

UNIVERSITE DE KISANGANI
FACULTE DES SCIENCES



BP. 2012
KISANGANI

Département des Sciences

Biotechnologiques

**EVALUATION DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES DE
Mycosphaerella fijiensis AUX EXTRAITS de *Conyza
sumatrensis* et de *Cyphostemma adenocaula*
DANS LA REGION DE KISANGANI (RDC)**



Par

Yalande ADIPEPE NKOSANGO

TRAVAIL DE FIN DE CYCLE

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

Option : Biologie

Orientation : Sciences Biotechnologiques

Directeurs : Prof. ETOBO KALUNGA J.P.

Dr. ONAUTSHU ODIMBA Didy

Année Académique : 2013- 2014

Deuxième session

DEDICACE

A L'eternel Jésus christ, notre seigneur et sauveur, lui qui est le centre de toute activité et par sa grâce, j'ai réalisé ce travail

A vous chers parents Alfred ADIPEPE et Hubertine NENDAKA,

A nos chers oncles paternels Flavien ADIPEPE et Daniel ADIPEPE

A nos frères et sœurs,

A nos cousins et cousines, neveux et nièces, oncles et tantes,

A tous ceux qui nous sont chers.

Yolande ADIPEPE NKOSANGO

REMERCIEMENT

Au terme de ce travail qui marque la fin de cycle de Graduat, nous remercions avant tout l'éternel Dieu Omniscient, Omniprésent, Maître de la création et souverain de toute existence. La source de l'intelligence et de la sagesse qu'il daigne recevoir par ces lignes notre profonde gratitude et que bénédiction et salut soit accordée.

Nous exprimons notre profonde gratitude aux professeurs ETOBO KALUNGA Jean Pierre et Dr Didy ONAUTSHU O. qui malgré leurs multiples occupations nous ont dirigé tout au long de ce travail

Sincère remerciement à nos parents Alfred ADIPEPE et Hubertine NENDAKA, à nos oncles paternels Flavien ADIPEPE et Daniel ADIPEPE, nous ne voulons pas oublier notre chère grand-mère Elysée ADALETALE pour leur amour que nous ne saurions pas exprimer par les mots.

Nos remerciements s'adressent à Monsieur Léonard MAKELELE qui nous a encadré tout au long de ce travail ;

Nos remerciement s'adressent également à nos frères et sœurs, cousins et cuisines, tantes et oncles et à nos amis et connaissances : Patsheco ABOSA, Jolie ADIPEPE, Blandine ADIPEPE, Germain ADIPEPE, Tine ADIPEPE, Mienne ADIPEPE, Théo ADIPEPE, Véronique MUTEBA, Marcel SUNGA, Sarah SUNGA, Sizif LIMBANGA, Annie LUKUNDJA, Marthe MWAMBA.

Que tous ceux qui ont contribué d'une façon directe ou indirecte à la réussite de ce travail, trouvent à travers cette page l'expression de notre profonde gratitude.

Yolande ADIPEPE NKOSANGO

LISTE DES TABLEAU

- Tableau 1 : Analyse de variance pour les extraits des plantes utilisées ;
- Tableau 2 : Analyse de variance pour les plantes utilisées ;
- Tableau 3 (annexe) : Activité antifongique des trois extraits sur *Mycosphaerella fijiensis*



LISTE DES ABREVIATIONS

D (mm) : Diamètre ;

T (mm) : Témoin ;

Moy : moyenne ;

MRN : Maladie de raie noire ;

MS : Maladie de Sigatoka

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : symptôme de MRN ;

- Figure 2 : carte de la ville de Kisangani
- Figure 3 : image de *Conyza sumatrensis* ;
- Figure 4 : image de *Cyphostemma adenocaule* ou *Syncissus adenocaule* ;
- Figure 5 : croissance mycélienne de la souche de *M.fijiensis* sur l'extrait concentré de *Conyza sumatrensis* ;
- Figure 6 : Croissance mycélienne de *M.fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Cyphostemma adenocaule* ;
- Figure 7 : croissance mycélienne de *M.fijiensis* sur l'extrait éthanolique de *Conyza sumatrensis*
- Figure 8 : croissancemycélienne de *M.fijiensis* sur l'extrait éthanolique de *Cyphostemma adenoxaule* ;
- Figure 9 : croissance mycélienne de *M.fijiensis* sur l'extrait éthéré de *Conyza sumatrensis* ;
- Figure 10 : croissance mycélienne de *M.fijiensis* sur l'extrait éthéré de *Cyphostemma adenocaule* ;
- Figure 11(annexe) : souche de *M.fijiensis*.

ABSTRACT

In order to evaluate the sensibility of strains of *M.fijiensis* extracts *Conyza sumatrensis* and *Cyphostemma adenocaula* in the region of Kisangani (DRC). This study was conducted on two medicinal plants. For this concentrate crude extract, ethanolic and ether were tested against strains of *M.fijiensis*. The ethanol and ether extracts were obtained by extraction method with 70 % ethanol and petroleum ether. The aqueous crude extracts were obtained according to the method of preparation of traditional healers

In spring of main results that crude concentrated extracts, ethereal of *Conyza sumatrensis* showed more inhibition effect on the strain *M.fijiensis* than disk ethanol extract stopped very little growth of the strain. Crude extracts concentrated ethereal *Cyphostemma adenocaula* presented an inhibitor effect on the strain of *M.fijiensis* that the ethanol extract has hardly decreases the growth of the strain. Subsequent extensive research should be encouraged in order to make available to the company effective and less expensive products that fight against pathogenic fungi

RESUME

Dans le but d'évaluer la sensibilité des souches de *Mycopharella fijiensis* aux extraits de *Conyza sumatrensis* et de *Cyphostemma adenocaula* dans la région de Kisangani(RDC). Cette étude a été réalisée sur 2 plantes médicinales ; pour cette étude les extraits bruts concentrés, éthanoliques et éthers ont été testés sur les souches de *M.fijiensis*.

Les extraits éthanoliques et éthers ont été obtenus par la méthode de l'extraction à l'aide de l'éthanol à 70 % et de l'éther de pétrole.

Il ressort des principaux résultats que les extraits bruts concentrés éthers de *Conyza sumatrensis* ont montré plus un effet inhibiteur sur la souche de *M.fijiensis* tandis que l'extrait éthanolique a arrêté très peu la croissance de la souche.

Les extraits bruts concentrés, éthers de *Cyphostemma adenocaula* ont présenté plus un effet inhibiteur sur la souche de *M.fijiensis* alors que l'extrait éthanolique a diminué très peu la croissance de la souche.

Les recherches ultérieures approfondies sont à encouragées dans le but de mettre à la disposition de la société des produits efficaces et moins coûteux qui luttent contre les champignons pathogènes.

INTRODUCTION

1. PROBLEMATIQUE

La cercosporiose noire ou maladie de raie noire est l'une de grande maladie dévastatrice de culture de bananier en R D Congo causé par *Mycosphaerella fijiensis*, cette dévastation fait en sorte que la production agricole de bananier ait un faible rendement. Cette maladie provoque une réduction de la surface photosynthétique et une perte significative des rendements pouvant atteindre 100% et une maturation précoce des fruits (Budju, 2007) Les bananiers et bananiers plantains sont rarement traiter par les petits fermiers à cause du coût de fongicides et de conséquence sérieuse sur l'environnement et sur la santé humaine (D'heda et al. 2011). L'usage abusive des fongicides par la population a crée beaucoup des problèmes notamment la résistance des certains germes.

La résistance des champignons au fongicide reste aujourd'hui un problème mangeur. L'agent pathogène a un potentiel élevé d'adaptation à des conditions nouvelles de climat, fongicides ou de génotypes de la plante hôte (Ploetz, 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 (Guzmán et al. 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).

Les plantes sont utilisées de puis des millions d'années dans la thérapie et continuent jusqu'à ce jour à fournir de nouveaux substances pour le bien de l'humanité. 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 se consacrent à la recherche des solutions alternatives et innovantes permettant de réduire l'utilisation des pesticides dans la protection des bananeraies (Anonyme, 2010b).

Pour la région de Kisangani, aucune étude n'a été faite sur l'efficacité des extraits des plantes médicinales sur les souches de *Mycosphaerella fijiensis*. C'est pourquoi,

nous pensons à la promotion de la recherche des plantes médicinales qui sont une source sûre et permanente pouvant lutter contre les infections fongiques.

2. Objectifs

2.1. Objectif général

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

2.2. Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques poursuivis dans cette étude sont :

- Tester in vitro l'activité anti fongique des extraits de quelques plantes médicales ;
- Tester in vitro l'activité antifongique des extraits aqueux concentrés sur les souches *Mycosphaerella fijiensis* ;
- Tester in vitro l'activité antifongique des extraits ethanoliqes et étherés sur la souche *Mycosphaerella fijiensis*.

3. Hypothèses

Nous avons, pour cette étude, émis les hypothèses suivantes :

- Les extraits aqueux concentrés auraient un effet inhibiteur sur la croissance des souches *de M. fijiensis* ;
- Les extraits ethanoliqes et étherés réagiraient à divers degrés déférents.

4. Intérêt

Ce travail trouve son intérêt dans la valorisation et conservation de la biodiversité végétale de la région de Kisangani pour repérer les meilleurs afin de développer une alternative par rapport à l'utilisation des fongicides d'origine synthétique dans le but de minimiser l'application des antifongiques chimiques et les remplacer par des traitements biologiques à base d'extraits des plantes médicinales.

5. Subdivision du travail

Hormis l'introduction et la conclusion, ce travail est constitué de 3 chapitres. Le Premier chapitre parle des généralités, le second est consacré aux matériels et méthodes en fin le troisième va s'attarder sur les résultats et la discussion.

CHAPITRE PREMIER : GENERALITES

1.1. APERÇU GENERAL SUR LES PLANTES MEDICINALES

Les plantes sont dites médicinales lorsque l'un de leur organe (par exemple : les feuilles ou racines) possèdent des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. Actuellement les plantes restent une meilleure source pour la recherche des substances curatives.

En effet, 25% de médicaments utilisés contiennent des substances végétales (Kombe 2007) on considère à l'heure actuelle que près de 80% de la population Africaine ne recourt qu'aux plantes qui l'entourent pour se soigner. Et l'organisation Mondiale de la santé (OMS) donne beaucoup de places en phytothérapie tout en publiant des lignes pour les gens qui cultivent les plantes des lignes pour la conservation, des lignes pour les conseillers de continuer, il reste de publier des lignes pour les consommateurs car beaucoup des consommations se font en désordres (OMS, 2004).

Pour la population congolaise, les plantes médicinales sont des produits essentiels ; mais il existe peu d'information globales sur ce sujet presque toutes les populations congolaises tant urbaine que rurales recourent aux plantes médicinales (CIFOR et al, 2007).

1.2. LA PHYTOTHERAPIE

La phytothérapie du grec *python* qui veut dire plante et *therapeia* qui signifie traitement, et le traitement par les plantes médicinales.

Il existe deux types de phytothérapie :

- Une pratique traditionnelle de la *phytothérapie* est définie par l'absence d'étude clinique et médicale. Elle est directement appliquée par l'utilisation des plantes sous diverses formes dans le but de conserver le principe actif ; les plantes peuvent être utilisées fraîches (très rarement) ou séchées pour éviter la décomposition.

- La phytothérapie peut aussi être appliquée en ce basant sur les avancé scientifiques, le but est ici de chercher les extraits actif des plante à fin de le standardiser ce qui conduit aux phytothérapies (www.jpchpuis.net/phyto.html).

1.2.2 La Cercosporiose noire du bananier

1.2.2.1. Origine et distribution

Black sigatoka 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 qui crée plus de dégâts des bananiers et la plus importante sur le plan économique. Le champignon causal 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 cité par (Onausthu 2013). 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'infecter presque tous les types de bananes comestibles 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 cité par Onausthu 2013), au Rwanda en 1986 (Sebagiri, 1990), au Burundi en 1987 (Sebagiri et Stover, 1988), Ouganda en 1990 (Tushemereirwe et Waller, 1993 cité par Onausthu 2013) 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 (Onausthu, 2007) ont confirmé la présence de cette maladie en RDC.



Fig.1. : Symptôme de MRN.

Dans son évolution ou développement, on lui décrit en six stades qui sont définis de la manière suivante (Lassoudiere, 2007) :

- stade 1 : Les premiers symptômes sont des petits points dépigmentation blanchâtre, visible uniquement à la face inférieure du limbe ;
- stade 2 : Tiret brun, rouille visible sur les deux faces sur toute inférieure ;
- stade 3 : Allongement et élargissement de tiret devenant des taches ;
- stade 4 : Les taches sont brunes ronde ou elliptique ;
- stade 5 : Elles deviennent noire, généralement entouré d'un halo jaune ;
- stade 6 : Le centre de taches s'achève avec un halo noir, lui-même entouré de jaune.

L'évolution de la maladie est beaucoup plus rapide que celle de la maladie de sigatoka de larges raies brunes noires se développent rapidement, les liaisons coalescente sont souvent observées sur des feuilles de cinq à six semaine. Ce qui est exceptionnel avec la cercosporiose jaune, les conséquences économiques sont beaucoup plus graves : les pertes représentent 50% de la récolte ces maladies provoquent des nécrose filière entrainant des pertes de rendement, mais elles sont tout responsables de la maturation précoce des fruits, ce

qui le rend impropres à l'exportation, ainsi la lutte contre ces maladies est une question vitale pour toute la filière d'exportation.

Cette lutte est exclusivement chimique, dans le pays producteurs de bananes soumis à des conditions climatiques a un cout élève mais la fréquence élève de traitement entraine l'apparition des souches résistante aux fongicides et l'impact des traitements répétés nuit à l'environnement et à la sante des ouvriers agricoles ([www.endure-net work.eu/content/downl...](http://www.endure-net.work.eu/content/downl...)).

La libération des spores est accélérée par l'alternance des conditions d'humidité et de sécheresse, Apre la germination des spores , les champignons pénètre dans les stomates , l'infection commence à la face inferieure de la feuille (stade 1) est considéré comme période d'incubation simple le même pour les variété susceptible est nettement différente , le temps d'évolution est le temps nécessaire pour le développement du symptôme qui varie du stade 1 au stade 6 l'incubation et le temps d'évolution dépendent de la saison.

1.2.2.2. Effet du climat sur le développement de la maladie

Plusieurs auteurs ont souligné l'importance de facteurs hydriques principalement de la pluie dans le développement de la cercosporiose noire le mouvement de l'inoculum et en grande partie le développement de la maladie (Jiménez 1994) le climat sec accompagné des température nocturnes au dessous de 20° freine le développement de la maladie (stover 1987) pour le développement des taches en condition naturelles la température optimale est comprise entre 26et 28° (Stover et al 1987) les principaux facteur qui intervienne dans le développement et la dispersion de la sigatoka noire sont :la pluie, la radiation ;l'alternance humectation ; dessiccation (Jiménez ;1994).

1.2.2.3. Pathogènes responsables

L'agent causal de MRN des bananier est *Mycosphaerella fijiensis morelet* ce champignon est classé comme suit :

- Phylum : *Ascomycota* ;
- Classe : *Ascomycète* ;
- Sous- classe : *Dothiideomycetées* ;

- Ordre : *Mycosphaerellale* ;
- Famille : *Mycosphaerellaceae* ;
- Genre : *Mycosphaerella* ;
- Espèce : *Mycosphaerella fijiensis* (Hamadi 2012).

1.2.2.4. Dégâts

Cercosporiose noir provoque une importante diminution de la surface photosynthétique par un dessèchement généralisé du système foliaire. Elle affecte beaucoup de cultivars résistants à la Cercosporiose jaune ou Maladie de Sigatoka (MS), tels ceux du sous-groupe des bananiers plantains (AAB). Dans les cas extrêmes où le cultivar est très sensible, toutes les feuilles du plant peuvent être détruites avant que le régime ne mûrisse. Les bananiers survivent mais les rendements sont très faibles et les régimes mûrissent prématurément et de façon inégale. La réduction de la durée de vie verte rend le transport et la conservation des fruits improbables (Jones, 2009).

La MRN et la MS peuvent entraîner une défoliation sévère, mais étant donné que *M. fijiensis* est plus pathogénique sur une plus grande gamme d'hôtes, la MRN revêt un caractère de gravité plus important que la MS. Les maladies de feuilles font mourir les feuilles, réduisent le poids de régimes et fruits de bananes ; les régimes affectés par le mûrissement prématuré au champ contiennent des mouches du fruit qui réduisent d'avantage leur valeur commerciale. Les pertes de production dues au *M. fijiensis* peuvent atteindre, dans certains cas, plus de 50 % (Mourichon *et al*, 1997).

CHAPITRE DEUXIEME : MATERIEL ET METHODES

2.1. MILIEU D'ETUDE

Ce travail a été réalisé dans la région de Kisangani, la troisième ville de la République Démocratique du Congo, elle est le chef lieu de la province Orientale est située dans la partie orientale de la cuvette centrale congolaise $0^{\circ}, 31'N$ et $25^{\circ}11'E$ a une altitude de 396m, sa superficie est d'environ 1,910km² (Kankonda, 2008) Sur le plan administrative, Kisangani est constitué de six commune : Kisangani, Makiso, Kabondo, Mangobo, Tshopo et Lubunga. Dans la région de Kisangani, les précipitations sont abondantes mais irrégulièrement réparti sur l'année, la moyenne annuelle de pluviométrie calculée pour une période 50 Ans (de 1956 à 2005).

Affiche 1.1724mm, pour une température annuelle de moyenne de $25,3^{\circ}c$ la hauteur mensuelle de précipitation est supérieure à 60mm (Kahindo, 2011). En ce basant sur la nature du matériau parental et sur le niveau de drainage du sol, le sol de Kisangani peuvent être placé globalement à deux principaux groupes : le sol du substrat rocheux et le sol dérivé.

Ce développant sur les alluvions, ces sols sont générale de nature ferralitique sablo-argileux et acide, ils sont profonds et fortement lessivé par les eaux fluviales (Kahindo, 2011). Toutes nos expériences sont effectuées au laboratoire de microbiologie et phytopathologie de la faculté de sciences de l'UNIKIS dans la commune de MAKISO.

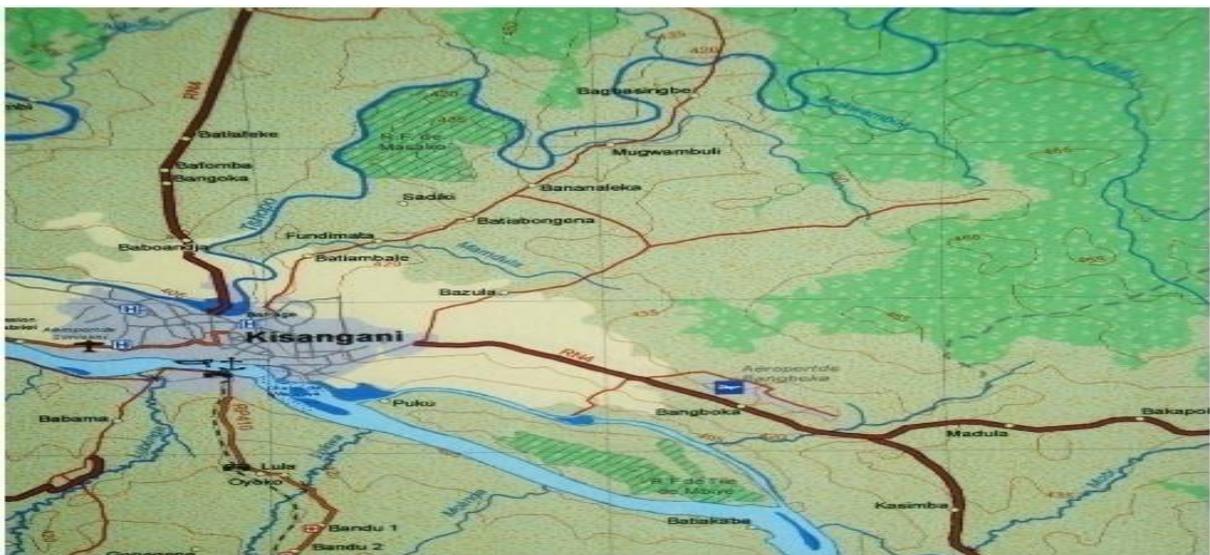


Fig.2. : Carte de la ville de KISANGANI (image landra, collection 2005-2010, Daum : Labo carto RRN /P.O.).

2.2. MATERIEL VEGETAL

Matériel végétal ayant fait l'objet de notre étude est utilisé comme plante médicinale soignant les mycoses. Notre choix s'est porté sur ces espèces végétales en raison de leur disponibilité et de leur usage par la plupart des tradipraticiens à Kisangani : il s'agit de :

1. *Conyza sumatrensis* ou *Conyza banariensis* ou *Erigeron floribundus*



Fig. 3. : Image de *Conyza sumatrensis*.

- Nom vernaculaire : Aloma en Kumu et Basuause en Lokele ;
- Organe utilisé : Feuilles ;
- Herbe annuelle ; atteignant 130cm de hauteur, tiges cylindriques, côtelées ; pubescentes, capitules, fleurs sont tubulées blanchâtres ;
- Habitat : lieu rudéraux, cultures, jachères Distribution : Amérique tropicale, naturalisé en Afrique tropicale- RD Congo Tshopo – Banalia Isangi-Kisangani-Opala (Lejoly, et al, 2010).
- Usage :

Le tritura des feuilles de 70g est utilisé en frottement sur le corps une seule fois par jour après avoir pris bain comme anti mycose jusqu'à la guérison (Yayingo, 2011).

2. *Cyphostemma adenocaula* ou *Syncissus adenocaula*



Fig. 4 : Image de *cyphostemma adenocaula* ou *Syncissus adenocaulis*.

- Nom vernaculaire : Mwandula en swahili, Lombeye en lingala ;
- Organe utilisé : Feuilles.

Cette plante appartient à la famille de Vitaceae : Herbe vivace qui pousse dans des étendus des brousses ou champs nouvellement brûlés, dans des jachères, derrière les maisons et peut même se développer sur la toiture de la maison. Elle émette une longue corde de plus ou moins 6 à 8 m, cette corde principale provient d'une grosse racine dans le sol et elle produit plusieurs d'autres cordes secondaires d'où a travers celle-ci poussent les feuilles. (Ambege, 2012).

- Usages

Le triturât d'environ 75g de feuilles est utilisé en frottement sur le corps une seule fois par jour jus qu'à la guérison comme anti-mycose (Yayingo, 2011).

2.3. METHODES

2.3.1. Préparation des extraits

2.3.1.1. Préparation des extraits bruts aqueux

1 *conyza sumatrensis* : récolter 70g de feuilles, laver et piler, presser pour obtenir 10ml.

2 *Cyphostemma adenocaula* : récolter 75g de feuilles, laver et piler, presser pour obtenir 10ml.

2.3.1.2. Préparation des extraits bruts concentrés

10ml de chaque extrait tel que préparés ci-haut, sont prélevés puis, concentrés par évaporation (à une température ne dépassant pas 50°C) jusqu'à obtenir une quantité d'environ 2 ml (Mbuyi, 1989).

2.3.1.3. Préparation des extraits ethanoliques 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 bocaux dans lesquels sont chaque fois épuisés 10 grammes de matière végétale fraîche pilée. Les mélanges sont macérés pendant 48 heures et ensuite filtrés. Les filtrats sont enfin concentrés par évaporation jusqu'à 2 ml d'extrait dans chaque tube (Harbone, 1983 ; Bouret, 1984 ; Janovska, 2003).

2.3.2. Obtention des souches

Les souches de *M. fijiensis* utilisées sont obtenues à partir des échantillons de feuilles récoltées au sein de la faculté des sciences de Kisangani RDC, l'isolement a été réalisé par la technique de décharge des ascospores sur 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 forme circulaire, ensuite trempés dans l'eau distillée stérile pendant 15 à 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 g/l). Le repiquage monoscospore s'est fait par observation au microscope inversé, marque Motic AE31. Les souches mono ascospores ont été conservées à 25°C sous la lumière blanche permanente (Onautshu, 2013).

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 9 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 CONCENTRES

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Conyza sumatrensis* est illustrée par les figures 5 et 6.

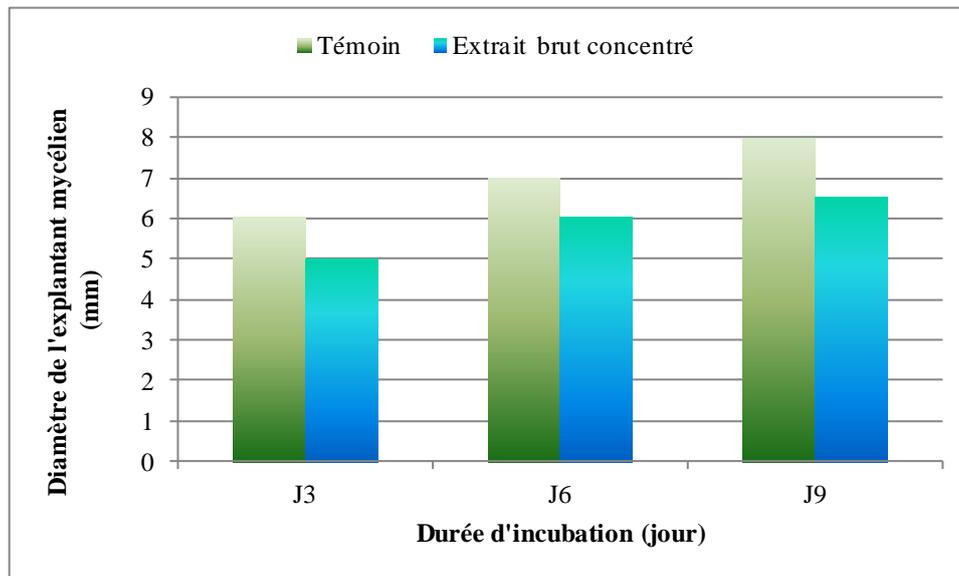


Fig. 5 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Conyza sumatrensis*.

Il ressort de cette figure le résultat de la croissance de mycélienne sur la souche de *M. fijiensis* sur le milieu contenant l'extrait brut concentré *Conyza sumatrensis* qu'au troisième jour de l'incubation la valeur de la croissance de la souche était de 5 mm par rapport au témoin qui était à 6 mm. Au sixième jour le diamètre augmente de 6mm et le témoin est 7 mm et le neuvième jour on observe une croissance de 6,5 mm et 8 mm pour le témoin. Notre extrait montre un effet inhibiteur sur la souche de *M. fijiensis*. Ce qui affirme notre première hypothèse.

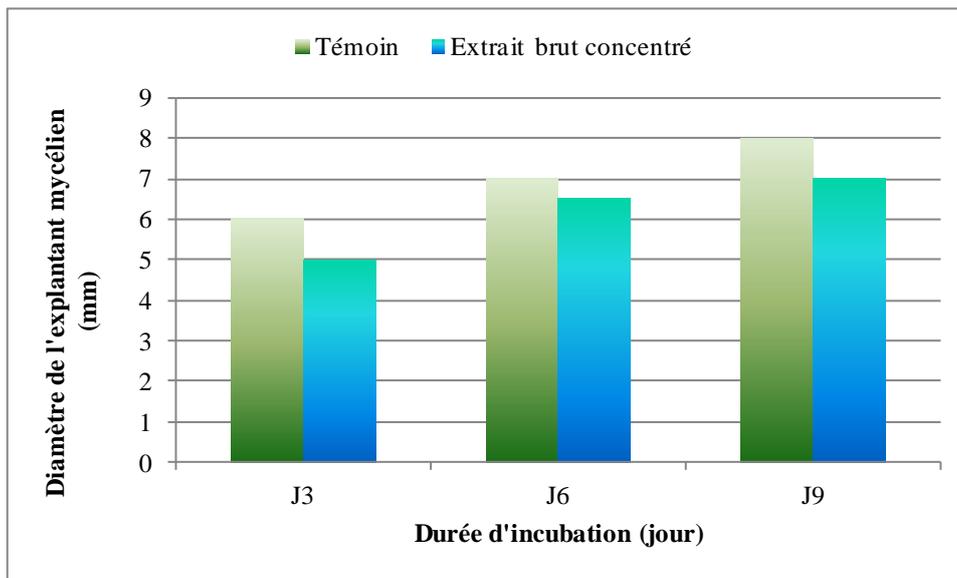


Fig. 6 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Cyphostemma adenocaulis*.

Il ressort de cette figure le résultat de la croissance mycélienne, le troisième jour le diamètre était de 5 mm sur le milieu contenant l'extrait par rapport au témoin qui était de 6 mm et au sixième jour de croissance nous avons observé une progression de la croissance qui était de 6,5 mm par rapport au témoin qui était de 7 mm ensuite au neuvième jour la valeur augmente de 7 mm respectivement de culture contenant l'extrait et 8 mm pour le témoin.

3.2. EXTRAITS ETHANOLIQUES

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait brut concentré de *Conyza sumatrensis* est illustrée par les figures 7 et 8.

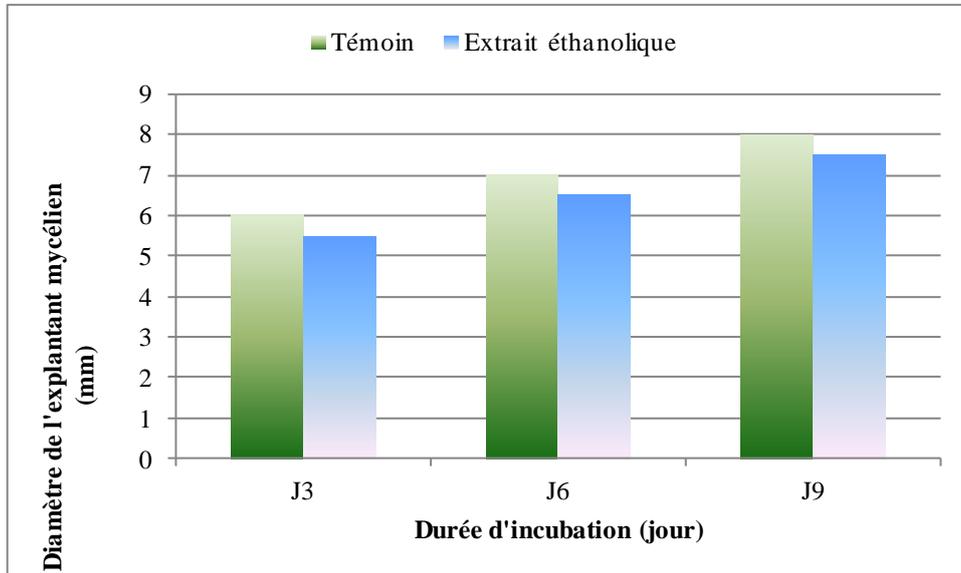


Fig. 7 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthanologique de *Conyza sumatrensis*.

L'analyse de la figure montre que le troisième jour de l'incubation de souche de *M. fijiensis* sur le milieu contenant l'extrait, le diamètre était de 5,5mm contrairement au témoin qui était 6mm suivi du sixième jour où les valeurs augmentent de 6,5mm et 7mm respectivement de l'extrait et du témoin et le neuvième jour, le diamètre mycélien étaient de 7,5mm avec le témoin de 8mm. Ce résultat stipule que cet extrait ne diminue pas la croissance de souches.

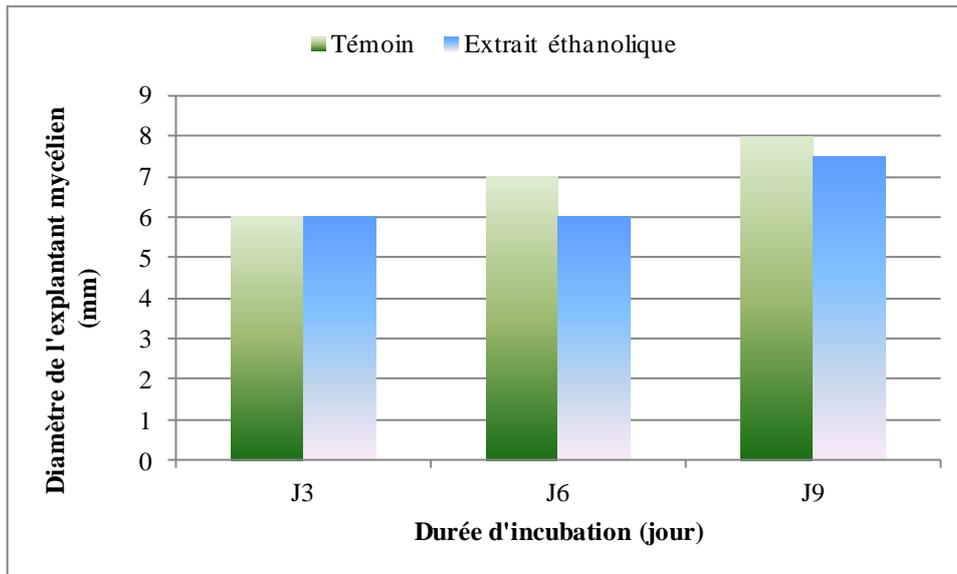


Fig. 8 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthanologique de *Cyphostemma adenocaula*.

Le résultat de la figure 8 de la croissance mycélienne de *M. fijiensis* sur le milieu incorporé d'extrait de *Cyphostemma adenocaula* montre que le troisième jour une croissance de 6mm par rapport au témoin qui était également de 6mm ; le sixième jour de l'incubation nous avons observé une augmentation de diamètre de témoin de 7mm alors que ce de l'extrait était resté constant. Et au neuvième jour la mesure nous a donnée de valeurs qui étaient 7,5mm et 8mm respectivement de l'extrait et du témoin.

3.3. EXTRAITS ETHERES

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthéré de *Conyza sumatrensis* est illustrée par les figures 9 et 10.

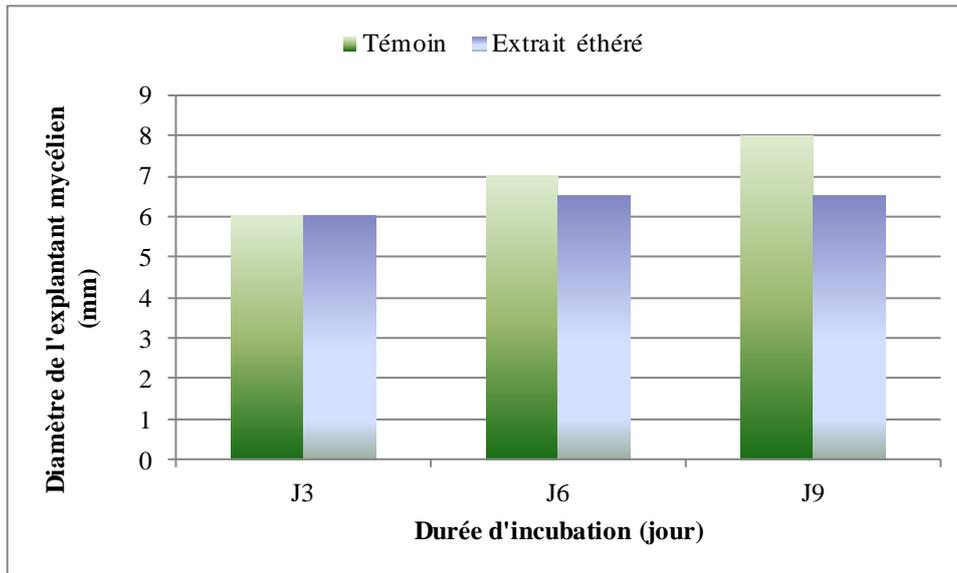


Fig. 9 : Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthéré de *Conyza sumatrensis*.

Il relève de l'observation de cette figure que les extrait éthéré de *Conyza sumatrensis* réagit sur les souches de *Mycosphaerella fijiensis* ; le diamètre de son mycélium au troisième jour d'incubation mesurait 6 également le témoin mesurait la même valeur. Et sixième et neuvième jour de culture contenant l'extrait leurs valeurs de croissance étaient de 6,5mm.

Par ailleurs, le témoin au sixième et au neuvième jour d'incubation, le diamètre du mycélium de *Mycosphaerella fijiens* augmenté respectivement de 7mm et 8mm.

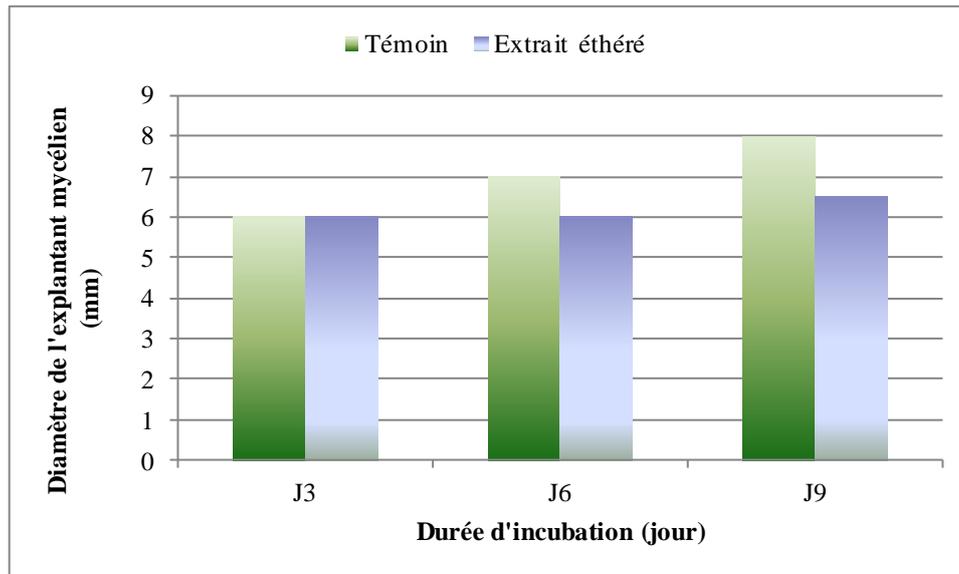


Fig. 10: Croissance mycélienne de la souche de *M. fijiensis* sur l'extrait éthéré de *Cyphostemma adenocaula*.

Ces résultats montrent qu'au troisième jour d'incubation le diamètre mycélien dans le milieu contenant extrait et témoin avait le même diamètre de 6 mm et au sixième, il avait 6mm et 7mm pour le témoin. Au neuvième jour, cette croissance ne cesse pas à croître nous avons observé le diamètre de croissance de l'échantillon par rapport au témoin était de 6,5mm et 8mm.

3.4. ANALYSES STATISTIQUES

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

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Extraits	2	0.750	0.37500	0.7627	0.4837
Residuals	15	7.375	0.49167		

Tableau 2: Analyse de variance pour les plantes utilisées

Test t de Student pour la variable plante

$$t = -0.1655, df = 16, p\text{-value} = \mathbf{0.8706}$$

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

3.5. DISCUSSION

Les résultats d'inhibition de la croissance de *M. fijiensis* dans notre étude est presque la même chose avec ceux trouvées par Mukendi Joël (2011), où les extraits des plantes réduisent de façon significative la croissance de *M. fijiensis* à différentes concentrations graduelles.

Nous avons constatée que dans notre étude, l'inhibition de la croissance mycélienne démarre après troisième jour pour tout les extraits ; par contre pour le jour qui suit certains extraits n'inhibent pas la croissance de *M. fijiensis*.

Nos travaux ont démontré que la stabilité des valeurs de l'inhibition de la croissance mycélienne à compter du sixième jour d'incubation pour certains extraits testés.

Nos résultats des taux d'inhibitions concordent avec ceux trouvés par Mukendi Joël (2011), où l'extrait aqueux de *Tephrosia vogelii* et *Zingiber officinale*.

Là, une concentration de quantité différentes a diminué significativement la croissance mycélienne de *M. fijiensis* à un diamètre de 1,1mm pour *Tephrosia vogelii* et 2,8 mm pour *Zingiber officinale*.

CONCLUSION ET SUGGESTIONS

Cette étude est apporté sur l'évaluation de la sensibilité des extraits des quelques plantes médicinales aux souche de *Mycosphaerella fijiensis* dans la région de Kisangani après analyse des résultats nous sommes parvenus à des conclusion ci-après Parmi les différentes plantes qui traitent le mycose, seules *Conyza sumatrensis* et *Cyphostemma adenocaula* ont été sélectionnée dans ce travail pour son effet antifongique, ces extraits bruts concentré, éthéré et éthanolique possèdent un effet inhibiteur contre certains agents phytopahogènes , *Conyza sumatrensis* a montré une activité antifongique sur les souches de *M. fijiensis* , c'est ainsi que la croissance mycélienne diminue, cette espèce possède un effet inhibiteur plus important sur *M. fijiensis* aux extraits brut concentré, éthéré et éthanolique. De même les extraits de *Cyphostemma adenocaula* ont montré par le test d'évaluation du taux d'inhibition la diminution de croissance de mycélium de *M. fijiensis*.

En perspective il est prévu d'une part de tester *in- vivo* nos extraits de plantes sur la culture de bananiers et bananier plantains, d'autre part, une poursuite de ce travail préliminaire est envisagée par l'étude de comportement *in -vitro* et éventuellement *in- vivo* des extraits de feuilles et de fruits sur différents agents phytopathogènes pour repérer les meilleurs afin de développer une alternative par rapport à l'utilisation des fongicides d'origine synthétique dans le but de minimiser l'application des antifongiques chimiques et les remplacer par des traitements biologiques à base d'extraits de plantes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ambege, B, 2012 contribution à l'analyse chimique et nutritionnelle de deux plantes alimentaire sauvage consommée à Kisangani et ces environs
- Anonyme ; 2010b .Etude de cas la Banane-Guide Numéro (Fresh).les cercosioses des bananiers (*Mycosphaerella* spp) : vers une lutte intégrée
- Bouret, J C1984 le défi de médecine par les plantes .France –empire, paris 345p
- Budju, L, 2007 Evolution de symptômes de *Mycosphaerella* SPP sur les bananier plantains (MUSA, AAB) de la collection de la faculté des sciences à Kisangani
- Cifor, 2007 : La forêt en république démocratique du Congo post- conflit 9 p
- Dhed'a, D, Swenner, R, Moango, M et Blomme, G, 2011 Rapport sur l'enquête diagnostique sur la culture des bananiers plantains dans les zones périphériques de la ville de Kisangani et quelque villages du district de la tshopo(RDC).101p
- Hamadi, M ,2012 Dynamique de l'évolution de la cercosporiose noire du bananier dans la région de Kisangani (RDcongo)
- Harbone, J, B, 1983 photochemical methods .Chapman ET hall.london, 28p
- Gusman, M, A. Jimenez, R.vargas, ET R.Romero.2000.cracterizacion de cepas de *M.fijiensis* causante de la sigatoka negra, con menor sensibilidad a fuguicidas triasoles.p.64 in Reunion ACORBAT 2000.Memorias et Stevenson
- Jacome, L, Shuhw. R ,1991 Effect of tempera ture and relavetive humidité on germination and germe tube développement of *Mycosphaerella jijiensis* var difformis – phytopathologie 81(12)1480-1485p
- Janoska, D, 2003 Screenig for antimicrobial activity of gome medicinal plants species of traditional Chinese medecine.107-110p
- Jiménez, F, 1994, Etudes agro météorologiques appliqués à la lute contre la sigatoka noire (*Mycosphaerella fijiensis*) du bananier plantain (musa AAB), thèse inédite, centre

Agromico tropical de investigacio 4 ensenanza, institut national agronomique paris – grognon, 137p

Jones, D .R ,2009.Diease and Pest constraints to banana production Acta Hortic.828 ,21-36

Kahindo, M, 2011, Potentiel en produits forestiers autres que le bois d’œuvre dans les formations eremospathahaulle vileana de wild et la ccospermasecum diflorum.6.97p

Kankonda, B, 2008, Ecologie des décapodes du ruisseau Masangamabe de la réserve forestière de Makiso Kisangani-RDC

Kombe,M,2007 :Etude de la composition chimique de quelques plantes médicinales utilisées comme aphrodisiaques à Kisangani Mémoire inédit Fac , SC , UNIKIS,3p

Lassordiere, A, 2007, Le bananier et sa culture Edition QUAERD 10,78026versailles cadex, France, 384p

Lejoly, J, Ndjele, M, Geerinck, D .2010 Catalogue- flore des plantes vasculaires des districts de Kisangani et de la tshopo (RDCongo) 303p

Mbuyi, M.1989 Recherche sur l’activité anti bactérienne de quelques espèces végétales utilisées dans le traitement des diarrhées infectieuses en Ann Fac.des science. UNIKIS Val

Mobambo, P, K N, 2002 .stratégie de gestion intégrée des cultures pour la production de bananes plantains et le contrôle de la cercosporiose noir en république démocratique du Congo .Infomusa 1(s1)1 :3-6

Moulion, P, Mourichon, X, 1990, Développement de *Mycosphaerella musicola* (maladie de Sigatoka) et *Mycosphaerella fijiensis* (Maladie de raies noir) sur les bananier et bananier plantains Etude du cas des productions d’altitude de, fruits 45(1) 1-24P

Mourichon, X, Calier. foure,E.1997.Sigatoka leaf spot dease factsheet n°8 Inibap montpelier,France,4p

Mukendi ;j 2011 ; Efficacité biocide de deux extraits des plantes à action biocide (*Tepphosia vogelii* et *Zingiber offinal*) sur la croissance invitro de *Mycosphaerella fijiensis* ; agent causal de la maladie des raies noirs du bananiers

- Onautshu, O.2007 Etude de l'incidence des maladies et ravageurs chez les bananiers (Musa spp) .de la région de Kisangani RDcongo
- Onautshu, O, 2013, Caractérisation des populations de *Mycosphaerella fijiensis* et épidémiologie de la cercosporiose noir du bananier (Musa spp) dans la région de Kisangani
- Ploetz, R.C. § K.G. Pegg.2000.fusarium wilt pp 143-159 in Diseases of banana abaka and Fset (D.R.Jones ed.) CABI publishing willing ford.UK
- Rhode, P. .1964 Anew banana Dease in Fiji Common wealth phytopatological news.10.38-41
- Sabasigari, K .et Stover, R .H ; 1988, Dease and pest in east Africa, parrort of a suvery in novembr 1987, INIBAP
- Stover, R, and Simmonds, N, 1987, Banana 3rd éd longmon scientifique and technical .London, 468p
- Stover, R.1989. Effet du cercosporiose noir sur les bananiers plantains en Amerique central fruits 38:326-329
- Yayingo, K. 2011, contribution à l'étude des plantes médicinale luttant contre les maladies cutanées chez les kumu de BIARO

SITE WEB

-OMS ; 2004

- WWW.jpchpuis.net phyto.html

-WWW.endure-net WorK.en content downl ...)

TABLE DES MATIERES

DEDICACE	
REMERCIEMENTS	
LISTES DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
INTRODUCTION	1
1. PROBLEMATIQUE	1
2. Objectifs	2
2.1. Objectif général	2
2.2. Objectifs spécifiques	2
3. Hypothèses	2
4. Intérêt	2
5. Subdivision du travail	3
CHAPITRE PREMIER : GENERALITES	4
1.1. APERÇU GENERAL SUR LES PLANTES MEDICINALES	4
1.2. LA PHYTOTHERAPIE	4
1.2.1. Principe Actif	5
1.2.2. La Cercosporiose noire du bananier	5
CHAPITRE DEUXIEME : MATERIEL ET METHODES	9
2.1. MILIEU D'ETUDE	9
2.2. MATERIEL VEGETAL	10
2.3. METHODES	11
2.3.1. Préparation des extraits	11
2.3.2. Obtention des souches	12
2.3.3. Sensibilité des souches aux extraits des plantes	12
CHAPITRE TROISIEME : RESULTATS ET DISCUSSION	14
3.1. EXTRAITS BRUTS CONCENTRES	14
3.2. EXTRAITS ETHANOLIQUES	16
3.3. EXTRAITS ETHERES	18
3.4. ANALYSES STATISTIQUES	19
3.5. DISCUSSION	20
CONCLUSION ET SUGGESTIONS	21
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	22
TABLE DES MATIERES	25
ANNEXES	

ANNEXES

Activité antifongique de 3 Extraits *sur Mycosphaerella fijiensis* repris dans le tableau ci-après.

Plantes	Extraits	Croissances						Dates
		T			D			
		T1	T2	Moy.	D1	D2	Moy.	
A	1	6	6	6	5	5	5	29/08/2014
		-	7	7	6	6	6	01/09/2014
		-	8	8	7	6	6,5	04/09/2014
	2	6	6	6	6	5	5,5	29/08/2014
		-	7	7	7	6	6,5	01/09/2014
		-	8	8	8	7	7,5	04/09/2014
	3	6	6	6	6	6	6	29/08/2014
		-	7	7	6	7	6,5	01/09/2014
		-	8	8	6	7	6,5	04/09/2014
B	1	6	6	6	5	5	5	29/08/2014
		-	7	7	6	7	6,5	01/09/2014
		-	8	8	7	7	7	04/09/2014
	2	6	6	6	6	6	6	29/08/2014
		-	7	7	6	6	6	01/09/2014
		-	8	8	7	8	7,5	04/09/2014
	3	6	6	6	6	6	6	29/08/2014
		-	7	7	6	6	6	01/09/2014
		-	8	8	6	7	6,5	04/09/2014

LEGENDE

A : *Conyza sumatrensis*

B : *Cyphostemma adenocaula*

D (mm) : Diamètre

T (mm) : Témoin

Moy : moyenne

1 : Extrait brut concentré

2 : Extrait Etanolique

3 : Extrait éthéré



Figure 11 : Souches de *M. fijiensis*

Annexe : Test t de student pour les plantes utilisées.

Welch Two Sample t-test

data: Croissance.mycélienne by Plantes

t = -0.1655, df = 16, p-value = 0.8706

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

50 percent confidence interval:

-0.2871917 0.1760805

sample estimates:

mean in group *Conyza sumatrensis* mean in group *Cyphostemma adenocaula*

6.222222

6.277778