

UNIVERSITE DE KISANGANI

*Département des Sciences
Biotechnologiques*



B.P 2012

FACULTE DES SCIENCES

**EVALUATION DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES DE
MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS AUX EXTRAITS DE *Senna
alata* et *Nicotiana Tabacum* DANS LA REGION DE KISANGANI
(RDC)**



Par

Nicole ASOBA MUWAWA

TRAVAIL DE FIN DE CYLCE

Présenté en vue de l'obtention du grade de
Gradué en Sciences

Option : Biologie

Orientation : *Sciences Biotechnologiques*

Directeur : Pr. ETOBO KALUNGA

Co-directeur : Dr. ONAUTSHU ODIMBA

Année académique 2013-2014

(Deuxième session)

DEDICACE

A l'Éternel Jésus-Christ le DIEU Tout puissant, Créateur de toute chose celui qui nous donne la vie et l'intelligence, par sa grâce nous avons réalisé ce travail,

A notre père Joseph BEJAMIN MOKANDONGA et à notre chère maman Aimérence SATIME LUKWESI, vous êtes très chers pour nous, nous vous aimons trop pour vos efforts et pour votre soutien,

A nos petits frères et petites sœurs que nous aimons beaucoup,

A tous les Scientifiques et tous les Chercheurs du monde qui œuvrent pour l'avancement de la Science,

A tous les peuples de la terre qui sont accablés par la guerre, maladie, misère, pauvreté et injustice sociale, etc.,

ASOBA MUWAWA Nicole

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail qui sanctionne la fin de notre cycle de graduat, nous sommes très contentes de ne remercier toute personne qui de près ou de loin, d'une manière ou d'une autre a participé à la réalisation

Nous exprimons notre profonde gratitude au Professeur Dr. ETOBO KALUNGA Jean Pierre et Docteur Didy ONAUTSHU, pour avoir accepté ensemble de diriger cette étude en dépit de leurs multiples occupations

Nous reconnaissons l'apport de tous les enseignants de la Faculté des Sciences, en particulier notre Professeur Ordinaire René OLEKO WOTO, et celui du Professeur Dr. Zoé KAZADI, sans oublier les chefs de travaux MAKELELE KAMBALE, BASILE SOLOMO, sans omettre papa André TSHITENGE pour tout ce qu'ils ont fait pour nous durant l'évolution de ce travail

Sincère remerciement à mon père Joseph BENJAMIN MOKANDONGA et à notre mère Emérence SATIME LUWESI.

Grand merci à mes sœurs Christine WALLITE, Nzoé DIEUT, Ruth BIYANO sans oublier nos Bergers RAOUL KATAMBWE, Paulin EANGHA et Yves BAMPILÉ.

Que nos frères, sœurs, amis et connaissances OKITO MOSINDO Alain, ASSUMANI, TSHOMBA, Trésor LODI, Nicole TOKE, Emma NTABONA, Délice BAWA, Flora AMUTA, Aline THAMUHIKIRE, Sarah ZAWADI, Béatrice KANDEGHU, Taicha AMADE, Herver SENGI, Emmanuela MBANGALE merci pour votre soutien et encouragement.

Que tous nos camarades de l'auditoire : ALFANI SHABANI, Winnie LIKILO YOWZ, Rose MOKILI, Vincent MONGENGO, Jules TONGANGA, Antoinette OTAY, Gloria OLEKO se sentent remercier pour leur bonne collaboration.

A tous et à chacun, nous disons grand merci !

ASOBA MUWAWA Nicole

RESUME

Dans le but de tester in vitro la sensibilité des extraits de plantes médicinales et de sélectionner celles-ci pour lutter contre la cercosporiose noire du bananier ; une étude a été menée sur deux plantes.

Les extraits bruts concentrés ont été obtenus après une préparation traditionnelle et concentrés à l'étuve.

Les extraits éthanoliques et étherés ont été obtenus par la méthode d'extraction à l'aide de l'éthanol à 95 % et de l'éther de pétrole.

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

Le logiciel R nous a permis de réaliser le test d'anova.

Au terme de cette étude, il ressort que deux plantes dont les extraits bruts sont concentrés en *Nicotiana tabacum* et *Senna alata* ont d'effets sur la croissance mycelienne.

Les recherches ultérieures approfondies sont à encourager dans le but de mettre à la disposition des cultivateurs de bananiers et bananiers plantains des produits pouvant traiter la cercosporiose du bananier dans la ville de Kisangani.

SUMMARY

In order to test the in vitro susceptibility of herbal extracts and select them to fight against the Black Sigatoka disease; A study was conducted on two plants. Crude extracts concentrates were obtained after a traditional preparation and concentrated in the oven.

The ethanolic and ethereal extracts were obtained by the extraction method with 95% ethanol and petroleum ether.

The method of inhibiting the mycelial growth on a Petri dish in a solid medium has been used to study the sensitivity of the stem vis-a-vis the extracts of medicinal plants. The R software has enabled us to achieve the test of ANOVA.

It follows from the work we have from two plant extracts goals concentrates *Nicotiana tabacum* and *Senna alata* which have no effect on mycelial growth.

Subsequent extensive research should be encouraged in order to make available to growers and banana plantains products that can treat Black Sigatoka in the city of Kisangani.

LISTE DES TABLEAUX

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

Tableau 2: Analyse de variance utilisée pour les plantes

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Description des stades de développement de la cercosporiose noire en champs

Figure 2 : Distribution géographique de la maladie des raies noires dans le monde

Figure 3. Représentation schématique du Cycle infectieux de *M. fijiensis*

Figure 4 : Carte de la ville Kisangani

Figure 5 : Plante de *senna alata*

Figure 6 : Plante de *Nicotiana tabacum*

Figure 7 : Croissance mycélienne de la souche de *M.fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Nicotiana tabacum*

Figure 8 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Senna alata*

Figure 9 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthanolique de *Nicotiana tabacum*

Figure 10 : Croissance mycélienne de la souche de *M.fijiensis* sur l'extrait éthanolique de *Senna alata*

Figure 11 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait étheré de *Nicotiana tabacum*

Figure 12 : Croissance mycélienne de la souche de *M.fijiensis* sur l'extrait étheré de *Senna alata*

Figure 13 : Mise de l'extrait brut aqueux dans le tube à essai pour les concentrer

INTRODUCTION

1. Problématique

Le bananier et le bananier plantain constituent, par rapport aux autres principales cultures en cuvette centrale congolaise de la province orientale en R.D.Congo, la deuxième position comme culture d'autoconsommation qui concourent grandement à la sécurité alimentaire de la population de cette contrée en majorité pauvre.

Elle constitue la culture commerciale, qui dans la plus part de cas, et la troisième source de revenu pour le ménages après les cultures de manioc, de riz ou du maïs voir même, après l'huile de palme. Ceci montre que les besoins en recherche, formation et diffusion des techniques pour cette culture et très importante. (Dhed'a *et a* ; 2011).

A Kisangani, plusieurs touffes de bananier en culture des cases dans ville présentent le symptôme de la maladie des raies noires (MRN). Il est donc impérial d'isoler et de caractériser les souches de *Mycosphaerella fijiensis*, car elle constitue l'une des contraintes majeurs au croisement de la production et a la stabilité de cette culture dans notre région tout en identifiant les cultivars résistants comme matériel de base pour un programme d'amélioration génétique.

Les champignons étant des vivantes, nécessairement ils possèdent les moyens de défense pour résister ou échapper à une attaque en présence d'antibiotiques ou des extraits de plantes.

Des études menées à Yangambi (RDC) ont montré que quatre cultivars de bananier et douze cultivars de bananier plantain étaient attaqués par la MRN seul le cultivar de bananier Yangambi Km5 (Ibota) manifeste une tolérance à cette maladie (Mobambo 2002), peut d'étude ont été consacrées à l'étude de la MRN et à la caractérisation des souches responsables de cette maladie dans la région de Kisangani vu l'importance de la culture de bananier et bananiers plantains.

Mycosphaerella fijiensis est un champignon qui cause la cercosporiose noire du bananier. Cette maladie perturbe complètement la croissance du bananier et les récoltes sont de moins en moins abondantes. Les bananiers étant une source énergétique très importante pour notre alimentation, la bonne conservation des ressources végétales, surtout alimentaire dont fait partie la banane et la banane plantain, seraient un apport pour minimiser les questions d'ordre alimentaire. A Kisangani les études qui ont été menée ont révélé que la

cercosporiose du bananier est parmi les principaux problèmes phytosanitaires que de la région de Kisangani après le charançon et le BBTD. La nécessité d'accroître la production dans cette région et la menace liée à la MRN. Ces études permettront d'évaluer la diversité des populations en fin de mieux comprendre l'épidémiologie de la maladie et les stratégies pour lutte et combattre cette maladie pour sécuriser l'alimentation de population agricole dans la région de Kisangani.

2. Objectifs

2.1. Objectif général

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

2.2. Objectifs spécifiques

Pour le présent travail, nous avons émis les objectifs spécifiques suivants :

- Tester les activités antifongiques des extraits bruts concentrés de quelques plants tels que utilisées par les tradipraticiens ;
- Tester les extraits éthanolique et étherés sur les souches fongiques ;
- Comparer l'activité des différents extraits de plantes utilisées.

3. Hypothèse

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, étherés réagiraient à divers degré ;
- Les différents extraits utilisés seraient actifs et réagiraient à de degrés différents sur les souches

4. Intérêt du travail

Ce travail s'inscrit dans la logique de revalorisation et de conservation de la biodiversité végétale et fongique enfin d'élargir les champs des recherches sur les plantes médicinales mais aussi pour la recherche de nouveaux principes antifongiques.

5. Subdivision

Hormis l'introduction et la conclusion, ce travail est constitué de trois chapitres. Le premier chapitre parle de généralités sur les plantes médicinales et les champignons, le second chapitre parlera de matériels et méthodes, enfin le troisième chapitre va s'attarder sur les résultats et la discussion.

CHAPITRE PREMIER : GENERALITES

1.1. Plantes médicinales

En remontant vers les époques immémoriales et sous tous les cieux, les plantes ont toujours été considérées non seulement comme une source importante d'alimentation pour l'homme, mais aussi comme une arme pour lutter contre les maladies (LWAMBWA, 1988).

Il est actuellement établi que les plantes médicinales constituent la principale matière première pour la médecine traditionnelle (KWALEPALEGA, 2008).

Le monde végétal offre d'énormes possibilités dont la phytothérapie. Raison pour laquelle les organismes internationaux, OMS en tête encouragent des études et des projets qui visent à sauvegarder la biodiversité végétale et à développer des médicaments à base des plantes ainsi qu'à promouvoir la médecine traditionnelle (KASEREKA, 1997).

Une plante est dite médicinale lorsque l'une de ses parties contient des principes ou des activités pharmacologiques menant à des emplois thérapeutiques. D'où tout végétal dont l'un (ou plusieurs de ses organes) renferme des substances pouvant être utilisées directement à des fins thérapeutiques, peut être considéré de médicinal (ADJAMOHOUM, 1982).

L'utilisation de plantes médicinales a pour principal rôle de guérir mais aussi de prévenir les maladies. Le progrès incontestablement considérable de la phytothérapie résulte d'une prise de conscience de certains spécialistes sur la nécessité d'utiliser les molécules de synthèse à bon escient (MOATTI, 1985).

Il s'avère nécessaire que les plantes reconnues médicinales en RD Congo puissent faire l'objet d'études chimiques et pharmacologiques approfondies pour l'isolement et l'identification des principes chimiques bien définis pouvant servir directement à des fins thérapeutiques ou en industrie pharmaceutique (DELAUDE, 1972).

La plante constitue, en effet, un arsenal très riche en groupe phytochimique, entre autre : les alcaloïdes, les glucosides, les saponines, les terpènes, les huiles essentielles, les résines, etc.

1.2. MEDECINE TRADITIONNELLE

Selon la définition officielle de l'OMS, la médecine traditionnelle « se rapporte aux pratiques, méthodes, savoir, croyance en matière de santé et implique l'usage des fins médicales des plantes, deux parties d'animaux, de thérapies spirituelles, techniques pour soigner les diagnostics et prévenir les maladies ou préserver la santé.

En Afrique, en Asie et en Amérique latine, différents pays appelés la médecine traditionnelle pour répondre à certains de leurs besoins au niveau de soin de santé primaire en Afrique jusqu'à 80% de la population en recours à la médecine traditionnelle à ce niveau dans les pays industrialisés, la médecine « complémentaire » ou « parallèle » est équivalent de la médecine traditionnelle (OMS 2007).

1.3. LA PHYTOTHERAPIE

La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits des plantes les principes actifs naturels (Valnet, 1985).

On peut la distinguer à trois types de pratiques :

- Une pratique traditionnelle, parfois très anciennes basées sur l'utilisation de la plantes selon les vertus découverts empiriques selon l'OMS, cette phytothérapie est considéré comme une médecine traditionnelle et encore Massiment employé dans certains pays dont les pays en voie de développement, c'est le plus souvent une médecine non conventionnelle du fait de l'absence de l'étude clinique.
- Une pratique basée sur les avancées et les scientifiques qui recherchent des extraits actifs i dans les plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. Cette pratique débouchée souvent sur la fabrication des médicaments pharmaceutiques ou de la phyto-médicaments, et selon la réglementation en vigueur dans le pays, leur circulation est soumise à l'autorisation de mise sur le marché (AMM) pour les préparations magistrales des plantes médicinales, celle-ci étant délivrée exclusivement en officines on parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique.
- Une pratique de prophylaxie déjà utilisé. Nous sommes tous des phytothérapeutes sans le savoir ; c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage de ciboulette, de l'ail, du thym, du gingembre ou simplement le thé vert... une alimentation équilibre certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactiques (Zahalka, 2005).

1.4. CERCOSPORIOSE NOIRE DU BANANIER

C'est une phytopathologie causée par le champignon *Mycosphaerella fijiensis*. Elle se caractérise par des nécroses foliaires entraînant de sévères pertes de rendement (Onautshu, 2013).

La cercosporiose noire du bananier ou maladie des raies noires (MRN) ou encore Sigatoka noire est une maladie fongique causée par *Mycosphaerella fijiensis*. Elle est considérée comme la maladie la plus dévastatrice de bananiers (Lassoudère, 2007) et la plus importante sur le plan économique (Pennesi, 2010).

La maladie de raies noires du bananier qui a désormais envahi tous les continents de l'hémisphère sud, a pour origine géographique l'Asie du Sud-est. C'est le résultat que vient de confirmer une équipe du CIRAD. Les chercheurs ont également qu'en Afrique et en Amérique latine, l'introduction de cette maladie s'était faite selon deux scénarios différents (Onautshu, 2013).

La MRN cause de dégâts importants dans les cultures des bananiers plantains dans le monde (Stoven *et al.* 1993). Au cours des dernières années *Mycosphaerella fijiensis* s'est répandu dans les zones subtropicales car il est capable d'infecter presque tous les types de bananiers comestibles en raison du manque de résistance (Jone 2009). Cette maladie a remplacé progressivement la cercosporiose jaune (maladie de Sigatoka) causée par un champignon du même genre *Mycosphaerella musicola*.

1.5. SYMPTÔME

Il est parfois difficile de distinguer les symptômes par la MRN de ceux produits par la maladie de Sigatoka (MS). De manière générale le premier symptôme de la MS apparaît sur la face supérieure du limbe sous forme des tirets jaune-pâle tandis que ceux produits par la MRN apparaissent à la face inférieure du limbe sous forme des tirets marron-foncé de 1à2m de long et s'élargissent ensuite pour formé des lésions nécrotique à halo jaune et centre gris- clair. Les lésions peuvent devenir coalescentes et détruire des vastes portions de tissus foliaires, entraînent une maturation prématurée des fruits (Mourichon *et Al* 1997).

La MRN revêt un caractère de gravité plus important que la MS, car ses symptômes se manifestent sur les feuilles à un plus jeune âge (l'*inoculum* étant abondant) et causent donc d'avantage de dégâts au système foliaire du bananier. En outre elle affecte de

nombreux cultivars résistants à la maladie de Sigatoka (INIBAP 2002), l'évolution des symptômes dépend du cultivar de la quantité d'*inoculum* primaire de la température et de l'humidité (Fuller tan, 1994) en conditions naturelles (champs).

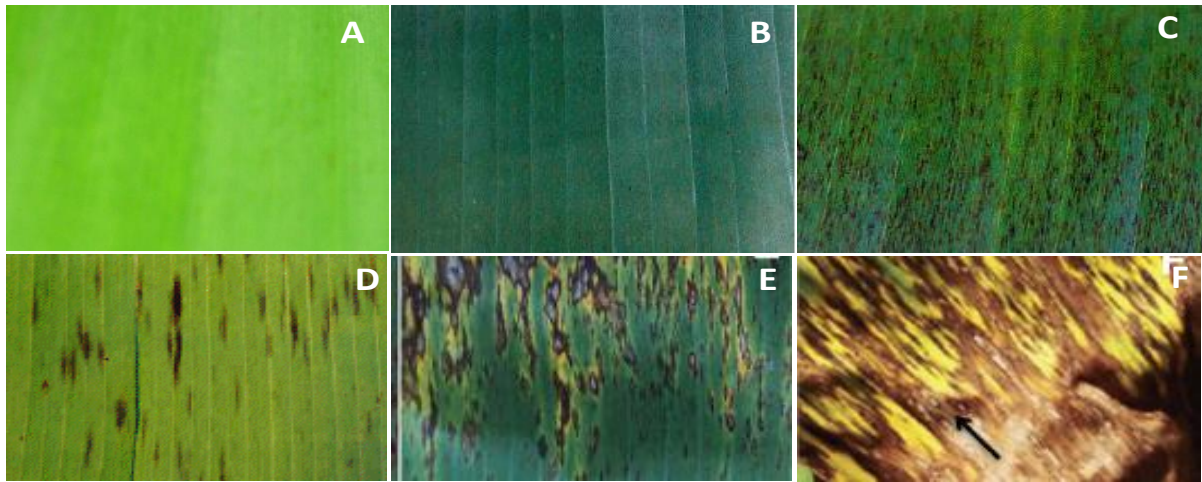


Figure 1. Description des stades de développement de la cercosporiose noire en champs d'après Fouré (1982). A = Stade 1 : Décolorations et ponctuations brunes de moins de 0,5 mm sur la surface inférieure de la feuille ; B = Stade 2 : Raies brunes rouilles inférieures à 4 mm et visible sur les deux faces ; 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, 2011).

La maladie des raies du bananier due au *Mycosphaerella fijiensis* évolue à l'intérieur de la plante selon la succession de stades suivante :

Stade1 : Les premiers symptômes sont des petit points de dépigmentation ; blanchâtres visibles uniquement à la face inférieure du limbe

Stade2 : Tirets brun rouille sur le deux faces, surtout sur la face inférieure

Stade3 : allongement et élargissement des tirets ; devenant des taches

Stade4 : ces taches sont brunes, rondis ou elliptique

Stade5 : les taches deviennent noires, généralement entourées d'un halo jaune

Stade6 : le centre de la tache s'assèche avec un halo noir, lui-même entoure de jaune

L'évolution de la maladie est beaucoup plus rapide que celle de la cercosporiose jaune, de larges raies à noires se développent rapidement, les liaisons

coalescentes sont souvent observées sur des feuilles de 5 ou 6 (bananiers Cavendish), ce qui est exceptionnel avec la cercosporiose jaune, les conséquences économiques sont beaucoup plus graves ; les pertes peuvent représenter 50 de la récolte.

1.6. L'AGENT PATHOGENE RESPONSABLE

L'agent causal de la MRN du bananier est *Mycosphaerella fijiensis* Morellet ce champignon appartient au *Phylum* des *Ascomycota* ; classe des *Dothideomycètes* sous-classe de *Dothideomycetidées*, ordre des *Capnodiales* famille des *Mycosphaerellaceae* genre *Mycosphaerella* (Churchill, 2011) *M. fijiensis* est un champignon qui se reproduit de façon sexuée et asexuée (Fahleson et al, 2009). La forme asexuée (anamorphe) est appelée *fijiensis* (Crous et al, 2003, 2009 Stewart et al, 1999), le cycle sexuel joue un rôle épidémiologique. *Paracercospora*.

1.7. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

L'agent de la maladie des raies noires due au *M. fijiensis* a été décrit pour la première fois aux îles Fiji en 1963 (Rhodes, 1964). Elle s'est en suite rependue dans tout le pacifique jusqu'en Australie en 1982 (Jones 1982).

En Amérique latine, la maladie est décrite en 1972 Honduras (Stover 1980). Son développement est très rapide dans cette partie du continent, elle est observée tour à tour au Brésil en 1975 au Guatemala et au Costa-Rica en 1977, en Salvador et Nicaragua en 1980, en Colombie en 1981 et au Nord de l'Equateur en 1986. Le fléau semble progresser vers le Venezuela (Mourichon et Fullerton ; 1990).

En Afrique, elle a été observée pour la première fois en Zambie en 1973 (Raemaekers, 1975) et de là la maladie appris deux axes. Le premier axe vers l'Afrique de l'ouest et Gabon en 1978 (Frossard, 1980), au Cameroun en 1980 (Tézenas du Montcel, 1982), au Nigeria en 1986 et au Togo en 1988 (Mourichon et Fullerton, 1990), le second fait se dirigé vers l'Afrique centrale et de l'Est ; au Congo en 1985 (Mourichon 1986) ; dans l'est de la RDC au Rwanda, Burundi et Tanzanie en 1987 (Sebasigari et Stover, al, 1992) et en Ouganda (Tushemereirwe et Waller, 1993).

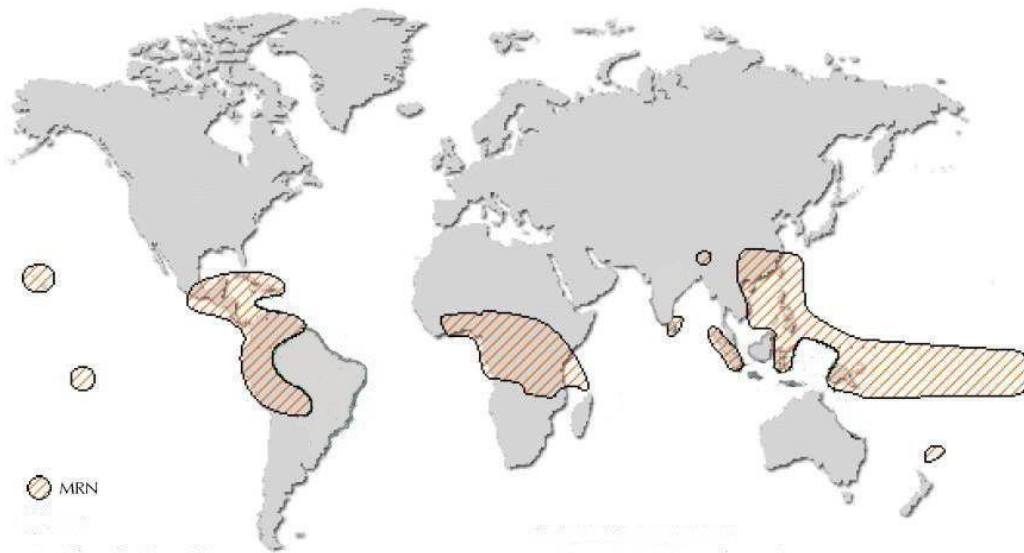


Figure 2 : Distribution géographique de la maladie des raies noires dans le monde (Adaptée de Mourichon et al. 1987 ; Cabi, 2007).

1.8. CYCLE INFECTIEUX DE BASE DE *M. fijiensis*

M. fijiensis développe un cycle infectieux haplobiontique (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 3).

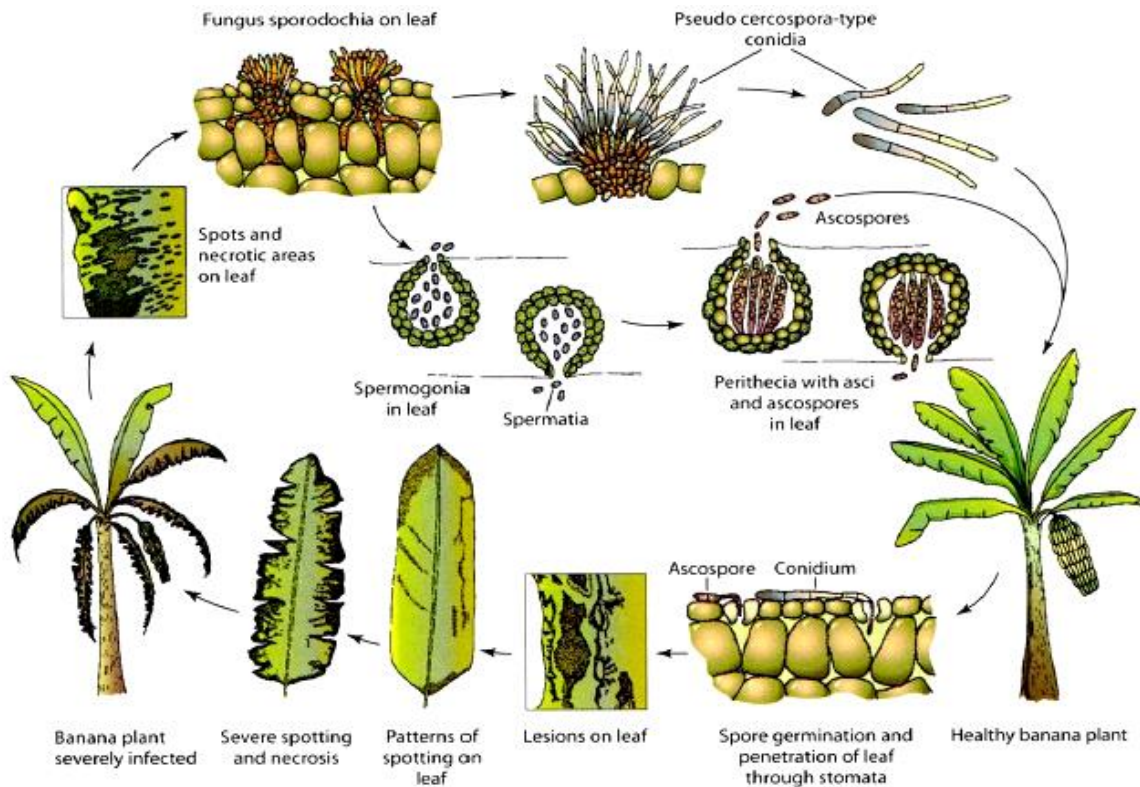


Figure 3. Représentation schématique du Cycle infectieux de *M. fijiensis* (Agrios, 2005).

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.

CHAPITRE DEUXIEME : MATERIEL ET METHODES

2.1. MILIEU D'ÉTUDE

Cette étude a été effectuée dans la ville de Kisangani, chef-lieu de la Province Orientale. La Ville de Kisangani est située au nord – est de la cuvette centrale congolaise, à 0°31'00" Nord et de 25° 11'00" Est. Son attitude moyenne est de 396 un (NYAKABWA, 1982). Sur le plan administratif, Kisangani est constitué de 6 communes : Kisangani, Makiso, Mangobo, Kabondo et Lubunga, couvrant une superficie totale de 1,910km².

2.2. SITUATION CLIMATIQUE

Située près de l'Equateur, la ville de Kisangani bénéficie d'un climat équatorial du type continental appartenant à la classe Afrique de la classification de Koppen.

Dans ce système de classification « A » désigne un climat chaud avec les 12 moyennes mensuelles supérieure à 18°C « f » le climat humide la pluviosité et repartie sur toute l'année c'est-à-sa saison sèche absolu et dont la hauteur mensuel de pluies du mois le plus sec est supérieurs à 60mm « i » indique une très faible attitude thermique (Juakaly, 2007).

Selon Soki (1999), la T° varie entre 25, 3°C en Mars et 23,5°C en Aout, avec une moyenne annuelle de 24,4°C de moyenne mensuelle de température abondantes de toute l'année avec une hauteur moyenne annuelle de 1782,7mm. En période qui correspondent aux saisons subsèche de notre région, les maxima sont constatés en Mai (178,7mm) et en octobre (237,4mm) mois qui correspondent aux périodes des grandes pluies à Kisangani.

Dans la région de Kisangani, les précipitations sont abondantes, mais irrégulièrement répartis sur l'année la moyenne annuelle pluviométrie calculée pour une période de 50 ans (de 1956 à 2005) affiche 1,724mm, pour une température annuelle des moyennes de 25,3°C. La hauteur mensuelle de précipitation est supérieure à 60mm (Kahindo, 2009).



Figure 4 : Carte de la ville Kisangani (image Landsat, collection 2005-2010, Daum : WGS 84, Labo carto RRN/PO in Ndjele, 2013).

2.2. MATERIELS

2.2.1. Matériel végétal

1. *Senna alata* (L). Synonyme *Cassia alata*

Non vernaculaire: Ofofo (KUMU)

Organe utilise: Feuille

La décoction d'environ 350gr de feuilles pillées dans 1l d'eau est bue à la dose d'un verre à bière par jour pendant 3jours pour combattre la blennorrhagie et la mycose (Adjanooun *et al.* 1982).

❖ Usage

Le décocté aqueux des feuilles fraîches est indiqué antiictérique et antalgique per os ; il est aussi conseillé à la femme présentant des leucorrhées. Les tiges feuillées fraîches associées aux racines de *Fagara zanthoxycoïdes*. Sont conseillés chez les malades souffrant d'œdème généralisé ou chez les femmes souffrant d'une aménorrhée non gravidique. Elles sont purgatives en décoction aqueuse per os (Adjanooun *et al.* 1982).



Figure 5 : Plante de *Senna alata*.

Arbuste de 3 m de haut aux feuilles paripennées 8 à 15 paires de folioles obovale arrondies à chaque extrémité. 15 cm de longueur. 3 à 8 cm de largeur. Pétiole et rachis de 3 cm de longueur. Rachis transversales reliant les folioles. L'inflorescence en racème, dense, dressée, jeune. Fruit droit oblongs. Ailes mous à maturité jusqu'à 25 cm de longueur et 1,8 cm de largeur (Adjanooun *et al.* 1982).

2. *Nicotiana tabacum*

Nom vernaculaire : Luyengele (Kumu)

Organe utilisé : Feuille

❖ Usage

La poudre des feuilles calcinées est administrée par voie orale dans le traitement d'épilepsie et mycose. Les feuilles sont utilisées per os sous forme de macère alcoolique en association avec des fruits de *Xylophia* ou de macère aqueux en association avec le bulbe d'*Allium cepa* dans les convulsions, le macère alcoolique de la pulpe des feuilles est administré par voie orale dans les convulsions hyper pyrétiques (Adjanooun *et al.* 1982).



Figure 6 : Plante de *Nicotiana tabacum*.

Plante annuelle à tige robuste pouvant atteindre 2 m de hauteur. Feuilles velues, visqueuses ; ovales ou lancéolées, courtement accumulées de cures, à la base nervures latérales de 6 à 8 paires proéminentes, rougeâtres, roses, parfois jaunâtre, infundibuliformes, avec un tube glanduleux, visqueux.

Fleurs blanches, rougeâtre, rose, parfois jaunâtres, peut atteindre 4 cm de longueur. Fruit à capsule de 1,5 à 2 cm de longueur, entourée du calice persistant, graines minuscules nombreuses brunâtres (Adjanooun *et al*, 1989).

2.2.3. Souches Fongiques

Les souches de *Mycosphaerella fijiensis* utilisées ont été isolées à partir des échantillons de feuilles de bananier récoltées dans la région de Kisangani (RDC). Ces feuilles présentent les symptômes de la maladie de raies noires.

L'isolement a été réalisé par la technique de décharge des ascospores sur milieu Agar (HA) puis repiquer sur milieu PDA (Onautshu, 2013).

2.3. METHODES

2.3.1. Préparation des extraits des plantes

❖ Extraits bruts concentré

10ml de chaque extrait 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, en suite trempés dans l'eau distillée stérile pendant 20 minutes, puis déposés sur les couvercles de boîtes de pétri inversées contenant un gel d'agar a 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).

Le repiquage monoascospore 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 pérennante. La croissance mycélienne a été suivie régulièrement pendant 14 jours en mesurant chaque explantant sous différents extraits en raison de 2 répétitions par extrait de plantes étudiées.

CHAPITRE TROISIEME : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. EXTRAITS BRUTS CONCENTRÉS

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Nicotiana tabacum* est illustrée par la figure 7.

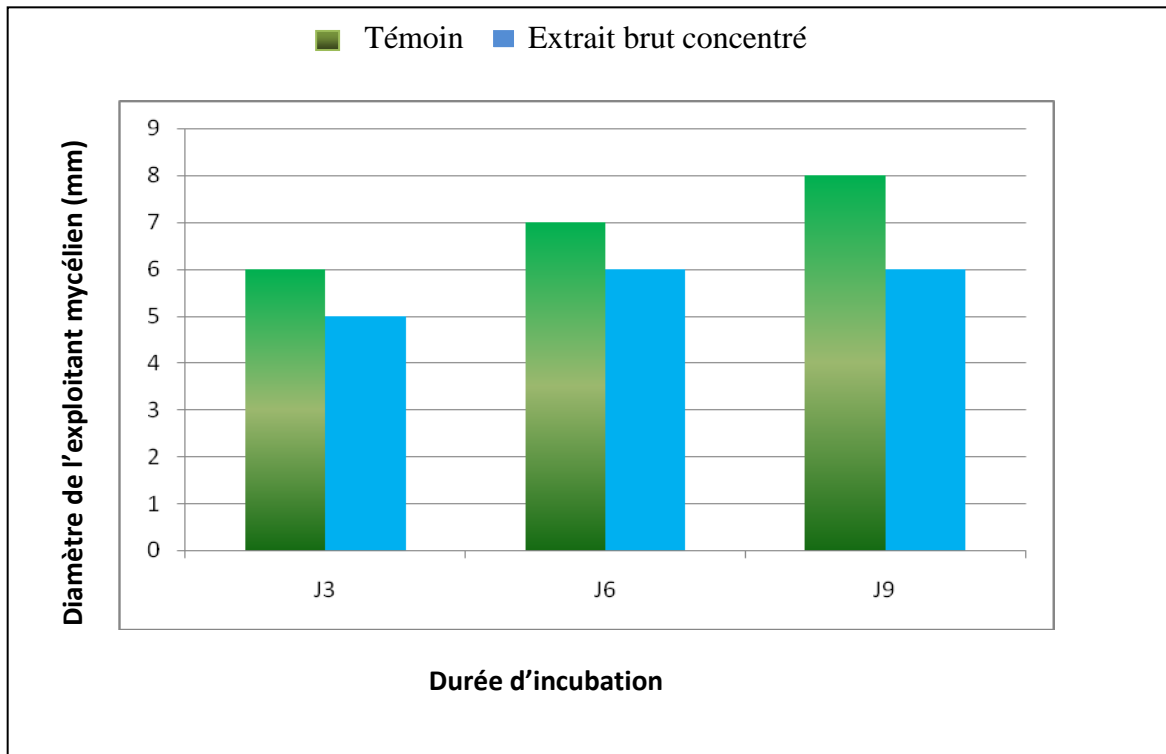


Figure 7 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Nicotiana tabacum*

Cette figure montre qu'après trois jours d'incubation de l'explantant mycélien de la souche de *M.fijiensis* sur l'extrait brut concentré, le témoin a montré une croissance de 6mm de diamètre alors qu'il n'y a pas de croissance de la souche en présence de l'extrait. Alors qu'au sixième et neuvième jour d'incubation, on a observé une croissance de 7mm et de 8mm respectivement pour le témoin tandis que la souche mycélienne est restée à 6mm de croissance.

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Senna alata* est illustrée par la figure 8.

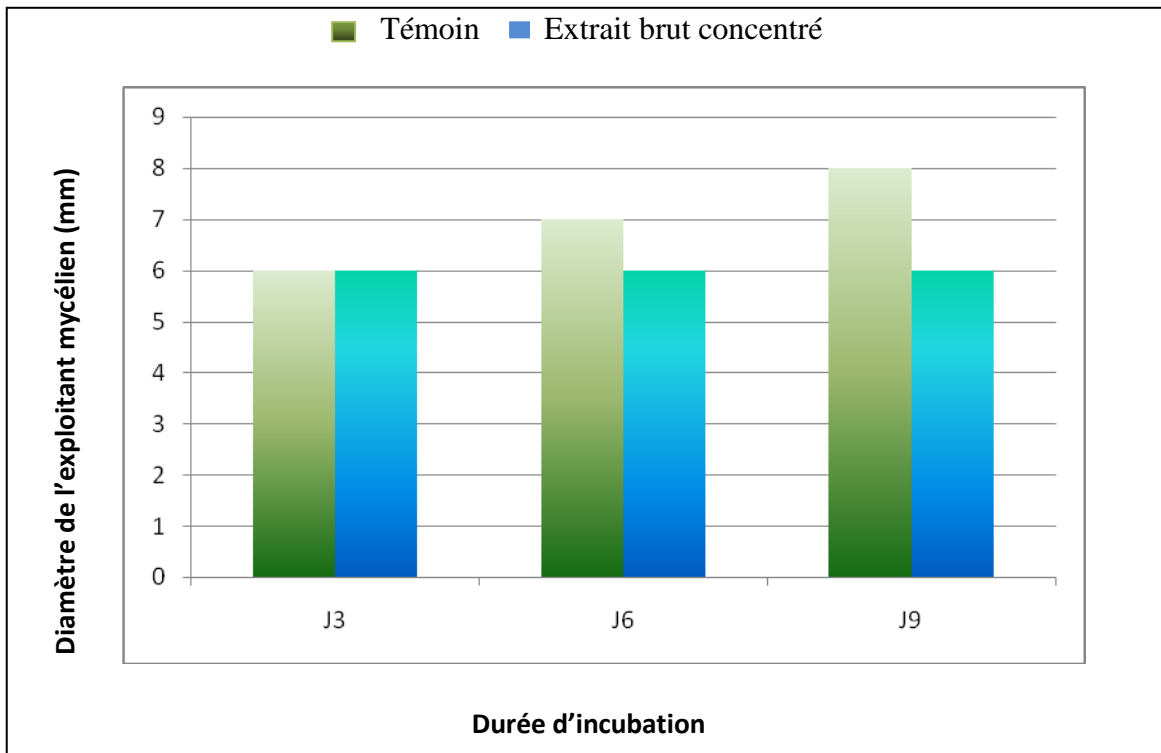


Figure 8: Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Senna alata*

Il relève de la figure 8 que l'extrait brut concentré de *Senna alata* a cru au même moment que le témoin de troisième jour d'incubation de la même espèce. Au sixième jour d'incubation, on constate une différence entre le témoin et l'extrait dont l'extrait a présenté une croissance de 1 mm de diamètre que celui de témoin qui était de 2 mm de diamètre respectivement. Le neuvième jour d'incubation est caractérisé par une croissance rapide de l'extrait qui a présenté 3,5 mm de diamètre alors que le témoin était que de 3 mm de diamètre.

3.2. EXTRAITS ETHANOLIQUES

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthanolique de *Nicotiana tabacum* est illustrée par la figure 9.

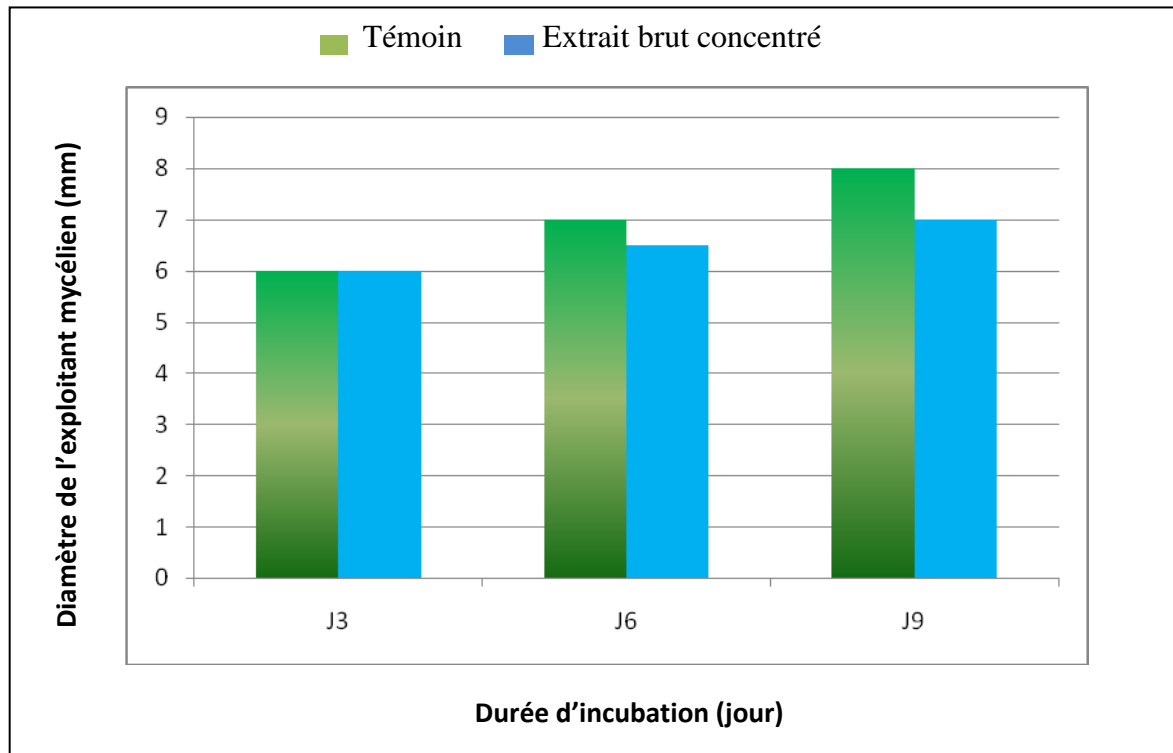


Figure 9 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthanolique de *Nicotiana tabacum*

On observe sur cette figure que l'extrait éthanolique de cette plante a présenté une croissance identique du troisième au neuvième jour d'incubation dont 1mm de diamètre de l'explantant mycélien, alors que le témoin a cru de 1 à 2 mm de diamètre entre le troisième et neuvième jour d'incubation respectivement.

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthanolique de *Senna alata* est illustrée par la figure 10.

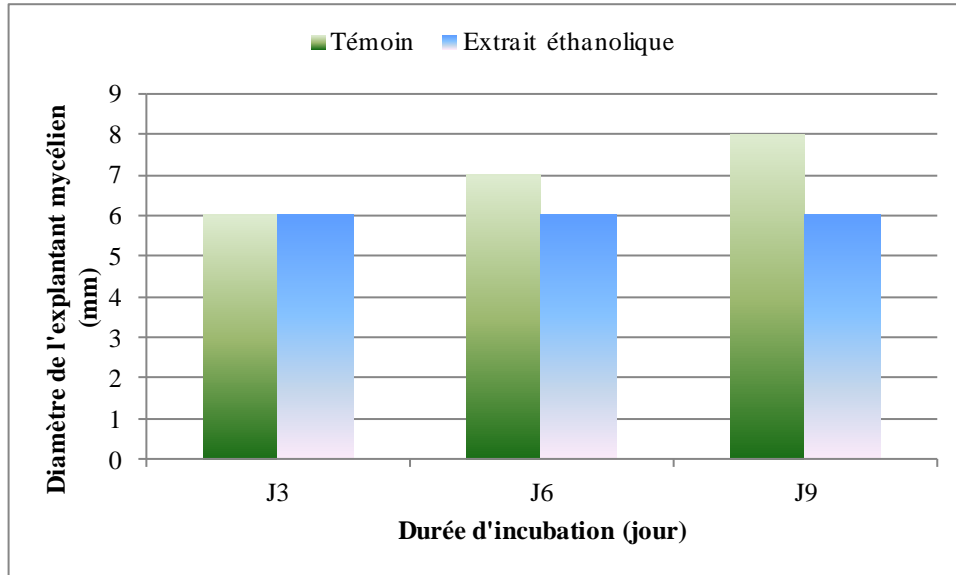


Figure 10: Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthanolique de *Senna alata*

On observe sur cette figure que l'extrait éthanolique de cette plante a présenté une croissance identique alla du troisième au neuvième jour d incubation dont 1mm de diamètre de l'explantant mycélien ,alors que le témoin a cru de 1 a 3mm de diamètre entre le troisième et neuvième jour d incubation respectivement.

Comparativement à la figure précédente, il ressort que l'extrait éthanolique de toutes ces deux espèces ont présentés le même résultant dont le 1mm de croissance mycélienne entre troisième et neuvième jour d incubation.

3.3. EXTRAITS ETHERES

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthéré de *Nicotiana tabacum* est illustrée par la figure 11.

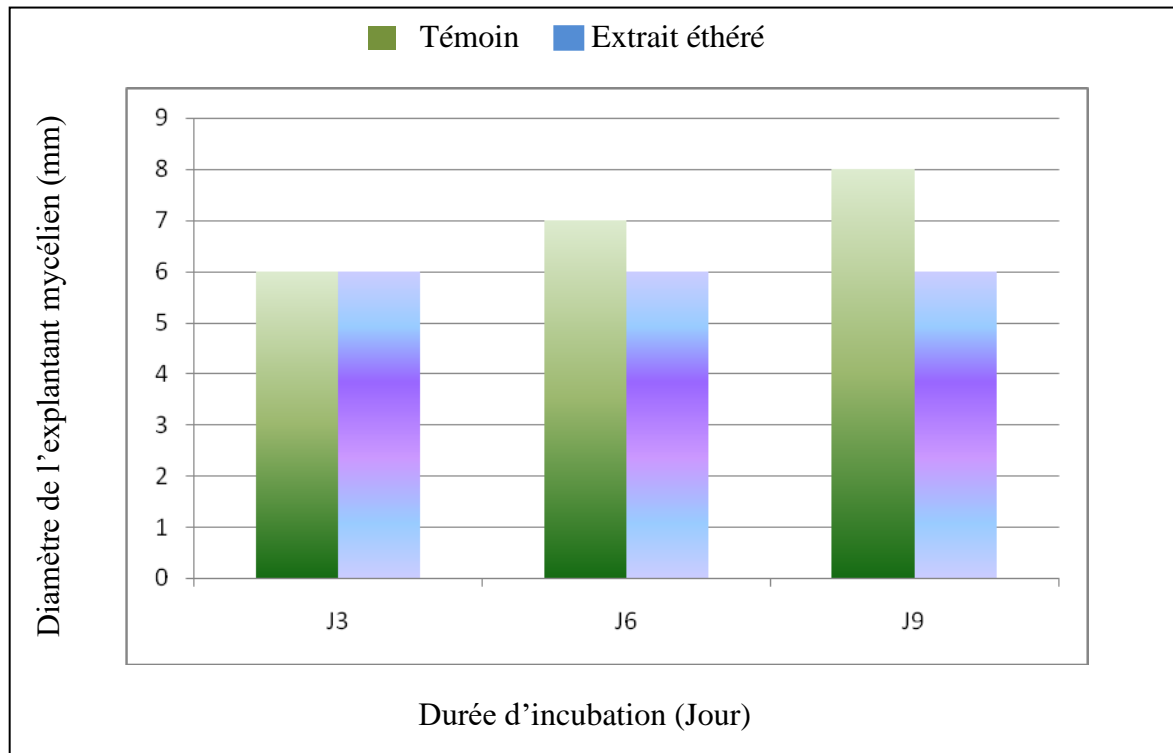


Figure 11 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthéré de *Nicotiana tabacum*

La figure 11 nous montre qu'au troisième jour d'incubation, on a observé une croissance de 1 mm de diamètre de l'explantant alors qu'au sixième jour d'incubation, l'extrait a présenté une croissance mycélienne de 1 mm dont le témoin a évolué normalement avec une croissance de 1 à 2 mm de diamètre respectivement. Le neuvième jour d'incubation est caractérisé par une différence de 1 mm de diamètre dont le témoin a présenté 3 mm et l'extrait 1 mm de diamètre respectivement.

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthéré de *Senna tabacum* est illustrée par la figure 12.

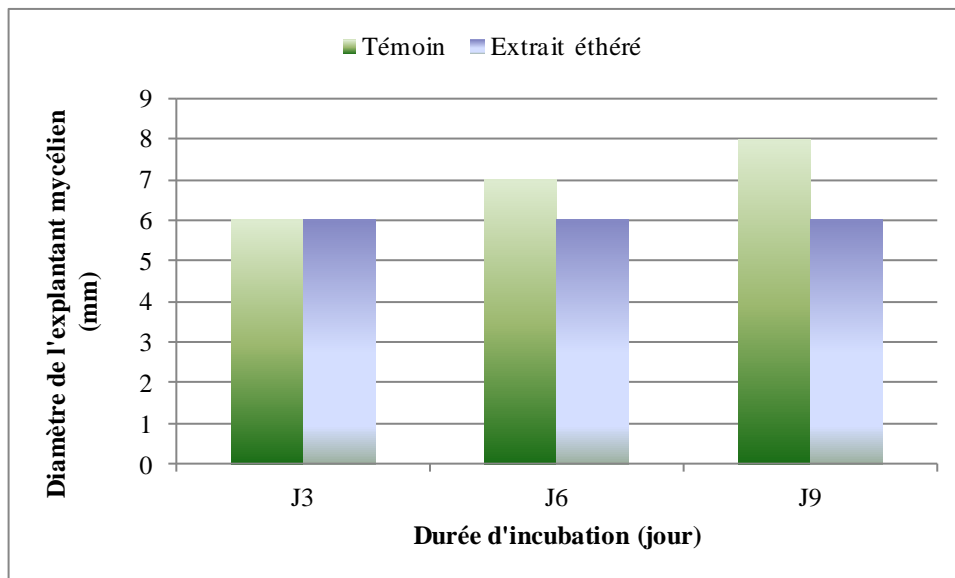


Figure 12 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthéré de *Senna alata*

Il ressort de la figure 12 que l'extrait éthéré de *Senna alata* a présenté une croissance mycélienne identique à celle du témoin du troisième au neuvième jour d'incubation, avec un diamètre de 1 mm de l'explant mycélien, alors que le témoin a cru de 1 à 3 mm de diamètre entre trois et neuf jours d'incubation respectivement.

En comparant notre résultat avec le tableau 3 à l'annexe illustre après l'ensemencement avec celui de Mukendi (2011) qui avait également travaillé avec deux plantes (*Zingiber officinale* et *Tephrosia vogelii*) séparément et plus le mélange de ces deux plantes.

Le résultat obtenu par Mukendi (2011) a montré que la croissance du *M. fijiensis* est affectée par l'incorporation d'extrait des plantes qui montre deux tendances :

- La première tendance montre que *Z. officinale* et le *T. vogelii* regorgeaient une activité fongicide pouvant être exploitée dans la lutte contre le *M. fijiensis* ;
- A la seconde tendance il est observé la neutralisation réciproque ou à la synergie des effets fongicides par les substances contenues dans les deux plantes utilisées ;

- Dans les deux premières semaines les souches avaient montré une croissance de 1 à 2,3 cm à la 1^{ère} lecture, 0,6 à 1,4 cm à la 2^{ème} lecture et de 0 à 0 cm à la 3^{ème} lecture pour la première espèce . Pour la deuxième espèce on observe une croissance de 0,3 à 0,5 cm à la 1^{ère} lecture et la 2^{ème} et 3^{ème} ont présentées manque de croissance c'est à dire 0 cm pendant les deux premières semaines.

3.4. ANALYSES STATISTIQUES

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

$t = -1.1034$, $df = 15.113$, $p\text{-value} = \mathbf{0.2871}$

Il n'existe pas des différences significatives entre les plantes utilisées au regard de leur croissance mycélienne

Tableau 2: Analyse de variance utilisée pour les plantes

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Plante	2	1.5694	0.78472	1.4612	0.2632
Residuals	15	8.0556	0.53704		

Il ressort des tableaux 1 et 2 qu'il n'existe pas des différences significatives entre les extraits des plantes utilisées d'une part et les plantes elles mêmes d'autres part.

CONCLUSION ET SUGGESTIONS

La présente étude porte sur l'évaluation de la sensibilité des souches de *M. fijiensis* aux extraits cas de (*Nicotiana tabacum* et de *Senna alata*) dans la région de Kisangani. Elle se fixe comme objectif de recherche les plantes médicinales, mais aussi pour la recherche des nouveaux principes antifongiques.

Les différents extraits bruts concentrés testés montrent qu'il y a l'efficacité à l'activité inhibitrice des souches de *M. fijiensis*. Cela serait dû à la concentration des extraits par ailleurs, les extraits éthers et éthanoliques qu'il y a d'effet dans les souches *M. fijiensis*.

Partant de l'hypothèse émise, pour cette étude, nous trouvons qu'elles sont acceptées suite aux résultats obtenus et la troisième a été rejetée, ces résultats pourraient être une bonne piste à explorer en vue de trouver des nouvelles molécules actives contre *Mycosphaerella fijiensis*.

A l'issue de ce travail, nous suggérons toutes fois, que les chercheurs puissent continuer avec les études de cette maladie d'une manière approfondie notamment de mener les recherches sur la distance de dispersion des ascospores afin de limiter les dégâts liés à l'infection par la cercosporiose noire des bananiers. La formation et la collaboration de plusieurs spécialistes restent à renforcer afin d'améliorer les connaissances dans ce vaste domaine.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADJANOHOUM, E., 1982 : Evaluation des recherches sur les plantes médicinales en Afrique in présences Africaine-Revue culturelle du monde noir, n°124, Paris, 180 p.
- CHUCHILL ; A.C.L, 2011. *Mycosphaerella. Fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana : progress to wards understanding pathogen biology and detection, disease developpement, and the challenges of control. *Molecular plant pathology*. 307-328.
- DELAUDE, P., 1982 : Histoire et Renouveau de plantes médicinales, Albanien Michel Paris, 3529 p.
- ETOBO, K. 2007 : Etude de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes médicinales sur les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani, DEA inédit UNIKIS. Fac des sciences. 93 p.
- ETOBO, K., 2012 : Etude de l'activité antibactérienne des extraits de quelque plantes médicinales sur les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani, Thèse inédit UNIKIS. Fac des Sciences. 142 p.
- JONE, D, 2000: fungal diseases of banana fruit prehavest diseases in diseases of banana A baca and. Cabi publishing. Walling ford (GBR). In YENGA, 2008.
- JONES, D., 1984 : Failure of the black Sigatoka eradication programme in the Torres Strait region this tralasian plant pathologie, 13(4): 57-58.
- JONES, D.R., 2009 : Diease and Pest Constraints to banana production *Acta Hontic*. 828. 21-36
- JUAKALI, M. 2007, Macrofaune et misofaune du sol dans uin système de culture sur brulis en zone équatoriale (Kisangani, Masako, RD Congo) distribution spéciale et temporelle, Diss. Inédit. Fac. SC. UNIKIS, 86 p.
- KAHINDO, M., 2011. Potentiel en produits forestiers autres que le bois d'œuvre dans les formations forestières de la region de Kisangani, cas de notion *Enemospatha Craulle Villeana* de wild et la *Ecosperma secundi florum*

(p. Beauv.) kuntze de la reserve forestière de Yoko (Province Orientale, RDCongo). Thèse Inédit. UNIKIS. 269 p.

KASAREKA, K 1997 : Evaluation de l'activité anti staphylococcique des extraits de *Heinsia urinita* G TAYL (Rubiaceae) in vitro et étude de leur composition chimique Mémoire inédit, UNIKIS, Fac. sc., pp1-20.

KWALEPALEGA, A 2008 : Etude de l'activité antibactérienne des extraits chloroformique de quelque plantes médicinales sur les souches résistantes aux antibiotiques courants a Kisangani, Mémoire inédit, UNIKIS, Fac des Sciences, pp11-15.

LASSOUDIÈRE ; 2007 : Le bananier et sa culture, édition quae 384 p,

LWAMBWA, K, 1988 : Contribution à l'étude l'activité anti-staphylococcique de quelque plantes médicinales TFC inédit, UNIKIS Fac. des Sciences, pp11-21.

MANDELO, B., 2008 : Etude de l'activité antibactériennes des extraits éthérés et éthanolique de quelques plantes médicinales sur les souches résistantes à l'antibiotique courant à Kisangani, Mémoire inédit, UNIKIS, Fac Sc 22 P

MANDELO, K 1982 : Contribution à l'étude de la pharmacopée Zaïroise traditionnelle légumineuse médicinale et toxique du Kasai occidental. Mémoire de DES inédit, UNIKIS, Fac. des Sciences, 154 p.

Marin, D.H., R.A., Guzma, M, Sutton, T.B., 2003. Black sigatoka ; an increasing to banana cultivation Plant Disease 87 :208-222 p.

MBUYI;M., Kumbukaena, L.B. et Ambali, L., 1994 : etude comparée de l'activité antibacterienne invitro des extrais bruts et celles des alcaloïdes totaux isolés de *penianthus longifolus* Miers (Menispermaceae) et de *cognauxiatriilo batocogen* (curubitaceae) in ann. Fac.sc. pp.119.

MOATTI, R., 1985 : Les vrais domaines des plantes médicaments in science et vie n°150, Paris, pp 68-77.

MOBAMBO, K., 2002: Stratégie de gestion intégrée de culture pour la production de bananier plantain et le contrôle de la cercosporiose en République Démocratique du Congo INFOMUSA 11 :3-6

- MOURICHON, X 1986 : Mise en évidence de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agent de la maladie des raies noires (black leaf streak) des bananiers plantains au Congo fruits, 41 : 371-374.
- MOURICHON, X. et FULLENTON, R., 1990: Géographical distribution of the two species *Mycosphaerella musicola* leach (cercosporamusal) and *M. fijiensis* Morelet (*C. fijiensis*), respectively agenyys of Sogatoka disease and black leaf streak disease in banana and plantains Fruits (paris), 45(3): 213-218
- NYAKABWA, M., 1976 : Flore urbaine de Kisangani, Mémoire Inédit, Faculté des sciences, UNAZA 159p.
- OKITO M, A, 2012 : Etude de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes médicinales sur les staphylocoques résistants aux antibiotiques courants à Kisangani TFC Fac Sc., 27 p.
- OMS : 2007. Plantes médicinales. Disponible sur www.oms.org.
- ONAUTSHU, O., D., 2013 : Caractérisation des populations de *Mycosphaerella fijiensis* et épidémiologie de la cercosporiose noire du bananier (*Musa spp*), thèse de doctorat dans la région de Kisangani (RDC), 309 p.
- RAEMAEKERS R. H., 1975: Black leaf streak like disease in Zambia Pans 21 (4): 396-400.
- RHODES, P., 1964: A new banana disease in Fiji conimo nweath phytopathological News 10:38-41
- SOKI, K., 1994 : Biologie et Ecologie des termites (*Isoptera*) des forêts ombrophiles du Nord-est du Zaïre (Kisangani), Thèse inédite, Fac.Sc., ULB, 320 p.
- STOVEN, R. H., 1980 : Sigatoka leat spot of bananas and plantains, plant disease 64:750-755.
- STOVER R. H., 1980: Sigatoka leat spot of bananas and plantain plant Disease 64: 750-755.
- STOVER R. H., and Simmonds N.W., 1987: Banana 3rd ed Longman scientific and technical London 468 p.

TEZENAS du Montcel H., 1982: proposition d'étude pour la lutte contre la Cercosporiose noire sur les plantains d'hevecan au Cameroun rapport d'activité 1980-82 Centre de recherche d'Ekona Ekona Cameroun : 122 p.

TUSHEMEREIRWE. W. et WALLON J., 1933: Black leaf streak (*Mycosphaerella fijiensis* in uganda plant pathology 42 (3): 471-472.

VALNET, J., 1985 : se soigner par les légumes, les fruits et céréales, Ed. Le livre de poche Paris, 450 p.

WOME, B 1977 : Plantes médicinales des Kisangani, Mémoire inédit UNAZA, Fac des Sciences, 79 p.

WOME, B 1984 : Les plantes employées dans le traitement des maladies vénériennes en médecine traditionnel à Kisangani (Haut-Zaïre) Bull Soc Roy Bot Belge 177, pp171-180

ZAHALKA, J-P., 2005 : Les plantes en pharmacie propriété et utilisation Ed. Dauphis, Paris, 545 p.

SITE WEB

1. www.Oms.org/2007

ANNEXE

Tableau 3 : Résultat de croissance mycélienne

Plantes	Extrait	Témoin	Diamètre
<i>Nicotiana tabacum</i>	Brut concentré	6	5
		7	6
		8	6
<i>Senna alata</i>	Brut concentré	6	6
		7	6
		8	6
<i>Nicotiana tabacum</i>	Ethanolique	6	6
		7	6,5
		8	7
<i>Senna alata</i>	Ethanolique	6	6
		7	6
		8	6
<i>Nicotiana tabacum</i>	Éthéré	6	6
		7	6
		8	6
<i>Senna alata</i>	Éthéré	6	6
		7	6
		8	6

Welch Two Sample t-test

data: Croissance.mycélienne by Plante

t = -1.1034, df = 15.113, p-value = 0.2871

alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0

50 percent confidence interval:

-0.6324635 -0.1453143

sample estimates:

mean in group *Nicotiana tabacum*

5.888889

mean in group *Sena alata*

6.277778