle asexué est réalisé par l'anamorphe *Paracercospora fijiensis* et produit des conidies.

La MRN se disperse principalement par les ascospores et les conidies. Ces propagules sont formées dans des conditions d'humidité saturante, principalement lorsque des films d'eau apparaissent sur les feuilles contrairement aux conidies, les ascospores sont formées dans des pseudothèces présents sur les vieilles feuilles de bananier ou bien sur les feuilles mortes posées à même le sol (Marin *et al.*, 2003). Les ascospores sont dispersées par le vent et sont projetées violemment suite au dessèchement du périthèce, elles sont donc responsables de la dissémination à longue distance. Quant aux conidies, elles sont généralement le moyen de dispersion locale vu qu'elles sont disséminées par les pluies. Les infections par les ascospores ou les conidies produisent le même type de taches et de développement subséquent de la maladie.

1.4.2. Effet des facteurs biotiques et abiotiques

L'existence d'interactions entre certains facteurs climatiques (humidité relative, température et précipitations auxquelles il faudrait associer éventuellement le couvert végétal) et l'activité de *M. fijiensis* conditionne l'incidence et la gravité de la maladie (MARTINEZ *et al.*, 2002). La libération des ascospores dépend fortement d'eau résiduelle à la surface des feuilles pendant la saison de pluies. Les ascospores sont éjectées des périthèces présents à la face inférieure des feuilles infectées de nécroses au stade 6 après humectation. Les feuilles sèches supposées détruites par l'infection, collées à la plante constituent une excellente source d'inoculum dans les conditions favorables à l'infection (GAUHL, 1994).

Quant à la température de croissance, plusieurs auteurs estiment que les ascospores germent entre 10 et 38°C avec un optimum de 27°C et un minimum de 20°C (PEREZ, 1997). Pour ce qui est du vent, il a été observé qu'il constitue le véhicule par excellence pour la propagation des conidies ou des ascospores tant dans les plantations qu'en distance (STOVER *et al.*, 2002).

La cercosporiose noire attaque une large gamme de cultivars de bananier plantain (AAB) et bananier (AAA). Mais la gravité de la maladie dépend non seulement des conditions de l'environnement mais aussi de l'intensité de l'infection, de la « virulence des souches » de *M. fijiensis* et du degré de sensibilité ou de résistance de la variété (ORELLANA *et al.*, 2002).

1.5. Lutte contre la cercosporiose noire du bananier

La maladie de raies noires (MRN) est la plus destructrice des maladies foliaires chez les bananiers et bananiers plantains. Les effets combinés de *M. fijiensis*, des ravageurs et du déclin de fertilité du sol sont aussi capables de réduire le rendement de 93% (MOBAMBO, 2002). La lutte contre la maladie des raies noires fait intervenir différentes techniques de lutte telles que les pratiques culturales, la lutte chimique, la lutte biologique et l'utilisation des variétés résistantes. Ces méthodes de lutte sont employées simultanément dans une approche intégrée de la lutte encore en développement dans différentes zones de production de bananes. Cette approche intégrée de la lutte vise à minimiser la composante chimique en plantations commerciales et à développer une stratégie adaptée à la production paysanne (MOURICHON, 2003).

1.5.1. Pratiques culturales

Les pratiques culturales visent généralement à réduire le niveau d'inoculum et l'humidité relative dans les plantations. A cet effet, pour réduire le taux d'inoculum, les zones nécrotiques des feuilles ou les feuilles entièrement nécrosées sont excisées puis déposées à même le sol pour accélérer leur décomposition. Par ailleurs, MOBAMBO (2002) rapporte que plus la fertilité n'est élevée, plus la sévérité de la cercosporiose noire n'est faible. Ceci suggère qu'une gestion adéquate de la matière organique est essentielle pour la production durable du bananier plantain, permettant de minimiser la sévérité de la cercosporiose noire.

1.5.2. Lutte biologique

Aucune méthode de lutte biologique n'a encore été adoptée dans les plantations commerciales (CABI, 2007), très probablement à cause du caractère polycyclique de la maladie et de la présence de plantes de tous âges (MARIN *et al.*, 2003). Cependant des études sont menées en vue de mettre à la disposition des producteurs des bio-fongicides efficaces contre la maladie des raies noires. Contrairement aux résultats de GUZMAN et VILLALTA (MARIN *et al.*, 2003) qui ont montré une faible efficacité d'une souche commerciale de *Bacillus subtilis* contre *M. fijiensis*, DE LAPEYRE DE BELLAIRE *et al.* (2006) font état d'un contrôle significatif par *B. subtilis*, testé à différentes modalités incluant l'huile à 20 l/ha, contre la maladie des raies noires. Ces auteurs signalent également que le lixiviat issu du compostage de la hampe de banane et de banane plantain présente un effet antifongique prometteur contre *M. fijiensis*.

1.5.3. Lutte chimique

La lutte chimique de la maladie des raies noires se fait par alternance de fongicides de contact et systémiques. Les fongicides de contact (mancozeb ou chlorothalonil) sont préventifs et multisites dont l'activité est liée à l'inhibition de la germination des spores. Ils peuvent aussi être utilisés en association avec des unisites. Par contre, les fongicides systémiques appartenant aux groupes des benzimidazoles, triazoles, morpholines et strobilurines sont appliqués dans de l'huile minérale ou sous forme d'émulsion (MARIN *et al.*, 2003). Cette lutte réalisée par des pulvérisations massives et quasi-systémiques des fongicides unisites seuls ou en association, occasionne cependant des foyers de persistance

des maladies liés à l'apparition de souches résistantes. Cela engendre une augmentation de coût de la lutte et surtout par un accroissement des impacts environnementaux (ESSIS *et al.*, 2010).

1.5.4. Utilisation de variétés résistantes

L'utilisation de variétés résistantes à la maladie des raies noires constitue le seul moyen de lutte efficace pour les petits producteurs de bananes. Cette lutte est basée sur la création et l'exploitation de la variabilité génétique au sein du germoplasme *Musa* (EL HADRAMI, 2000). Elle vise à introduire la résistance à la maladie des raies noires existant chez les espèces sauvages de *Musa* tels que *M. acuminata* et les cultivars diploïdes tels que Paka (AA) et Pisang Lilin (AA).

Par conséquent, l'introduction de gènes de résistance potentiels contre diverses maladies de la banane a été tentée et l'élaboration d'une technologie basée sur le transfert de gène qui offre une résistance à un stress biotique aux cultivars de bananiers sans modifier leur patrimoine génétique est d'une importance primordiale (REMY *et al.*, 1998 ; VISHNEVETSKY *et al.*, 2011).

L'approche transgénique la plus utilisée pour améliorer la résistance contre les maladies fongiques est basée sur la sur-expression des protéines PR (Pathogenis related proteins), parmi lesquelles les chitinases végétales sont les plus étudiées et appliquées depuis 1991 (Broglie *et al.*, 1991) ont intégré chez le bananier transgénique *Musa acuminata* cultivar 'Gros Michel', l'un des deux gènes de chitinase de riz et ont testé sa résistance à la MRN. En utilisant un dosage biologique sur disques foliaires, ces chercheurs ont montré le potentiel de ce gène à améliorer la résistance à *M. fijiensis* ainsi que l'utilité de cette technique pour le dépistage précoce de cette maladie dans les lignées des bananiers transgéniques.

CHAPITRE DEUXIEME : MATERIEL ET METHODES

2.1. MILIEU D'ETUDE

Troisième ville du pays, Kisangani est le chef lieu de la Province Orientale (Figure 3). Il se situe à cheval sur le fleuve Congo et est situé dans la région forestière du rebord oriental de la cuvette centrale congolaise, à 0° 31'00'' Nord et 25° 11'00'' Est ; en suite est entièrement comprise dans la zone bioclimatique de la forêt dense humide équatoriale (LEJOLY *et al.*, 1988).

Son altitude moyenne est de 39 m (NYAKABWA, 1982), sur le plan administratif, Kisangani est constitué de 6 communes : Kisangani, Makiso, Mangobo, Kabondo, Tshopo et Lubunga, couvrant une superficie totale de 1910 Km². Sa population à environ 1310587 habitants, soit une densité de 686 habitants/ km² (ARCHIVE DE LA MAIRIE, 2012)

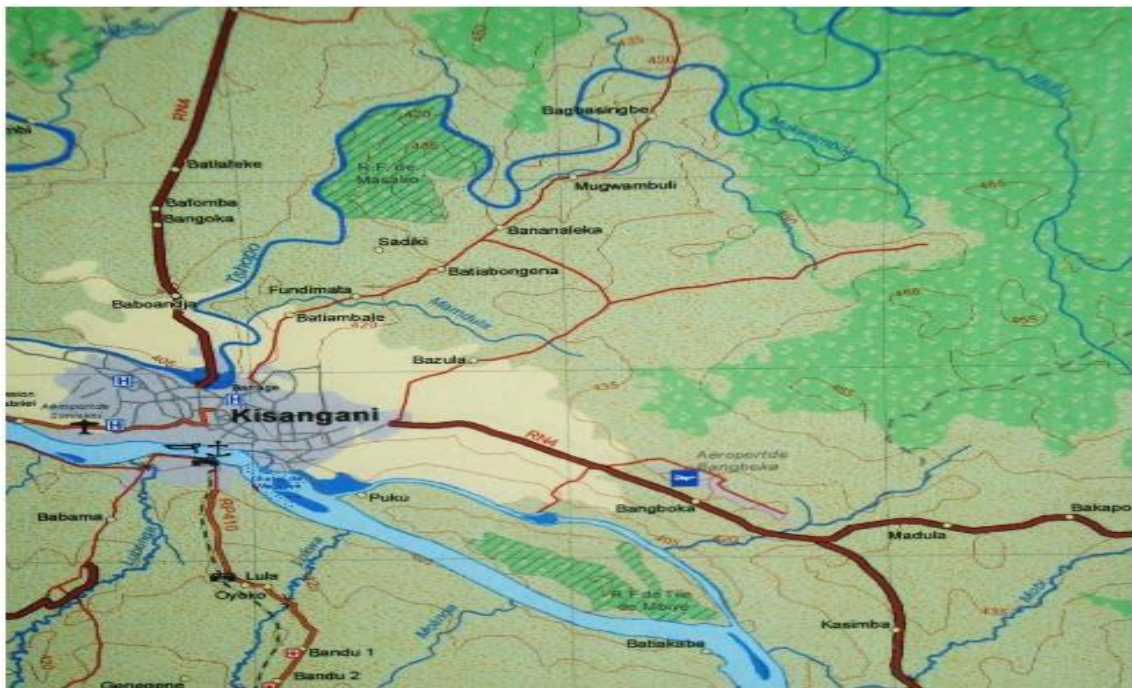


Figure 3. Carte de la ville de KISANGANI (image landsat, collection 2005-2010, detours : WGS 84, labo carto RRN/P.O).

Dans la région de Kisangani, les précipitations sont abondantes, mais irrégulièrement réparties sur l'année. La moyenne annuelle de pluviométrie calculée pour une période de 50 ans (de 1956 à 2005) affiche 1,724 mm, pour une température annuelle moyenne de 25,3°C. La hauteur mensuelle des précipitations est supérieure à 60 mm (KAHINDO, 2011). Toutefois, ce régime de pluie détermine deux saisons humides, la plus importante allant de septembre à Novembre, avec un maximum en Octobre et l'autre de Mars à Mai. Par ailleurs,

deux saisons à faible pluviosité se dégagent : Janvier ou grande saison sèche et Juillet-août ou petite saison sèche. En 2007, l'humidité relative moyenne de la région a été de 86,9 %. L'insolation mensuelle est faible et varie de 31,5 % à 57 % (KAHINDO, 2011).

L'ensemble de données éco climatiques ainsi que la position de la ville de Kisangani à proximité de l'Equateur lui confèrent un climat équatorial du type Af dans la classification de Koppen (UPOKI, 2001). Ce type climatique est caractéristique des régions où la température moyenne le plus froid est supérieure à 18°C (MATE, 2001). En se basant sur la nature du matériau parental et sur le niveau de drainage du sol, les sols de Kisangani peuvent être classés globalement en deux principaux groupes : les sols issus du substrat rocheux et les sols dérivés, se développant sur les alluvions. Ces sols sont en général de nature ferrallitique, sablo-argileux et acide. Ils sont profonds et fortement lessivés par les eaux pluviales (KAHINDO, 20011). LEJOLY et LISOWSKI (1978) classent les forêts de la région de Kisangani dans la catégorie des forêts ombrophiles sempervirentes équatoriales.

2.2. MATERIEL

Les plantes médicinales ayant fait objet de notre travail sont utilisées en médecine traditionnelle à Kisangani et ses environs. Toutes ces plantes ont été choisies en raison de leur pouvoir antifongique et qui ont été obtenue après une enquête ethnobotanique réalisé par KOMBOZI (1981). Il s'agit de *Mitracarpus scaber*, *Spermacocce latifolia* et *Synedrella nodiflora*. La qualité d'une plante medicinale, liée à sa teneur en principes actifs, depends d'un grand nombre de facteurs, tels que les conditions écologiques, l'âge de la plante et même l'heure de la récolte (PELT, 1986).

La récolte de ces plantes s'est effectuée le matin dans la ville de Kisangani et ses environs et ensuite le matériel a été acheminé au laboratoire pour un conditionnement en vue de l'obtention des extraits végétaux, conformément à la recommandation de DEBUIGNE, (2009).

2.2.1. Description de plantes

❖ *Mitracarpus scaber* Zucc (rubiaceae)

Nom vernaculaire : Kafua- nkusu, Kashipa- nkusu (Tshiluba)

Organe utilisé : feuille et fleur

C'est une herbe annuelle à tiges dressées atteignant 0,50 m de haut, assez abondant autour des habitations, le long de chemins et sentiers dans les friches et les jachères et pousse à ras de terre. Elle est un indicateur de sols lessivés.

Du point de vue morphologique, elle se comporte et se présente comme l'*Euphorbia Hirta* sauf que contrairement à cette dernière, elle n'a pas de latex (HOLM et al., 1991)

Usage : Les feuilles et les fleurs froissées sont frottées contre les mycoses.



Figure 4. *Mitracarpus scaber*

❖ ***Spermacoce latifolia* Aubl (Dicotylédones –Rubiaceae)**

Synonyme(s) : *Borreria latifolia* (Aubl.), *B. alata* (Aubl.), *Spermacoce alata*

Nom vernaculaire : Solola (Kumu)

Organe utilisé : feuille et fleur

Plante herbacée annuelle, de couleur vert-jaune, décombante, pouvant atteindre 1 m de hauteur. Tige épaisse, quadrangulaire ailée. Feuilles opposées simples, entières ; limbe à nervures latérales très marquées ; stipules frangées de soies, soudées entre les pétioles.

Inflorescence en verticille axillaire ; fleur blanche à petite corolle tubulaire (HOLM et al., 1991).

Usage : Les feuilles et fleurs froissées sont appliquées sur la peau jusqu'à la disparition de la mycose.



Figure 5. *Spermacoce latifolia*

❖ *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. - Asteraceae – Dicotylédone

Synonymes : *Verbesina nodiflora*

Organe utilisé : feuille

C'est une herbe annuelle, dressée, ramifiée de 40 à 90 cm de haut et se développe très bien dans les zones humides et forestières. Les feuilles sont simples et opposées, mesurent de 5 à 10 cm de long, sont vert clair et possèdent 3 nervures basales. La marge du limbe est dentée en scie ou bien presque entière. La face inférieure est poilue. Les fleurs, petites et jaunes, sont regroupées en petites têtes à la base des feuilles terminales (HOLM *et al.*, 1991).

Usage : Le triturrat des feuilles auquel on ajoute du sel de cuisine sert en friction contre les teignes trichophytiques jusqu'à sa disparition



Figure 6. *Synedrella nodiflora*

2.3. METHODES

2.3.1. Préparation des extraits des plantes

➤ *Extraits bruts concentrés*

50 gr de feuilles fraîches de l'échantillon des plantes sont pilé et recueillir le jus dans un tube à essai. 10 ml de chaque extrait tel que préparés, sont prélevés puis, concentrés par évaporation (à une température ne dépassant pas 50°C) jusqu'à obtenir une quantité d'environ 2 ml (MBUYI *et al.*, 1994).

➤ *Extraits éthanoliques et éthers*

L'éthanol à 95% et l'éther de pétrole ont servi de solvant d'extraction. 50 ml de chaque solvant sont versés en série dans les tubes à essai dans lesquels sont chaque fois épuisés 10 grammes de matière végétale fraîche et broyée. Les mélanges sont macérés pendant 48 heures et ensuite filtrés. Les filtrats sont enfin concentrés par évaporation jusqu'à 1 ml d'extrait dans chaque tube (HARBONE, 1983 ; BOURET, 1984 ; WAGNER *et al.*, 1984, JANOVSKA *et al.*, 2003)

2.3.2. Obtention des souches

A partir des échantillons de feuilles de bananiers récoltés aux environs de la Faculté des Sciences , l'isolement a été réalisé par la technique de décharge des ascospores sur le

milieu gélosé (H₂O agar) puis mise en culture des ascospores déchargées , sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA) comme décrit par CARLIER *et al.* (2003).

Pour la mise à décharge, les morceaux de feuilles nécrosées ont été d'abord découpés, ensuite trempés dans l'eau distillée stérile pendant 20 minutes, puis déposés sur les couvercles de boîtes de Pétri inversées contenant un gel d'agar à 3 %, la face inférieure de la feuille dirigée vers le milieu de culture. Les boîtes ont été incubées à 25°C et les ascospores étaient déchargées pendant la nuit, Puis repiquées sur le milieu PDA (39 gr/l). Le repiquage monoascopore s'est fait par observation au microscope inversé, marque MOTIC AE31. Les souches monoascospores ont été conservées à 25°C sous la lumière blanche permanente.

2.3.3. Sensibilité des souches aux extraits des plantes

La méthode de l'inhibition de la croissance mycélienne sur boîte de Pétri en milieu solide a été utilisée pour étudier la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits des plantes médicinales. Celle-ci consiste à déposer au centre de chaque boîte de Pétri un explantant mycélien de 5 mm de diamètre obtenu après perforation avec un emporte-pièce. L'incubation a été faite à 25°C sous la lumière blanche permanent. La croissance mycélienne a été suivie régulièrement pendant 9 jours en mesurant chaque explantant sous différents extraits en raison de 2 répétitions par extrait de plantes étudiées.

2.4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel R.2.10.0.

CHAPITRE TROISIEME : RESULTATS ET DISCUSSION

Dans le présent chapitre, il sera question d'examiner l'efficacité des extraits de plantes sur les souches de *Mycosphaerella fijiensis* *in vitro*.

3.1. EXTRAITS BRUTS CONCENTRES

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche de *Mycosphaerella fijiensis* sur l'extrait de plantes est illustrée par les figures (6, 7, 8).

La figure 6 rapporte la croissance de *M. fijiensis* sur le milieu de culture PDA incorporé d'extrait concentré de *Synedrella nodiflora*.

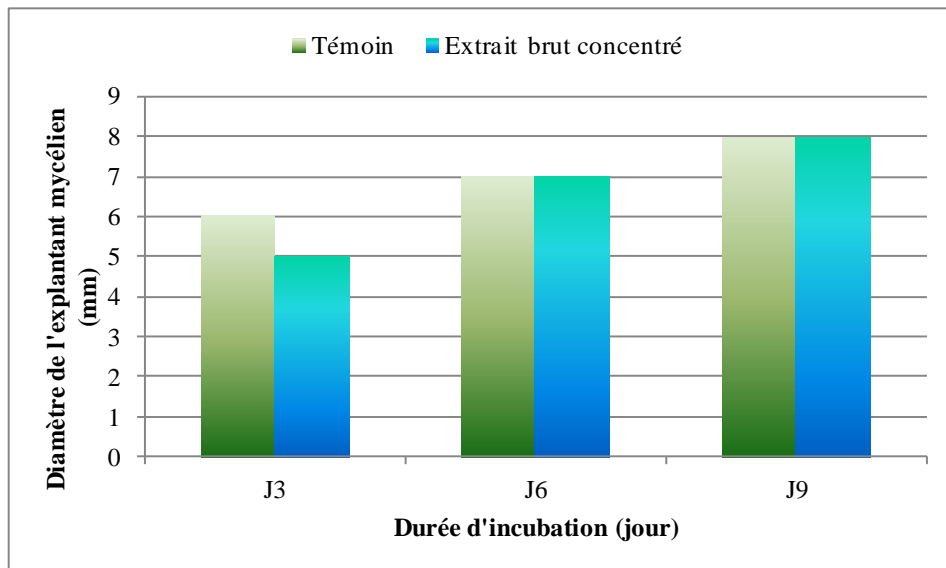


Figure 6 : Croissance mycélienne de la souche de *Mycosphaerella fijiensis* sur l'extrait concentré de *Synedrella nodiflora*

Ces résultats montrent qu'au troisième jour d'incubation, il y a une inhibition de croissance par rapport au témoin, et le sixième et neuvième jour l'inhibition ne s'est pas manifestée d'où il a la croissance. Cela prouve que la croissance mycélienne de *Mycosphaerella fijiensis* n'était pas inhibée à l'extrait concentré de *Synedrella nodiflora*.

La figure 7 présente la croissance de *Mycosphaerella fijiensis* sur le milieu de culture incorporé l'extrait concentré de *Spermacoce latifolia*.

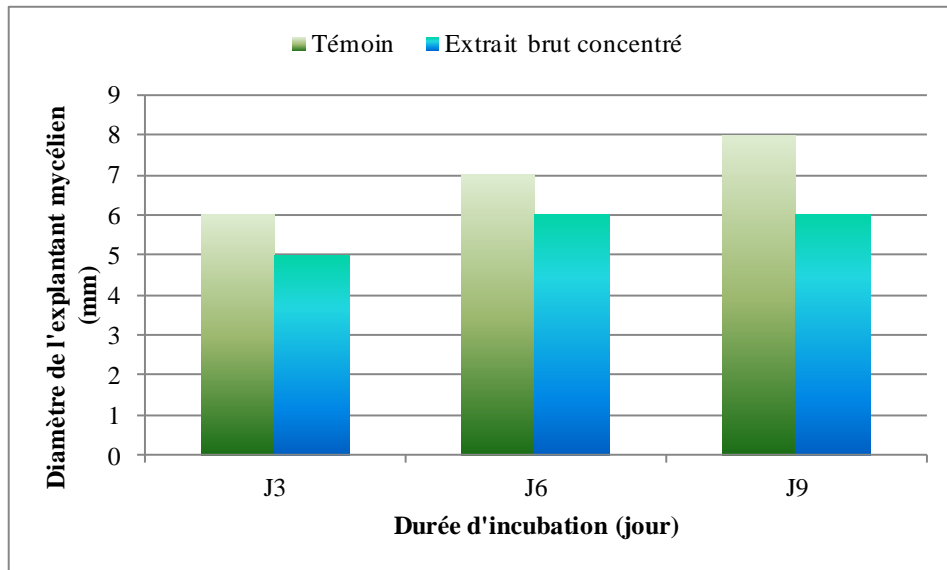


Figure 7 : Croissance mycélienne de la souche de *Mycosphaerella fijiensis* sur l'extrait concentré de *Spermacoce latifolia*

Il ressort de cette figure les résultats, le troisième jour il ya l'inhibition de croissance ; le développement mycélien n'a été remarqué qu'au sixième jour avec une croissance de 6 cm et cette taille se stabilise jusqu'au 9^{ème} jour. Il est aussi à noter qu'une progression de croissance du champignon a été remarquée sur le témoin à partir de 3^{ème} jour avec 6 cm jusqu'à la 9^{ème} semaine avec une taille de 8 cm.

La figure 8 la croissance de *M. fijiensis* sur le milieu PDA incorporé d'extrait concentré de *Mitracarpus scaber*

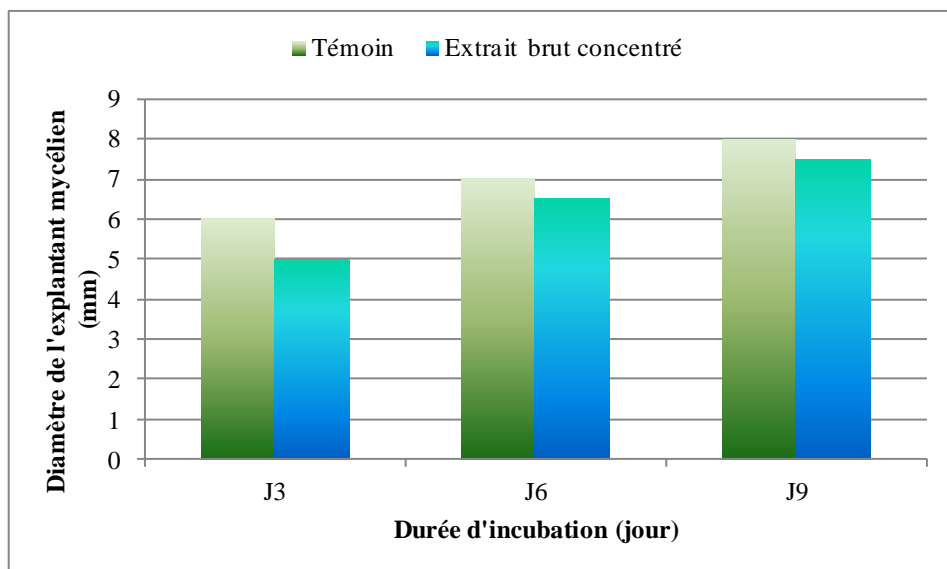


Figure 8: Croissance mycélienne de la souche de *Mycosphaerella fijiensis* sur l'extrait concentré de *Mitracarpus scaber*

L'analyse de cette figure montre une inhibition de croissance au troisième jour une croissance par rapport au témoin. Une croissance progressive du mycélium au sixième et neuvième jour aux avec un diamètre respective de 6,5 mm et 7,5 mm et sur le témoin avec une croissance de 8 mm.

L'analyse de résultat de ces trois figures montre que les extraits concentrés de ces trois plantes réagissent différemment car tous ces extraits avaient un effet inhibiteur au troisième jour. Cependant, dans d'autres jours d'observation montrent de différences de croissance de souches ; l'extrait concentré de *Spermacoce latifolia* a réagi efficacement par rapport aux extraits de *Mitacarpus scaber* et *Synedrella nodiflora*. Ceux deux derniers n'ont pas réagi convenablement. La première hypothèse évoquée sur le fait que *Mycosphaerella fijiensis* ne peut pas croître sur des milieux de culture contenant l'extrait concentré de *Mitracarpus scaber*, *Spermacoce latifolia* et *Synedrella nodiflora*, s'est confirmé pour l'extrait de *Spermacoce scaber* par rapport des résultats obtenus La troisième hypothèse évoquée sur le fait que les différents extraits réagiraient différemment vis-à-vis de l'inhibition de croissance des souches, chaque extrait réagit différemment les uns les autres.

3.2. EXTRAITS ETHERES

Les résultats de croissance d'inhibition obtenus en testant ces extraits éthers sur les souches de *Mycosphaerella fijiensis* sont illustrés par de figures 9,10, 11.

La figure 9 rapporte la croissance radiale de *M. fijiensis* sur le milieu incorporé d'extrait étheré de *Synedrella nodiflora*.

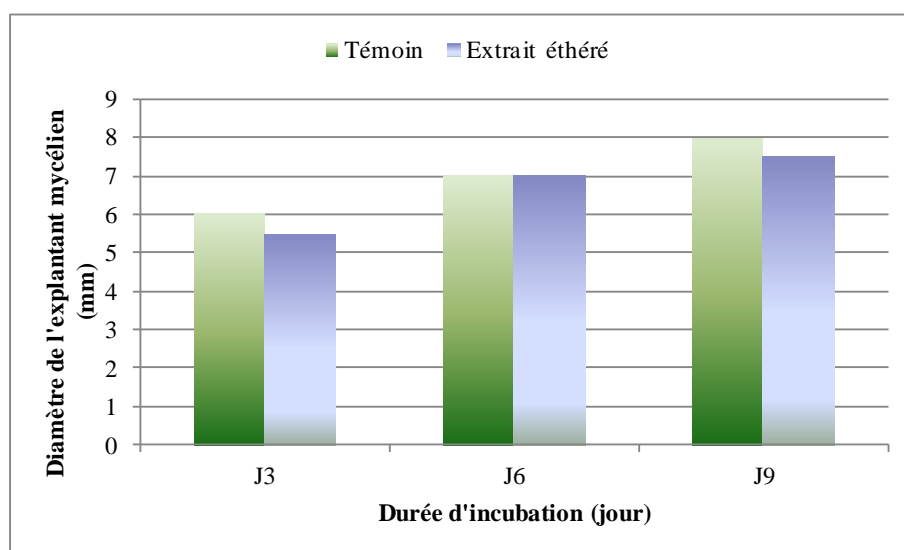


Figure 9 : Croissance mycélienne de la souche de *mycosphaerella fijiensis* sur l'extrait étheré de *Synedrella nodiflora*

A la lecture de cette figure il ressort une croissance progressive de mycélium sur au milieu incorporé d'extrait. Il a été remarqué un début de croissance mycélienne dès le troisième jour après ensemencement de 5,5 mm y compris le témoin avec la taille de 6 mm jusqu'à le neuvième jour à un diamètre de 7,5 mm par rapport au témoin.

La figure 10 présente la croissance de *M. fijiensis* sur le milieu incorporé d'extrait éthéré de *Spermacoce latifolia*

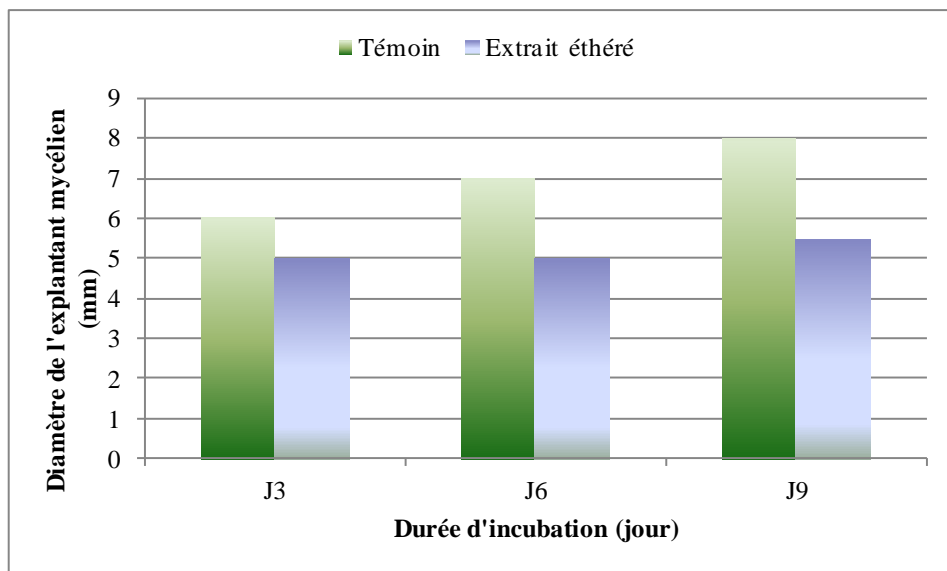


Figure 10 : Croissance mycélienne de la souche de *Mycosphaerella fijiensis* sur l'extrait éthéré de *Spermacoce latifolia*

Il relève de l'observation de cette figure que l'extrait éthéré de *Spermacoce latifolia* montre une inhibition sur les souches de *Mycosphaerella fijiensis* où la croissance mycélienne est nulle au troisième et sixième jour et le neuvième jour croisse de 5,5 mm. Ces résultats montrent aussi que l'inhibition se manifeste par la diminution de la croissance mycélienne de *Mycosphaerella fijiensis*.

La figure 11 rapporte la croissance de *M. fijiensis* sur le milieu incorporé d'extrait éthéré de *Mitacarpus scaber* Zucc.

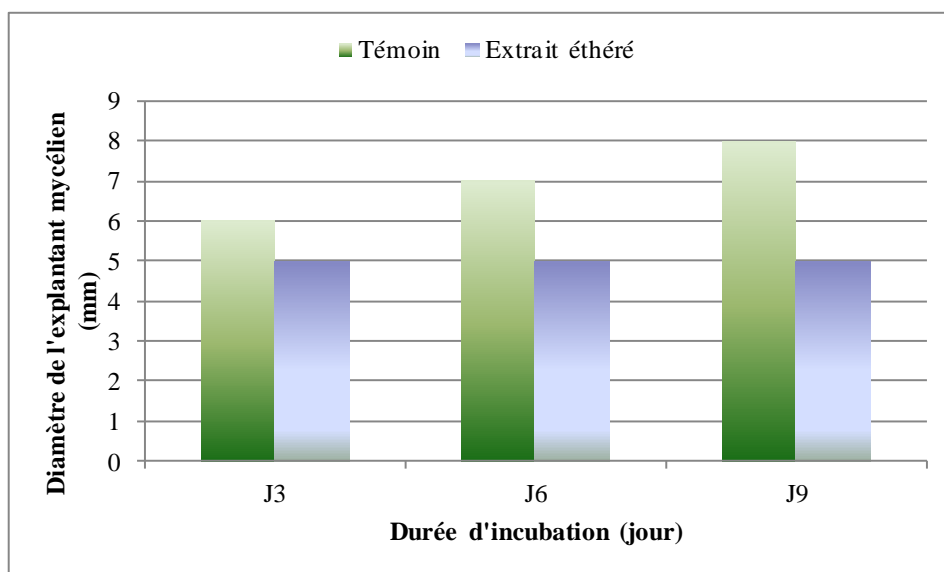


Figure 11 : Croissance mycélienne de *Mycosphaerella fijiensis* en fonction du temps et d'extrait éthéré de *Mitacarpus scaber* Zucc.

Au regard de la figure 11, il ressort que la croissance du champignon est nulle dès le troisième jour jusqu'au neuvième jour contrairement au témoin qui croît progressivement.

De l'examen de ces trois figures de l'extrait éthéré, il apparaît que la croissance moyenne de *M. fijiensis* dépend de l'extrait de plantes utilisées, nous avons enregistré une grande croissance mycélienne de souches cultivées sur le milieu incorporé d'extrait de *Synedrella nodiflora* (5,5 ; 7 et 7,5 mm) par rapport à ceux de *Mitracarpus scaber* (5 mm) soit une croissance nulle et *Spermaccoce latifolia* (5 et 5,5 mm) où le mycélium s'est quand même développé. La seconde hypothèse stipulait que les extraits éthérés réagiraient à divers degrés. Ceci s'est confirmé comparativement à nos résultats obtenus. Par ailleurs, la troisième hypothèse, qui stipulait de la comparaison des extraits vis-à-vis de l'inhibition de croissance les souches, s'est également confirmée. En ce qui concerne *Synedrella nodiflora*, elle n'a pas tellement réagi contrairement aux *Mitracarpus scaber* et *Spermaccoce latifolia*. Ceci suggère que cette dernière n'a pas des propriétés fongicides et ne pourrait pas être utilisée dans la lutte contre la cercosporiose noire dans la région de Kisangani.

3.3. EXTRAITS ETHANOLIQUE S

La sensibilité des souches de *M. fijiensis* aux extraits éthanolique est illustrée par les figures 12, 13, 14.

La figure 12 présente la croissance de *M. fijiensis* sur le milieu PDA incorporé d'extrait éthanolique de *Synedrella nodiflora*.

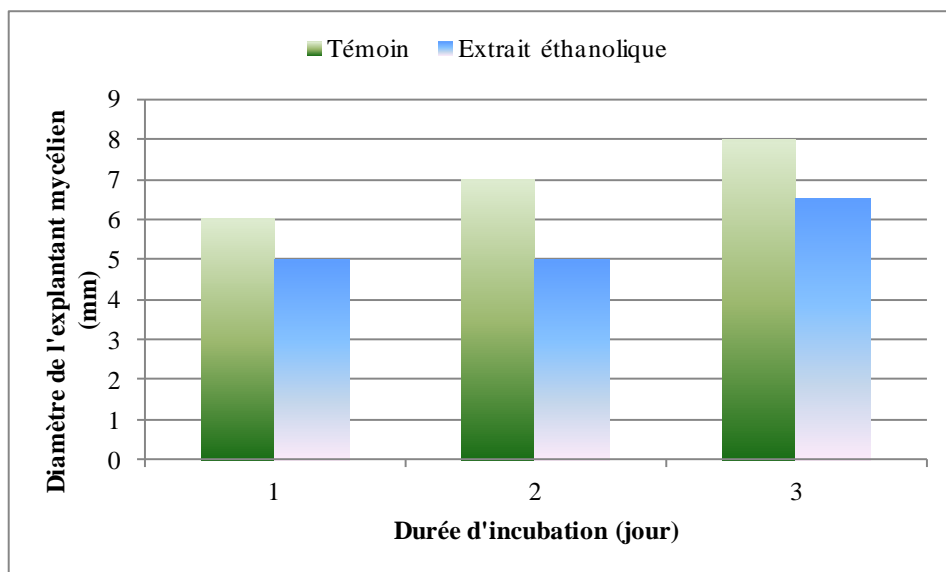


Figure 12 : Croissance mycélienne de *Mycosphaerella fijiensis* sur le milieu incorporé d'extrait éthanolique de *Synedrella nodiflora*.

L'effet de *Synedrella nodiflora* sur la croissance mycélienne était différent en fonction de temps. La croissance mycélienne de *Mycosphaerella fijiensis* à l'extrait éthanolique est nulle au troisième et sixième jour après l'ensemencement. Nous avons observé une croissance de 6,5 mm au neuvième jour par rapport au témoin avec 8mm.

La figure 13 présente la croissance radiale de *M. fijiensis* sur le milieu incorporé d'extrait de *Spermacoce latifolia*.

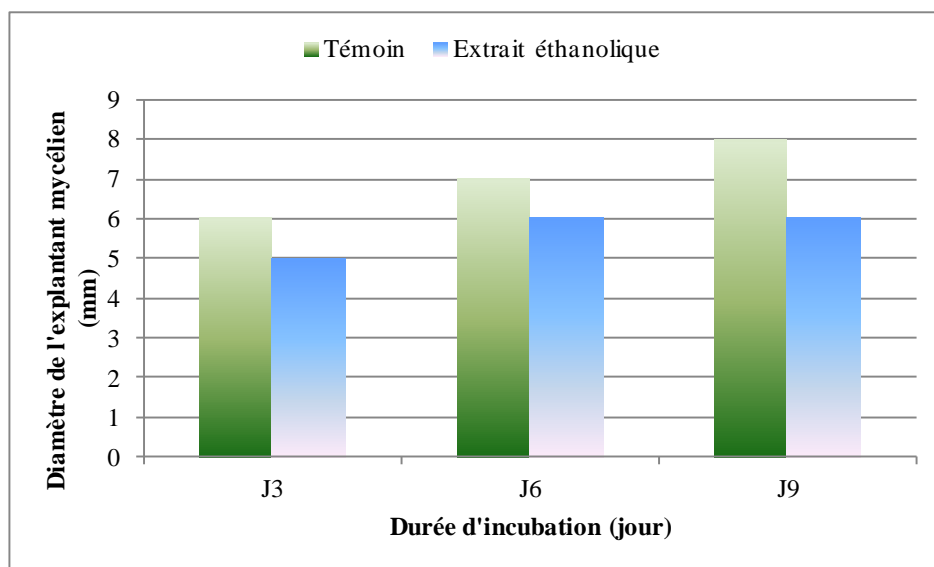


Figure 13 : Croissance mycélienne de la souche de *Mycosphaerella fijiensis* sur l'extrait éthanolique de *Spermacoce latifolia*.

De l'analyse de la figure 13 ci - haut, la croissance mycélienne est nulle au 3^{ème} jour de l'incubation après ensemencement. Une croissance progressive du pathogène au 6^{ème} jour avec un diamètre de 6 mm, la taille à laquelle la croissance s'est stabilisée jusqu'au 9^{ème} jour sur le témoin avec une croissance de 8 mm.

La figure 14 rapporte la croissance de *M. fijiensis* sur le milieu PDA incorporé d'extrait de *Mitracarpus scaber*.

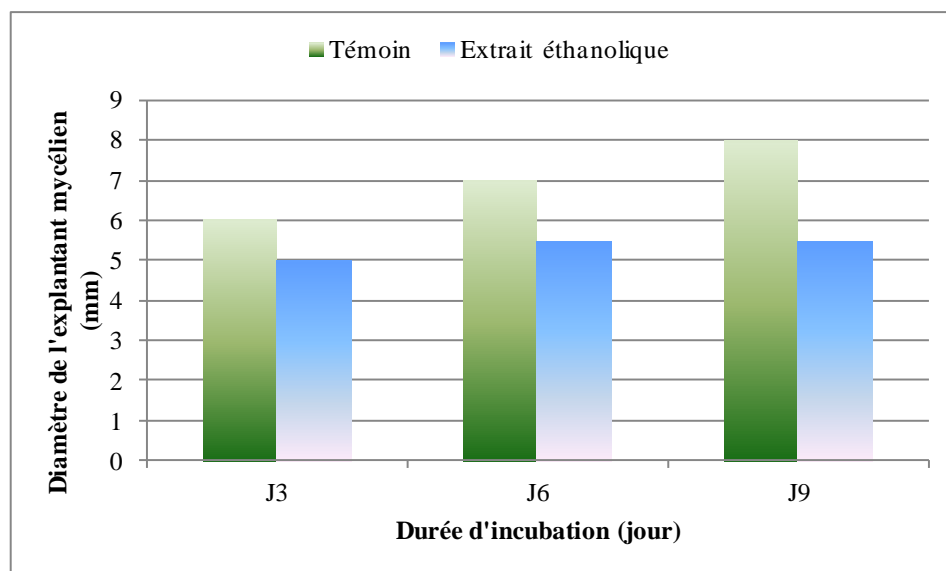


Figure 14 : Croissance mycélienne de la souche de *mycosphaerella fijiensis* sur le milieu incorporé d'extrait éthanologique de *Mitracarpus scaber*

L'analyse de la figure 14 montre que, la croissance mycélienne est inhibée au 3^{ème} jour de l'incubation après ensemencement. Après, la croissance du mycélium progresse à 5,5 mm de diamètre au 6^{ème} jour avec la taille à laquelle la croissance s'est stabilisée jusqu'au 9^{ème} jour sur le témoin avec une croissance de 8 mm.

L'extrait éthanologique de *Mitracarpus scaber* paraît plus efficace, au regard de résultats obtenus, par rapport à ceux de *Spermaccoce latifolia* et *Synedrella nodiflora* sur la croissance de *Mycosphaerella fijiensis*. En ce que, nous avons enregistré une faible croissance de mycélium à l'extrait de *Mitracarpus scaber*, *Spermaccoce latifolia* et *Synedrella nodiflora* pendant toute la période d'observation.

De manière générale, les résultats d'inhibition de la croissance de *M. fijiensis*, nous avons remarqué dans notre étude que l'inhibition de la croissance mycélienne démarre après le troisième jour pour tous les extraits avec le diamètre de 5mm. Les extraits éthérés de *Mitracarpus scaber*, *Spermaccoce latifolia* ont fortement inhibé la croissance de mycélienne de *M. fijiensis* avec de diamètre respective de 5 mm et 6,5 mm par rapport au *Synedrella*

nodiflora qui n'a pas fortement inhibé la croissance 7 mm. *Mitracarpus scaber* (6,5 mm), éthéré (5mm) et éthanolique de et d'autres ne sont pas inhibé.

Les extraits éthanoliques de toutes ces plantes ont inhibé la croissance mycélienne ; les valeurs de diamètre mesuré étaient de 5 mm pour *Synedrella nodiflora*, *Mitracarpus scaber* (5,5 mm) et *Spermacoce latifolia* (7 mm) alors que l'extrait concentré de *Spermacoce latifolia* a inhibé la croissance mycélienne à un diamètre de 6 mm. Cependant, *Mitracarpus scaber* et *Synedrella nodiflora* ont montré une faible inhibition.

Nos résultats des taux d'inhibitions concordent avec ceux trouvés par Mukendi (2011), où les extraits bruts de plantes de *Tephrosia vogelii* et *Zingiber officinale* réduisent de façon significative la croissance de *M. fijiensis* à différents concentrations graduelles 2,8 ; 2,3 ; 2,1 mm de diamètre à un volume de 1 ml a diminué significativement la croissance mycélienne de *M. fijiensis* à un diamètre de 2,5 mm par rapport au contrôle, toutes les autres doses (2, 3 et 4ml) l'ont complètement inhibé.

La première hypothèse évoquée sur le fait que *Mycosphaerella fijiensis* ne peut pas croître (se développer) sur des milieux de culture contenant l'extrait de *Mitracarpus scaber*, *Spermacoce latifolia* et *Synedrella nodiflora*, s'est confirmé par rapport des résultats obtenus. La seconde hypothèse quant à elle qui stipulait que les extraits éthanoliques, éthers réagiraient à divers degré s'est confirmée comparativement aux résultats obtenus tandis que la troisième qui parlait de la comparaison des extraits vis-à-vis de l'inhibition de croissance les souches a été également confirmée, car chaque extrait a agit par rapport aux autres.

3.4. ANALYSES STATISTIQUES

Tableau 1: Analyse de variance (ANOVA) pour les extraits des plantes utilisés

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Extrait	2	2.7222	1.36111	1.6379	0.2154
Residuals	24	19.9444	0.83102		

Il ressort de ce tableau que l'analyse de variance (ANOVA) à un facteur pour les extraits des plantes médicinales en fonction de la croissance mycélienne au seuil de 5 % montre qu'il n'existe pas des différences significatives.

Tableau 2 : Analyse de variance (ANOVA) pour les 3 plantes utilisés

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Extrait	2	3.3889	1.69444	2.1095	0.1432
Residuals	24	19.2778	0.80324		

A la lumière du tableau 2, il ressort que l'analyse de variance (ANOVA) pour les plantes utilisées comparativement à leur croissance mycélienne montre qu'il n'existe pas des différences significatives entre ces plantes au seuil de 5 %.

CONCLUSION

L'objectif de ce travail était de tester l'efficacité de la sensibilité de quelques plantes médicinales sur les souches de *M. fijiensi*. Parmi les plantes utilisées, nous avons sélectionné les plantes qui étaient utilisées contre les mycoses de la peau dans la région de Kisangani. Il s'agit de *Mitracarpus scaber*, *Spermacoce latifolia* et *Synedrella nodiflora* regorgeaient une activité fongicide pouvant être exploité dans la lutte contre le *M. fijiensis*.

Après analyse des résultats nous sommes parvenus à des conclusions ci-après :

- L'extrait concentré de *Spermacoce latifolia* a montré une activité de 6 mm contrairement aux *Mitracarpus scaber* et *Synedrella nodiflora* qui ont montré une faible activité
- Les extraits étherés de *Mitracarpus scaber* et *Spermacoce latifolia* ont montrés une activité de 5 mm et 5,5 ; mm sur le *M. fijiensi*.
- Les extraits étherés de *Synedrella nodiflora* ont présentés une faible activité soit 7 mm et 7,5 mm sur le *M. fijiensi*.
- Les extraits éthanoliques de *Mitracarpus scaber* , *Spermacoce latifolia* et *Synedrella nodiflora* ont montrés une activité respective de 5,5 mm ;6 mm et 6,5 mm sur les *M. fijiensi*.
- Partant des hypothèses émises pour cette étude, nous trouvons que les première, hypothèses a été rejeté suite aux résultats obtenus; Contrairement à la deuxième et troisième hypothèse qui sont confirmées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adjanohoun, Adjakidje, M., Akoegninou, J., Akeassi, A., 1989 : Médecine traditionnelle et pharmacopée « Contribution aux études éthologiques et floristiques en République Populaire du Benin» pp 70-401.
- Agrios, G. N., 2005. Plant pathology. 5^e Edition. Elsevier Academic Press. 922 pp 66-67, 127, 300,764-769
- Anonyme, 2010. Étude de cas sur la Banane - Guide Numéro 1 (French). Nouvelles stratégies à court et moyen termes pour réduire l'utilisation des pesticides dans les cultures de bananes. Direction des études et projets d'exportations agricoles, Ministère de l'Agriculture, Duala, Cameroun, 126 pp.
- Bongende P.L, 2003. Effets de certaines plantes médicinales sur la normalisation de la forme des globules rouges drepanocytoses. TFC inédite fac des sc. Unikis
- Bourret JC, 1984. Le deficit de la médecine par les plantes. Paris, France 349 p
- Broglie, K., Chet, I., Holliday, M., Cressman, R., Biddle, R., Knowlton, S., Mauvais, C.J. and Broglie, R., 1991. Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. Science, 254:1194–1197.
- Cabi. 2007. Crop Protection Compendium. <http://www.cabicompendium.org>
- Carlier, J. ; De Waele, D. et Escalant, J.V., 2003. Evaluation globale de la résistance des bananiers à la fusariose, aux maladies foliaires causées par les *Mycosphaerella* spp. et aux nématodes. Evaluation de la performance (A. Vézina et C. Picq, eds). Guides techniques INIBAP 7. Réseau international pour l'amélioration de la banane et de la banane plantain, Montpellier, France. 62 p.
- Carlier, J., 2003. Integrating morphological and molecular data sets on *Mycosphaerella*, with specific reference to species occurring on *Musa*. In: *Mycosphaerella Leaf Spot Diseases of Bananas: Present Status and Outlook. Proceedings of the Workshop on Mycosphaerella Leaf Spot Diseases, San José, Costa Rica, 20–23 May 2002* pp. 43–57.
- Carlier, J., Zapater, M-F, Lapeyre, F., Jones, D.R. and Mourichon, X., 2000. Septoria leaf spot of banana: a newly discovered disease caused by *Mycosphaerella eumusae* (anamorph *Septoria eumusae*). Phytopathology 90(7), 884-890.
- Christiane V., 1985. Plantes médicinales, therapie. Toxicité, 17- 18 pp.

- Churchill, A.C.L., 2011. *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *Molecular Plant Pathology*. 307-328.
- Cordeiro, Z.J.M., De Matos, A.P., De Oliveira e Silva, S., 1998. Black
- Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Aptroot, A., Braun, U., Mourichon, X. and Carlier, J., 2003. Integrating morphological and molecular data sets on *Mycosphaerella*, with specific reference to species occurring on *Musa*. In: *Mycosphaerella Leaf Spot Diseases of Bananas: Present Status and Outlook. Proceedings of the Workshop on Mycosphaerella Leaf Spot Diseases, San José, Costa Rica, 20–23 May 2002*), pp. 43–57.
- Crous, P.W., Schoch, C.L., Hyde, K.D., Wood, A.R., Gueidan, C., de Hoog, G.S. and Groenewald, J.Z., 2009. Phylogenetic lineages in the Capnodiales. *Stud. Mycol.* 64, 17–47.
- Cuille, 1950. Recherche sur les charançons
- Dabek AJ, Waller JM., 1990. Black leaf streak and viral streak: new banana diseases in East Africa. *Tropical Pest Management* 36, 157-158.
- De Lapeyre de Bellaire, L., Ngando, E.J., Abadie, C., Carlier, J., Lescot, T., Fouré, E., 2006. Management of black sigatoka in Cameroon. In: E. Soprano, F.A. Tcacenco, L.A. Lichtemberg and M.C. Silva, eds. *Banana: A sustainable business*. Proceeding of the XVII meeting of ACORBAT held at Joinville – Santa Catarina, Brasil, from 15 to 20 october 2006. 2: 122-132.
- De souza C, Amegavi K, Koumaglo K. et Gbeassor M. 1993. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux des dix plantes médicinales, *Revue de médecines et pharmacopées Africaines* Vol. 7, 109 – 115 pp
- Debuigne G., 2009. *Petit larousse des plantes médicinales*. Larousse, paris. 383 p
- El Hadrami, A., 2000. Caractérisation de la résistance partielle des bananiers à la maladie des raies noires et évaluation de la variabilité de l'agressivité de l'agent causal, *Mycosphaerella fijiensis*. Thèse inédite, Gembloux, 165p.
- Essis, B., Kobenan, K., Traoré, S., Koné, D. et Yatty, J., 2010. Sensibilité au laboratoire de *Mycosphaerella fijiensis* responsable de la cercosporiose noire des bananiers vis-à-vis de fongicides couramment utilisés dans les bananeraies ivoiriennes. *Journal of Animal & Plant*

- Fahleson, J., Nakyanzi, M., Okori, P., Seal, S., Kenyon, L. and Dixelius, C., 2009. Genetic analysis of *Mycosphaerella fijiensis* in the Uganda Lake Victoria region. *Plant Pathology*. 58, 888-897.
- Fouré E. 1982. Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Comportement des variétés. Etude de la sensibilité variétale des bananiers et plantains a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Gabon (maladie des raies noires) – Incubation et évolution de la maladie. *Fruits* 37: 749-759.
- Fouré, E., 2006. Management of black sigatoka in Cameroon. *In*: E. Soprano, F.A. Tcacenco, L.A. Lichtemberg and M.C. Silva, eds. *Banana: A sustainable business*. Proceeding of the XVII meeting of ACORBAT held at Joinville – Santa Catarina, Brasil, from 15 to 20 october 2006. 2: 122-132
- Ganry J. 1992. Breeding Banana and Plantain for Resistance to Disease and Pests, 393 p. CIRAD eds, Montpellier, France, *Agriculture* 7: 468-475
- Gauhl, F., 1994. Epidemiology and ecology of black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) on plantain and banana in Costa Rica, Central America. PhD thesis originally presented in German. INIBAP, Montpellier, France. 120p.
- Gauhl, F., Pasberg-Gauhl, C., Vuylsteke, D. and Ortiz, R., 1993. Multilocational evaluation of black sigatoka resistance in banana and plantain. IITA research Guide 4, 59 p.
- Guzmán M., A. Jiménez, R. Vargas et R. Romero. 2000. Caracterización de cepas de *M. fijiensis*, causante de la Sigatoka negra, con menor sensibilidad a funguicidas triazoles. P. 64 *in* Reunión ACORBAT 2000. Memorias.
- Harbone, J.B., 1983. Phytochemical methods. Chapman et Hall, London, 228 p
- Holm L. G., Plucknett D. L., Pancho J. V., Herberger J. P. 1991. The world's worst weeds. Distribution and Biology. East-West Center by the University Press. Hawaii.
- Janovska D, Kubikova K and Kokoska L, 2003. Screening for Antimicrobial activity of some medicinal plants species of traditional chines medicine. *Czech J. food Sci* Vol 21, N° 3: 107 -110
- Jones, D.R., 2000. Diseases of Banana, Abacat and Enset, Londres, CABI Publishing: p 4-11, 37-39 and 173-190.
- Jones, D.R., 2009. Disease and pest constraints to banana production. *Acta Hortic*. 828, 21-36.
- Kahindo, M., 2011. Potentiel en produits forestiers autres que les bois d'œuvre dans les formations forestières de la région de Kisangani. Cas de rotins eremospatha

- haullevileana DE Wild et Haccosperma secundiflorum (P. DEAUV KUNTZE) de la réserve forestière de Yoko, P.O, RD Congo. These de doctorat, unikis, fac des sc. 269 p
- Kombozi, B.L. 1984. Contribution à l'étude des plantes utilisées contre les maladies de la peau dans la région de Kisangani. Mémoire inédite fac. Sc. Unikis 22 p
- Kung'u, J., Seif, A. et Waller, J., 1992. Black leaf streak and other foliage diseases of bananas in Kenya. *Tropical Pest Management*, 38(4):359- 361.
- Lassoudière, A., 2007. Le bananier et sa culture. Editions Quae. 384 p.
- Lejoly, J. et Lisowski, S. 1978. Plantes vasculaires des sous région de Kisangani et de la Tshopo (Haut Zaïre). Manuel polycopie Fac. Sc. ; Kis. 128 p
- Lejoly, J., Lisowski, S. et Ndjele, M. 1988. Catalogue des plantes vasculaires des sous régions de Kisangani et de la Tshopo (Haut-Zaïre). 3^{ème} édition, Labor. Botan. Syst. Phytos. ULB, 122p
- Mabika, K., 1983. Plantes médicinales et médecine traditionnelle au Kasai occidental. These inédite fac des sc. Unikis. 510 p.
- Marin, D.H., Romero, R.A., Guzman, M., Sutton, T.B., 2003. Black Sigatoka: an increasing threat to banana cultivation. *Plant Disease* 87:208-222
- Martinez, G., J. Hernández, Tremont, O., Pargas, R., Manzanilla, E., 2002. The spread of black Sigatoka throughout Venezuela, 1997-2000. *Infomusa* 11 (1), 6-9.
- Mate, M., 2001, Croissance, phytomasse et minéralomasse des haies des légumineuses améliorantes en cultures en allées à Kisangani. Thèse de doctorat inédite.
- Mbuyi, M., Kumbukama, L., et Ambali, L., 1994. Etude comparée de l'activité antibactérienne in vitro des extraits bruts et celles des alcaloïdes totaux isolés de *Penianthus longifolius niere* (menispermaceae) et *decognauxie trilobata* coyn (cucurbitaceae) in *Ann. Fac Sc. Unikis*, Vol 10 pp 119- 122.
- Mobambo, P.K.N., 2002. Stratégies de gestion intégrée des cultures pour la production de bananes plantains et le contrôle de la cercosporiose noire en République Démocratique du Congo. *Infomusa* 11 (1) : 3-6.
- Mourichon, X., 2003. Overview of progress and results since the first international workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas in 1989. In: L. Jacome, P. Lepoivre, D. Marin, R. Romero et J.V. Escalant, eds. *Mycosphaerella leaf spot diseases of bananas: present status and outlook*. Proceedings of the 2nd international

- workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases held in San José, Costa Rica, 20-23 May 2002. pp 11-18
- Mourichon, X., Peter, D. and Zapater, M.F. 1987. Inoculation expérimentale de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet sur des jeunes plantules de bananiers issues de cultures *in vitro*. *Fruits*, 42: 195-198.
- Mukendi, J., 2011. Efficacité de deux extraits de plantes à action biocides (*Tephrosia vogelii* et *Zingiber officinale*) sur la croissance *in vitro* de *Mycosphaerella fijiensis*, agent causal de la maladie des raies noires du bananier. mémoire inédit FAC. SC. AGR.Unikin, 29 p
- Nyakabwa, M. 1982. Phytocenose de lécosystème urbain de Kisangani. Thèse de doctorat, Unikis fac des sc. 481 p
- Onautshu, O., 2007. Etude de l'incidence des maladies et ravageurs chez les bananiers (*Musa* spp.) de la région de Kisangani (R.D.CONGO), D.E.A. inédit, Faculté des Sciences, UNIKIS, 54p.
- Orellena, P.P., Carabaloso, I.B., L.G. Rodríguez and Novisel Veitía Rodríguez, N.V., 2002. Evaluación de características agronómicas en clones híbridos de platanos (*Musa* spp). *In Acrobat : Memorias XV Reunión . Medellín (COL): Asociación de bananeros de colombia*, 4p.
- Pelt J.M. 1986. La médecine par les plantes, 154 -158 pp edit. Fayard, paris. 290 p
- Pennisi, E., 2010. Armed and dangerous, *Science*, Vol.327, pp. 804–805.
- Pérez, L., 1996. Manual para el control integrado de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) y Sigatoka amarilla (*Mycosphaerella musicola* Leach ex Mulder) en banano y plátano. Proyecto TCP/CUB/4454. 27pp.
- Ploetz R.C. & K.G. Pegg. 2000. *Fusarium* wilt. Pp. 143-159 in *Diseases of Banana*, Abacá and Enset (D.R. Jones, ed.). CABI Publishing. Wallingford, UK
- Ploetz, R.C., 2001. Black Sigatoka of Banana: the most important disease of a most important fruit. *The Plant Health Instructor*, DOI: 10.1094/PHI-I-2001-0126. Available at:
<http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/blacksigatoka.aspx>.
- Ploetz, R.C.; Zentmyer, G.A.; Nishijima, W.T.; Rohrbach, K.G.; Ohr, H.D., 1994. *Compendium of tropical fruit diseases*. APS PRESS.
- Remy, S., Buyens, A., Cammue, B.P.A., Swennen, R. and Sági, L., 1998. Production of transgenic banana plants expressing antifungal proteins. *Acta Hort.*, 490:433–436.

- Rhodes, P., 1964. A new banana disease in Fiji. *Commonwealth phytopathological News*, 10: 38-41.
- Romero R.A., 2000. Control. *In*: D.R. Jones, ed. *Diseases of Banana, Abacá and Enset*. Wallingford, UK: CABI Publishing. Pp 72-79.
- Sanchez Rodriguez, R., J.A. Pino Algora, C. Vallin Plous, M.E. Pérez Rodriguez, Y. Iznaga Sosa et F. Malpartida Romero. 2002. Action du fongicide naturel F20 contre la Cercosporiose noire (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) chez le bananier plantain (AAB) et le bananier (AAA). *INFOMUSA* 11(1):14-16. *Sciences*. Vol. 7, Issue 2: 822-833.
- Sebasigari, K et Stover, RH. 1988. Banana diseases and pests in Est Africa. Report of a survey in November 1987. Mont pellier, France INIBAP.
- Sebasigari, K.1990. Effect of black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) on bananas and plantains in the Imbo Plain in Rwanda and Burundi. *In* 'Sigatoka leaf spot diseases of bananas: Proceedings of an international workshop'. Costa Rica. (Eds RA Fullerton, RH Stover). (INIBAP).
- Sigatoka confirmed in Brazil. *Infomusa* 8 (1), 31p.
- Stewart, E.L., Liu, Z., Crous, P.W. and Szabo, L.J., 1999. Phylogenetic relationships among some cercosporoid anamorphs of *Mycosphaerella* based on rDNA sequence analysis. *Mycol. Res.* 103, 1491–1499.
- Stover, RH. 1989. Effet du cercospora noir sur les plantains en Amérique centrale. *Fruits* 38:326-329
- Stover, RH. Sebasigari, K. et Jones 2002. The spread of black Sigatoka throughout America. (INIBAP).
- Tushemereirwe, W.K., Waller, J.M. 1993. Black leaf streak (*Mycosphaerella fijiensis*) in Uganda. *Plant Pathology* 42, 471-472.
- Upoki, A., 2001. Etude du peuplement de bulbulus (Pycnonotidae, Passériformes) dans la Réserve forestière de Masako à Kisangani (R.D.Congo). Thèse de doctorat inédite, Fac. Sci., Kisangani. 160 p.
- Valnet, J., 1985. Se soigner par les légumes, les fruits et les céréales. Le livre de poche, Paris, 450 p
- Vishnevetsky, J., White, T.L., Palmateer, A.J., Flaishman, M., Cohen, Y., Elad, Y., Velcheva, M., Hanania, U., Sahar, N., Dgani, O. and Perl, A., 2011. Improved

- tolerance toward fungal diseases in transgenic Cavendish banana (*Musa* spp. AAA group) cv. Grand Nain. *Transgenic Res.*, 20:61–72
- Wagner, H., Blandt, S., Zgainski, E.M., 1984. *Plant Drug Analysis* Sprig – verlag, Nex – York, 320 p
- Wome, B. 1985. recherches ethnopharmacognosiques sur les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle à Kisangani (Haut Zaïre) ; thèse inédite, fac des Sc., WLB, tome I , 561 p.
- Zahalka, J.P., 2005. *Les plantes en pharmacie, propriétés et utilisations*. Ed. Dauphins, Paris. 545 p.

WEBOGRAPHIE

www.oms.org/2007

TABLE DES MATIERES

DEDICACE	
REMERCIEMENTS	
RESUME	
ABSTRACT	
INTRODUCTION	1
1. PROBLEMATIQUE	1
2. HYPOTHESES	2
3. OBJECTIFS	2
3.1. Objectif général.....	2
3.2. Objectifs spécifiques.....	2
4. INTERET	3
5. TRAVAUX ANTERIEURS	3
6. SUBDIVISION.....	3
CHAPITRE PREMIER : GENERALITES.....	4
1.1. PLANTES MEDICINALES	4
1.2. MEDECINE TRADITIONNELLE.....	4
1.2.1. Phytothérapie	6
1.3. La cercosporiose noire du bananier.....	7
1.3.1. Origine et distribution.....	7
1.3.2. Symptômes	8
1.3.4. L'agent pathogène : systématique et biologie.....	9
1.4. Epidémiologie	9
1.4.1. Cycle infectieux et développement.....	9
1.4.2. Effet des facteurs biotiques et abiotiques.....	11
1.5. Lutte contre la cercosporiose noire du bananier	11

1.5.1. Pratiques culturelles	12
1.5.2. Lutte biologique.....	12
1.5.3. Lutte chimique	12
1.5.4. Utilisation de variétés résistantes.....	13
CHAPITRE DEUXIEME : MATERIEL ET METHODES.....	14
2.1. MILIEU D'ETUDE	14
2.2. MATERIEL.....	15
2.2.1. Description de plantes.....	15
2.3. METHODES	18
2.3.1. Préparation des extraits des plantes	18
2.3.2. Obtention des souches	18
2.3.3. Sensibilité des souches aux extraits des plantes	19
2.4. Analyses statistiques.....	19
CHAPITRE TROISIEME : RESULTATS ET DISCUSSION.....	20
3.1. EXTRAITS BRUTS CONCENTRES.....	20
3.2. EXTRAITS ETHERES.....	22
3.3. EXTRAITS ETHANOLIQUE S.....	24
3.4. ANALYSES STATISTIQUES	27
CONCLUSION.....	29
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	30
TABLE DES MATIERES.....	37