

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

ECOLE NORMALE SUPERIEURE

\*\*\*\*\*

DEPARTEMENT DES SCIENCES

BIOLOGIQUES



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

HIGHER TEACHER TRAINING

COLLEGE

\*\*\*\*\*

DEPARTEMENT OF BIOLOGICAL

SCIENCE

**EFFET DES POUDRES DE COQUILLES D'HUITRE SUR LA  
CROISSANCE ET LA RESISTANCE A LA CERCOSPORIOSE NOIRE  
DES SEMENCES PIF DE BANANIER PLANTAIN VAR. BATARD**

Mémoire présenté et soutenu en vue de l'obtention du Diplôme de Professeur de  
l'Enseignement Secondaire Deuxième Grade (Di.P.E.S.II)

Par

**NGOULA MEGUASSU KATY LAURE**

Matricule : 08R0677

*Licenciée ès Biochimie*

Sous l'encadrement du

**Dr. EWANE Cécile Annie**

*Chargée de cours*

**Année académique 2015-2016**

## DEDICACE

*A mes parents  
Ngoula Pierre et Ngnintedem Précède*

## REMERCIEMENTS

J'adresse mes sincères remerciements à toutes les personnes sans lesquelles ce travail n'aurait pu être réalisé, il s'agit:

Du **Docteur EWANE Cécile Annie**, mon directeur de mémoire, pour m'avoir encadré et soutenu moralement dans l'accomplissement de ce travail. Pour la patience dont elle a su faire preuve au cours de la rédaction de ce mémoire ;

Du **Pr Jean Claude MBANYA**, Directeur du Centre de Biotechnologie de Nkolbisson, à qui j'exprime ma profonde gratitude pour m'avoir permis d'y réaliser ce travail ;

Du **Prof. NIEMENAK Nicolas** dans l'orientation, le choix du laboratoire de travail et le soutien moral qu'il m'a accordé tout au long de ma formation ;

Du **Prof. BOUDJEKO Thaddée**, Chef du Laboratoire de Phytoprotection et de Valorisation des Ressources Végétales (LPVRV), pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et avoir mis le matériel à ma disposition pour la réalisation de ce travail. Je lui dis merci également pour son accompagnement et les conseils qu'il n'a cessé de me prodiguer durant mes travaux de recherche ;

Du **Pr SONKE Bonaventure**, Chef de Département des Sciences Biologiques de l'Ecole Normale Supérieure, pour la coordination des activités relatives à notre formation ;

Du **Corps Enseignant** du Département des Sciences Biologiques de l'Ecole Normale Supérieure, responsable de notre formation professionnelle pendant notre cursus académique ;

Du **Docteur FOKO Giselle**, qui est comme une mère pour moi et pour m'avoir soutenu au cours de cette formation ;

De tous mes camarades de laboratoire en particulier : **MILAWE CHIMBE A., NDONGO ESSOKE F., MOUAFO R., SIPPING M., TENE TAYO P. M., DZELAMONYUY A., MESHUNEKE A.**, qui m'ont apporté leur expérience, leur assistance et surtout leur temps dans la réussite de ce travail;

De mes camarades de la 55<sup>ème</sup> promotion de l'ENS, notamment : **MEKUE NOUWEZEM Q., MANEJIO MBOUDA C., KETCHIEMO TOUNKAM F., JOKENG D., NKOUNGA TOGUE W., FAHA NGUANTCHOUA R.**

De mes frères et sœurs, en particulier **NGOULA DONGMO R.**, pour avoir toujours été là pour moi dans les bons comme les moments difficiles ;

De ma fille bien aimée **NGOULA Elza Gabrielle** qui illumine ma vie ;

De tous ceux qui de près ou de loin ont participé à ma formation professionnelle grâce à leur soutien de quelque nature que ce soit.

## TABLE DES MATIERES

DEDICACE .....	i
REMERCIEMENTS .....	ii
TABLE DES MATIERES .....	iv
ABSTRACT .....	vii
LISTE DES ABREVIATIONS .....	vviii
LISTE DES FIGURES .....	lix
LISTE DES TABLEAUX .....	xi
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE .....	3
I.1. Le bananier .....	4
I.1.1. Origine et taxonomie du bananier .....	4
I.1.2. Description botanique du bananier .....	4
I.1.3. Ecologie et diversité génétique .....	6
I.1.3.1. Ecologie .....	6
I.1.3.2. Diversité génétique .....	7
I.1.4. Importance alimentaire et économique des bananes .....	10
I.1.4.1. Importance économique .....	10
I.1.4.2. Importance nutritionnelle .....	11
I.1.5. Divers parasites des <i>Musa</i> spp. ....	11
I.1.5.1. Les ravageurs .....	12
I.1.5.2. Les maladies .....	12
I.2. Technique des plants issus des fragments de tiges (PIF) .....	13
I.2.1. Construction du propagateur .....	14
I.2.1.1. Le germoir .....	14
I.2.1.2. La serre .....	15
I.2.1.3. L'ombrière .....	15
I.2.2. La production de semenceaux .....	15

I.2.2.1. Le choix du rejet .....	16
I.2.2.2. Préparation des bulbes.....	16
I.2.2.3. Suivi des explants .....	17
I.3. Les coquilles d’huitres en lutte biologique .....	18
I.3.1. Généralités sur les coquilles d’huître .....	18
I.3.2. Propriétés physicochimiques des coquilles d’huître .....	18
I.3.3. Application des coquilles d’huîtres en agriculture .....	19
I.4. Induction aux mécanismes de défense chez les plantes .....	20
I.4.1. Généralités .....	20
I.4.2. Quelques marqueurs biochimiques de défense .....	21
I.4.2.1. Les composés phénoliques .....	21
I.4.2.2. Les peroxydases .....	21
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	23
II.2. Méthodes.....	26
II.2.1. Transformation des coquilles d’huître.....	26
II.2.3. Stérilisation et préparation des substrats .....	28
II.2.4. Préparation du matériel végétal .....	29
II.2.5. Dispositif expérimental .....	30
II.2.6. Production des plantules PIF .....	32
II.2.7. Collecte des données de germination en serre .....	32
II.2.8. Prise des données agro-morphologiques sous ombrière .....	33
II.2.9. Préparation de l’inoculum .....	34
II.2.10. Inoculation des feuilles.....	34
II.2.11. Dosage des composés phénoliques totaux.....	36
II.2.12. Analyse des protéines totales sous condition native .....	38
II.2.13. Analyses statistiques .....	39
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION .....	40

III.1. Résultats.....	40
III.1.1. Effet des coquilles d’huître sur la germination des explants en serre.....	41
III.1.2. Effets des coquilles d’huître sur la croissance des plantules sous ombrière .....	42
III.1.3. Evaluation de la résistance à la cercosporiose noire .....	46
III.1.4. Variation de la teneur en composés phénoliques totaux .....	46
III.1.5. Variation de la teneur en protéines totales .....	47
III.2. Discussion.....	49
CHAPITRE IV : IMPLICATIONS DIDACTIQUES .....	52
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	62
ANNEXE .....	68

## ABSTRACT

Banana-plantain is one of the cash crops that greatly contribute to food security of the Cameroonian population. It however, faces many difficulties, including, seed insufficiency particularly those of good quality and Black Sigatoka caused by *Mycosphaerella fijiensis*. Chemical control, typically used to control this disease is very costly and has adverse effects on human health and the environment. An alternative to these problems would be a combination of biological control agent with the method of plants from stem fragment (PIF) for the production of quality seeds. The aim of our work was to evaluate the effect of the oyster shell (OS) powder on the growth of banana-plantain seedlings *var.* Bâtard produced by the PIF method and their resistance to Black Sigatoka. The effect of oyster shells was first evaluated on the growth of seedlings, then on the resistance to Black Sigatoka. Our results show that the powder of oyster shells (10%) increases the speed of germination of banana-plantain explants on average from 33 to 67% and the cumulative number of seedlings issued from 40 to 55%. The 10% treatment improves the average growth rate of the seedlings by 12% in diameter, 27% vertically and 41% leaf area. Necrosis surface due to Black Sigatoka was significantly ( $P < 0.05$ ) lesser for seedlings treated compared to controls. Indeed, the treated seedlings surface necrotic average values of about 0.2 cm<sup>2</sup> on day 6 and 4.4 cm<sup>2</sup> at day 14 compared to those of control, 1.8 cm<sup>2</sup> and 23.3 cm<sup>2</sup> the same dates respectively. The growth and the degree of resistance were correlated with increased synthesis of phenolic compounds and total protein in seedlings before and after infection. The mean levels of phenolic compounds are 1.05 mgEqCat/GMF and 0.84 mgEqCat/GMF respectively for the treated plants and untreated before infection, against 2.45 mgEqCat / GMF 1.85 mgEqCat/FMG for the same plants after infection. Total protein levels were 2.90 mg EqBSA/GMF EqBSA and 1.13 mg/GMF respectively for the treated plants and untreated before infection, against 7.20 mg EqBSA/GMF and 6.33 mg EqBSA/GMF for the same plants after infection. These results suggest that the oyster shells could be used as bio-fertilizers and bio-fungicides in the mass production of PIF quality seeds and control of Black Sigatoka in the nursery.

**Keywords:** banana-plantain, PIF method, black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*), oyster shells; induced resistance.

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>BSA</b>	:	Albumine du Sérum des Bovins
<b>CARBAP</b>	:	Centre Africain de Recherche sur Bananiers et Plantains
<b>CBT</b>	:	Centre de Biotechnologie
<b>DO</b>	:	Densité Optique
<b>FAO</b>	:	Food and Agricultural Organization
<b>IRAD</b>	:	Institut de Recherche Agricole pour le Développement
<b>JAI</b>	:	Jours Après Infection
<b>JAS</b>	:	Jours Après Semis
<b>LPVRV</b>	:	Laboratoire de Phytoprotection et de Valorisation des Ressources Végétales
<i>M. fijiensis</i>	:	<i>Mycosphaerella fijiensis</i>
<b>MAC</b>	:	Méristème Apicale Caulinaire
<b>mgEqCat/gMF</b>	:	milligramme Equivalent de Catéchine par gramme de Matière Fraîche
<b>PDA</b>	:	Potato Dextrose Agar
<b>PIB</b>	:	Produit Intérieur Brut
<b>PIF</b>	:	Plants Issus de Fragments de tige
<b>Protéine PR</b>	:	Protéine reliée à la pathogenèse
<b>SF<sub>T</sub></b>	:	Surface Foliaire Totale
<b>UE</b>	:	Unité Expérimentale

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Représentation d'un bananier à la fructification avec ses rejets, et coupe longitudinale de la tige.....	6
Figure 2: Schéma de classification des cultivars à fruits parthénocarpiques.....	9
Figure 3: Bananier plantain (A) et Fruit de bananier plantain variété bâtard (B) .....	10
Figure 4: Evolution des symptômes de la cercosporiose noire (a) Stade 1, (b) Stade 2, (c) Stade 3, (d) Stade 4, (e) Stade 5, (f) Stade 6 .....	13
Figure 5 : Structure chimique de la chitine.....	19
Figure 6 : Structure chimique du chitosane. ....	19
Figure 7 : Un rejet de bananier plantain, variété Bâtard.....	24
Figure 8 : Souche de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> (sp 6155) sur milieu V8 .....	25
Figure 9 : Amas de coquilles d'huître(A) et poudre de coquilles d'huître (B). ....	25
Figure 10 : Procédé de transformation des coquilles d'huître en poudre. ....	27
Figure 11: Application de la poudre de coquille dans la sciure de bois. ....	29
Figure 12 : Explants de bananier plantain parés (A) et incisés (B).....	30
Figure 13 : Présentation du dispositif expérimental.....	31
Figure 14 : Explants de bananier-plantain en germination sous serre (a) et explant en pot sous ombrière(b).....	32
Figure 15 : Zones d'inoculation de <i>M. fijiensis</i> et de prélèvement de la feuille pour les analyses biochimiques .....	36
Figure 16 : Protocole d'extraction des composés phénoliques totaux . ....	37
Figure 17 : Protocole d'extraction des protéines totales sous condition native .....	38
Figure 18 : Nombre cumulé de plantules émises pour les différents traitements au cours du temps. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d'huître. *a>b>c>d>f>g pour le nombre de plantules émises au cours du temps.....	41
Figure 19 : Hauteurs des pseudo-tiges de plantules PIF amendés et non amendés en poudre de coquilles d'huître. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d'huître. *a>b>c>d pour les hauteurs des plantules au cours du temps. ....	43
Figure 20 : Diamètres des pseudo-tiges de plantules PIF amendés et non amendés en poudre de coquilles d'huître. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d'huître. *a>b>c>d pour les diamètres des plantules au cours du temps. ....	43
Figure 21 : Surfaces foliaires de plantules en pots amendés et non amendés en poudre de coquilles d'huître. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d'huître. *a>b>c>d>e>f>g>h>i pour les surfaces foliaires au cours du temps.....	44

Figure 22 : Croissance en pots des plantules de bananier plantain après sevrage. (A) : plants non amendés (conditions SS et SNS) ; (B) : plants amendés en poudre de coquilles d’huître (condition SS+CH et SNS+CH) ; (C) : plants non amendé et amendé respectivement en condition contrôlé SS et SS+CH ; (D) : plants non amendés respectivement en condition paysanne SNS et SNS+CH. ....	45
Figure 23 : Evolution de la sévérité de la cercosporiose noire en fonction des différents traitements au cours du temps. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d’huître. ....	46
Figure 24 : Variation de la teneur en composés phénoliques totaux en fonction des différents traitements avant et après infection. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d’huître. *a>b>c>d>e>f>g . ....	47
Figure 25 : Variation de la teneur en protéines totales en fonction des différents traitements avant et après infection. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d’huître. *a>b>c>d>e. ....	48

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Classification des bananiers.....	4
Tableau 2: Classification et répartition géographique des principaux bananiers cultivés.....	8
Tableau 3: Composition chimique (pour 100 g de pulpe) de la banane dessert et de la banane-plantain .....	11

## INTRODUCTION

Le bananier (*Musa* spp.) est une plante herbacée géante monocotylédone de la famille des Musacées. Il est originaire de l'Asie du Sud-est, où il est retrouvé de l'Inde à la Polynésie (Simmonds, 1962). Les bananes en général et les bananes-plantain en particulier ont une place fondamentale dans l'alimentation de la population mondiale. Elles occupent le 4<sup>ème</sup> rang mondial des denrées alimentaires les plus importantes après le riz, le blé et le lait (Anonyme, 2002). La culture de la banane constitue donc un apport économique important pour les pays producteurs et exportateurs d'Afrique, d'Asie, d'Amérique du sud et des Caraïbes. Parmi les variétés de bananes, on distingue la banane-plantain qui est l'une des variétés les plus consommées dans les régions tropicales, notamment en Afrique Centrale et de l'Ouest. En Afrique centrale, le Cameroun est le premier producteur de banane-plantain, soit 3450000 tonne de banane-plantain produit en 2012 (Anonyme, 2014a). Cette production est toutefois assurée par les petits agriculteurs, à faible échelle et est destinée à l'autoconsommation ou à la vente dans les marchés locaux. La production de banane-plantain contribue pour 4,5% du PIB agricole du pays.

La banane-plantain a une importance économique et nutritionnelle non négligeable. Sa production se heurte toutefois à de nombreuses difficultés : (1) l'insuffisance des semences empêche la mise en place de nouvelles plantations, et une productivité inférieure à la demande; (2) les coûts de production élevés, du fait de l'utilisation des intrants agricoles, mais particulièrement de la lutte chimique contre la cercosporiose noire causée par *Mycosphaerella fijiensis* qui est la plus dévastatrice des maladies parasitaires du bananier. Une alternative à ces problèmes serait l'usage de la méthode PIF (Plants Issus de Fragments de tiges), qui permet à partir d'un seul rejet de produire une multitude de plants à moindre coût et en un temps réduit.

La lutte contre la cercosporiose noire, se fait généralement avec des produits chimiques. Malheureusement, elle est très coûteuse et a des effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement. De plus, elle pourrait nuire à la qualité des fruits. Une alternative à cette lutte serait l'usage des agents de lutte biologique qui ont le double avantage d'améliorer la croissance des plants tout en leur conférant une résistance aux attaques pathogènes. En effet, des travaux récents sur le cacaoyer, ont montré que l'enrobage des graines de cacaoyer avec le chitosane ainsi que les coquilles d'escargot à la concentration de 2%, augmente le taux de germination et les plants issue de ces graines présentent un faible index d'infection à la pourriture brune des cabosses en pépinière (Téné, 2013). De plus, une étude faite sur la

variété de banane-plantain Big Ebanga a permis de constater que les coquilles d'huîtres semblaient améliorer la croissance des semences PIF tout en les protégeant contre la cercosporiose noire (Ndongo, 2015). Aucune donnée n'est disponible sur l'effet des coquilles d'huître sur la croissance des semences PIF de bananier-plantain de la variété Bâtard et leur résistance à la cercosporiose noire.

L'objectif général de notre étude est d'évaluer l'effet des coquilles d'huître sur la croissance et la résistance des plants PIF de la variété Bâtard à la cercosporiose noire. De manière spécifique, il est question d'évaluer :

- L'effet des coquilles d'huître sur la croissance des plantules ;
- L'effet des coquilles d'huître sur la résistance des plantules à la cercosporiose noire.

## **CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE**

## I.1. Le bananier

### I.1.1. Origine et taxonomie du bananier

Le bananier appartient à la famille des *Musacées* et est originaire de l'Asie du Sud-Est. Son implantation aux Amériques s'est d'abord faite par la République Dominicaine en 1516 grâce à des plants en provenance des îles Canaries, et s'est poursuivie vers l'Amérique Centrale et du Sud. Il s'est propagé vers l'Afrique de l'Ouest il y a au moins 2500 ans (Mindzie *et al.* 2001). Ainsi, depuis des millénaires, les migrations humaines et les échanges de matériel végétal ont introduit le bananier dans des situations écologiques très différentes sur tous les continents (Lassoudière 2007). L'existence de nombreux cultivars de bananiers d'altitude en Afrique de l'Est et de bananiers-plantains laisse supposer qu'ils sont cultivés depuis très longtemps en Afrique (Onautshu 2013).

Le bananier est une plante monocotylédone appartenant à l'ordre des scitaminales ou zingibérales. La classification des bananiers est présentée dans le Tableau 1.

**Tableau 1 : Classification des bananiers.**

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Liliopsida
<b>Sous-classe</b>	Zingiberidae
<b>Ordre</b>	Zingiberales
<b>Famille</b>	Musaceae
<b>Genre</b>	Musa

### I.1.2. Description botanique du bananier

Le bananier est une plante herbacée géante monocotylédone comportant une fausse tige aérienne, le pseudo-tronc, de grande taille constituée d'une imbrication de gaines foliaires

les unes sur les autres et comportant à son centre une tige florale. La tige souterraine est le lieu de naissance de l'inflorescence qui remonte à travers le pseudo-tronc et se dévoile à l'extérieure de la plante. Comme la majorité des phanérogames, il comporte plusieurs parties parmi lesquelles les feuilles, la tige, les racines ainsi que des fleurs (Figure 1) lui conférant l'appellation « **plante à fleur** » communément attribuée aux angiospermes.

➤ **Les racines**

Le bananier comporte des racines primaires et des racines secondaires. Les racines primaires sont produites en continue tout au long de la phase végétative et peuvent atteindre 400 à 700, tandis que les racines secondaires se forment après nécrose des racines primaires et ont toutes la même longueur (Lassoudière 2007). Les racines de bananier sont disposées à partir d'un même méristème (massifs cellulaires assurant la multiplication des cellules) en groupes de 2 à 4.

➤ **Le pseudo-tronc**

Le pseudo-tronc ou faux tronc est constitué d'une imbrication de gaines foliaires. Il est de grande taille et assure un rôle de soutien, de stockage des réserves minérales et hydriques, et assure la conduction de ces réserves dans la plante.

➤ **Les feuilles**

Les feuilles sont disposées des plus anciennes aux plus jeunes en se rapprochant du sommet. Par convention, elles sont numérotées de la plus jeune à la plus âgée (Bakry *et al.* 1997). Le nombre de feuilles varie selon le cultivar et les conditions environnementales (Lescot 2000). Elles sont insérées sur la tige à travers leurs gaines et se prolongent à l'extérieur par un pétiole. La nervure centrale divise le limbe en deux parties sensiblement égales et les nervures secondaires de part et d'autre de la nervure principale sont parallèles. Les feuilles jouent un rôle photosynthétique important pour la plante.

➤ **L'inflorescence**

Les fleurs zygomorphes se forment à l'aisselle des bractées florales caduques et sont disposées en rangées de deux. On en distingue deux types : les fleurs femelles constituant les doigts ou bananes et les fleurs mâles qui sont caduques la plupart du temps (Lassoudière 2007). Les doigts ou fruits sont parthénocarpiques (développement des fruits sans pollinisation préalable).

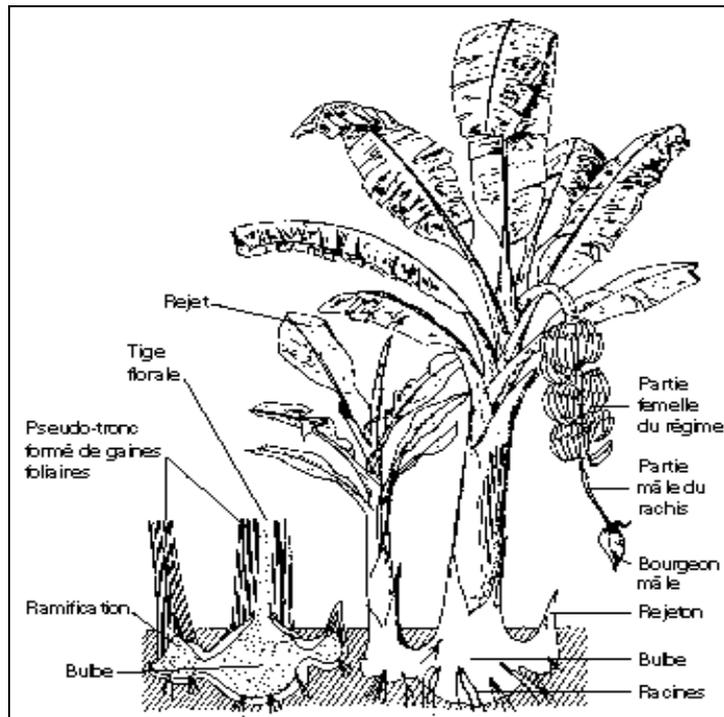


Figure 1: Représentation d'un bananier à la fructification avec ses rejets, et coupe longitudinale de la tige, d'après Champion (1963).

### I.1.3. Ecologie et diversité génétique

#### I.1.3.1. Ecologie

Le bananier est généralement cultivé dans des zones intertropicales comprises entre 20 °C et 30 °C de latitudes Nord et Sud. Dans les zones à température trop élevée, sa croissance est limitée et les feuilles peuvent par conséquent brûler et dans des zones à températures très basses, les fruits sont endommagés. Exposés à moins de 0 °C, les bananiers périssent (Swennen & Vuylsteke 2001).

Le bananier doit être cultivé sur des sols profonds, limoneux, bien drainée et suffisamment pourvue en eau pour pallier aux besoins de la plante. En général, la pluviométrie doit se situer autour de 2500 mm par an, celle-ci pouvant être plus élevée en région sèches et chaudes où l'évapotranspiration est importante. De même, les sols riches en azote, phosphores, potassium, calcium et magnésium favorisent la croissance du bananier. Le pH peut varier de 4,0 à 8,0 (Swennen & Vuylsteke 2001).

La température optimale de culture du bananier se situe entre 25 °C et 30 °C, des anomalies telles qu'un retard de croissance pouvant survenir dans la plante en cas de température trop basse ou trop élevée.

Le bananier supporte peu les vents violents qui pourraient endommager les feuilles (très fragiles) ou casser le pseudo-tronc. Il supporte par contre des fortes insolation si l'apport hydrique est suffisant.

### **I.1.3.2. Diversité génétique**

Le bananier est une plante monocotylédone à fleurs zygomorphes, de la famille des Musacées. Cette dernière comporte 3 genres : *Musella*, *Ensete*, *Musa*, parmi lesquels le genre *Musa* présente une plus grande variabilité. Les bananes comestibles sont issues, pour l'essentiel, de deux espèces sauvages diploïdes, *Musa acuminata* COLLA (génome A) et *Musa balbisiana* COLLA (génome B) (Simmonds, 1962). Ces plantes se reproduisent de manière végétative à travers les rejets portés par le bulbe ou par voie sexuée par les graines.

Le genre *Musa* présente 4 sections que sont :

- Les *Australimusa* (n = 10), cultivés pour leurs fibres ;
- Les *Callimusa* (n = 10) comportant des espèces ornementales ;
- Les *Rhodochlamys* (n = 11) comportant également des espèces ornementales ;
- Les *Eumusa* (n = 11) comportant de 10 à 12 espèces dont les deux principales sont : *Musa acuminata* (AA) et *Musa balbisiana* (BB) (Tableau 2).

**Tableau 2: Classification et répartition géographique des principaux bananiers cultivés (Bakry *et al.* 1997).**

Sous-groupe	Cultivar	Type de fruit	Distribution
<b>Groupe AA</b>			
<b>Sucrier</b>	Pisang Mas, Fayssinette, Figue sucrée	Dessert sucré	Tous continents
<b>PsangLilin</b>	-	Dessert	Indonésie, Malaisie
<b>PisangBerangan</b>	-	Dessert	Indonésie, Malaisie
<b>Lakatan</b>	-	Dessert	Philippines
<b>Groupe AAA</b>			
<b>Cavendish</b>	Lacatan, Poyo, Williams, Grande Naine, Petite Naine	Dessert	Pays exportateurs
<b>Gros-Michel</b>	Gros Michel, Highgate, Cocos	Dessert	Tous continents
<b>Figue Rose</b>	Figue Rose rose, Figue Rose verte	Dessert	Pacifique, Antilles, Afrique de l'Est
<b>Lujugira</b>	Intuntu, Mujuba	À bière, À cuire	Indonésie, Afrique
<b>Ibota</b>	Yangambi km5	Dessert	
<b>Groupe AB</b>			
<b>Ney Poovan</b>	Sait Velchi, Sukari	Dessert acide	Inde, Afrique de l'Est
<b>Groupe AAB</b>			
<b>Figue Pomme</b>	Maça, Silk	Dessert acide	Tous continents
<b>Pome</b>	Prata	Dessert acide	Inde, Malaisie, Australie, Brésil, Afrique de l'Ouest
<b>Mysore</b>	Pisang Ceylan	Dessert acide	Inde
<b>Pisangkelat</b>	PisangKelat	Dessert	Inde, Malaisie
<b>Pisang rajah</b>	Pisang Rajah Bulu	À cuire	Malaisie, Indonésie
<b>Plantains</b>	French corne, faux corne	À cuire	Afrique du Centre et de l'Ouest, Caraïbes, Amérique latine
<b>Popoulou</b>	Popoulou	À cuire	Pacifique
<b>Laknao</b>	Laknao	À cuire	Philippines
<b>PisangNangka</b>	Pisang Nangka	À cuire	Malaisie
<b>Groupe ABB</b>			
<b>Bluggoe</b>	Bluggoe, Matavia, Poteau, Cacambou	À cuire	Philippines, Caraïbes, Amérique latine
<b>Pelipita</b>	Pelipita	À cuire	Philippines, Amérique latine
<b>PisangAwak</b>	Fougamou	Dessert	Thaïlande, inde, Philippines, Afrique de l'Est
<b>Peyan</b>	-	À cuire	Philippines, Thaïlande
<b>Seba</b>	Saba	À cuire	Philippines, Indonésie, Malaisie

Seul ou par croisement avec *Musa balbisiana*, l'espèce *Musa acuminata* est à l'origine de tous les bananiers à fruits parthénocarpiques (Figure 2). Ces derniers étant donc obtenues par multiplication végétative, permettent la pérennité de l'espèce en conservant le génotype (des mutations pouvant exister, mais à des rares exceptions près). A l'inverse des bananiers sauvages qui sont diploïdes, les bananiers cultivés actuellement sont généralement triploïdes et sont issues soit du croisement entre les espèces *Musa acuminata* (AAA) seules ou alors *Musa acuminata* et *Musa balbisiana* (AAB et ABB). Dans certains cas les espèces triploïdes se croisent pour donner des bananiers tétraploïdes qui produisent facilement les graines.

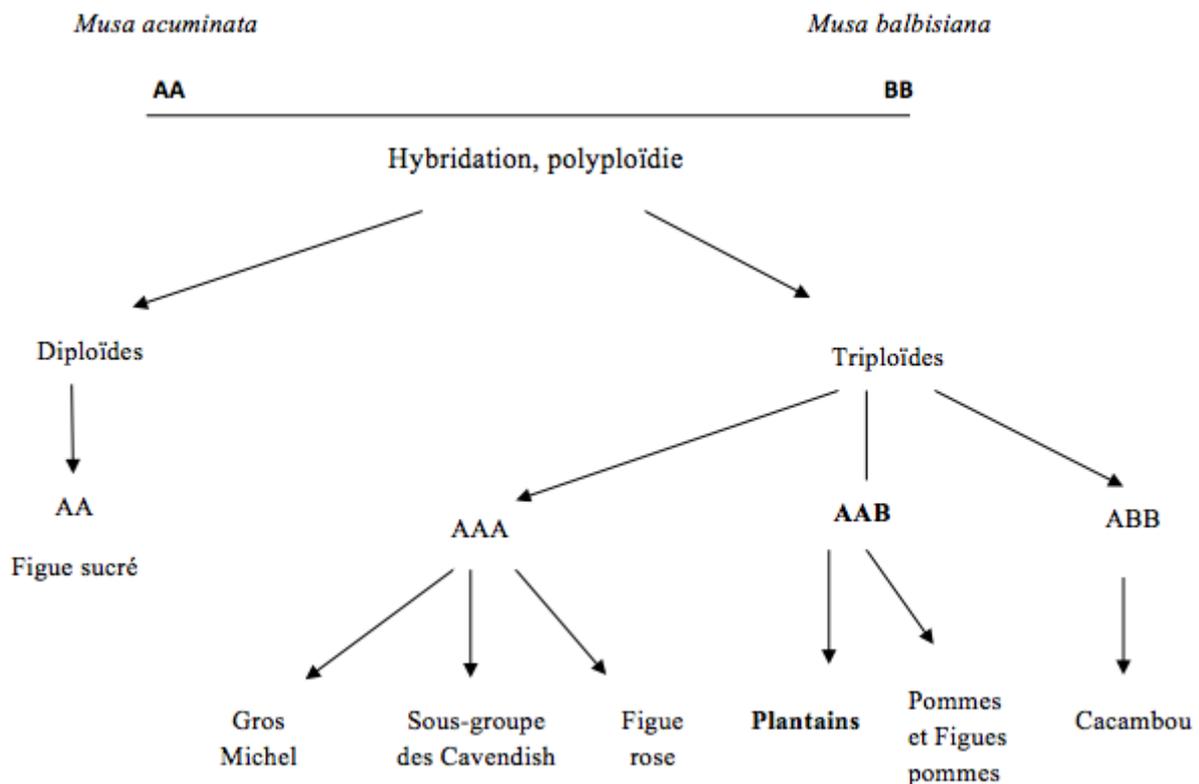


Figure 2: Schéma de classification des cultivars à fruits parthénocarpiques (Lassoudière, 2007)

Au Cameroun, les bananes cultivées sont de plusieurs types : bananes dessert, banane à cuire et bananes à bière. Parmi ces dernières, la banane-plantain constitue un aliment de base pour les populations locales. Il est cultivé principalement dans les régions du Sud-ouest, de l'Ouest, du Sud, de l'Est, du Centre et du littoral et compte plusieurs variétés parmi lesquelles la variété Bâtard (Figure 3).

C'est une variété très appréciée sur le marché européen, moyennement sensible au vent et possède une bonne capacité de rejettage (Anonyme 2002).



Figure 3: Bananier plantain (A) et Fruit de bananier plantain variété bâtard (B) (Anonyme 2013).

#### **I.1.4. Importance alimentaire et économique des bananes**

##### **I.1.4.1. Importance économique**

Les bananiers sont cultivés dans plus de 120 pays sur les 5 continents (Bakry *et al.* 1997) et sur plus de 10 millions d'hectares (Lassoudière 2007). En termes de production mondiale, la banane est le quatrième produit agricole après le riz, le blé et le maïs (Lassoudière 2007). Elle occupe le premier rang de la production fruitière, avec un peu plus de 106 millions de tonnes produites annuellement à l'échelle mondiale (Lescot 2006). La culture de la banane permet, tant d'approvisionner les marchés locaux qu'à satisfaire les besoins d'exportation à l'échelle mondiale et contribue ainsi largement au développement économique des pays producteurs. Au plan mondial, la production de banane-plantain approche les 37,2 millions de tonnes (Anonyme 2012). Le Cameroun occupe le troisième rang mondial après l'Ouganda et le Ghana, avec une production nationale estimée à 3 450 000 tonnes (Anonyme 2012). La production de banane-plantain occupe une place de choix dans l'alimentation des populations locales au Cameroun et dans la zone CEMAC (Communauté Economique et Monétaire de l'Afrique centrale). Elle participe à hauteur de 16% dans la formation du revenu des producteurs et contribue pour 4,5% au PIB agricole du pays (Anonyme 2013).

Les bananes ont une importance économique mondiale indéniable et sont dotés de bonnes caractéristiques nutritionnelles.

### I.1.4.2 Importance nutritionnelle

Le bananier est cultivé principalement pour son fruit qui est l'un des fruits les plus consommés à travers le monde. Les bananes en général et la banane plantain en particulier font partis des principales cultures vivrières et occupent donc une place de choix dans la sécurité alimentaire de plusieurs pays dans le monde. La banane est le fruit le plus vendu au monde et le plus consommé notamment par les populations indigènes en raison de ses propriétés énergétiques (Lassoudière 2007). Les bananes dessert et celles à cuire, dont les bananes-plantains, ont une grande importance nutritionnelle car fournissent pour 100 grammes de banane entre 19 et 30 grammes d'hydrates de carbone et seulement 0,3 à 0,4 gramme de lipides. Elle est donc très faiblement pourvue en matière grasse et a une grande valeur énergétique (Tableau 3).

**Tableau 3: Composition chimique (pour 100 g de pulpe) de la banane dessert et de la banane-plantain (Lassoudière 2007).**

Eléments	Banane dessert	Banane plantain
Eau (g)	74	65
Potassium (g)	380 - 400	500
Calcium (mg)	6 - 9	3
Magnésium (mg)	30 - 45	35
Sodium (mg)	1	4
Phosphore (mg)	30	30
Fer (mg)	0,3 - 0,7	0,6
Energie (Kcal)	82 - 92	122
Protéines (g)	1	1,3
Lipides (g)	0,48	0,37
Glucides (g)	19 - 23	32
Fibres (g)	2,0 - 3,4	2,0 - 3,4

### I.1.5. Divers parasites des *Musa* spp.

La culture du bananier rencontre de nombreux problèmes entraînant la plupart du temps une baisse considérable du rendement de production. Les ravageurs et les maladies demeurent les principaux facteurs limitant de la production de banane à travers le monde.

### **I.1.5.1. Les ravageurs**

Un ravageur est défini comme étant un animal phytophage, parasite de plantes cultivées (Lassoudière 2007). Les ravageurs les plus importants du bananier sont le charançon noir *Cosmopolites sordidus* et les nématodes *Radopholus similis* (Gold *et al.* 2000).

### **I.1.5.2. Les maladies**

Une maladie est l'ensemble des troubles physiques et physiologiques, et des anomalies structurales et induites par un agent extérieur (Lassoudière 2007). Ces troubles ou symptômes pouvant être localisés ou généralisés. Parmi les maladies attaquant le bananier on peut citer entre autre:

- **La pourriture de la tige souterraine**, qui est une maladie bactérienne très largement répandue et causée par *Erwinia* spp. ;
- **La maladie du bunchy top ou banana bunchy top disease (BBTD)** est une maladie virale attaquant le bananier et empêchant la production des fruits;
- **Les anthracnoses** qui sont des maladies fongiques causées par un champignon, *Colletitrichum musae* ;
- **Les Cercosporioses** qui sont de deux types : la cercosporiose jaune et noire des bananes causées respectivement par les champignons *Mycosphaerella musicola* et *Mycosphaerella fijiensis*. Elles causent des infections sévères pouvant entraîner une réduction substantielle de la surface foliaire, une maturation précoce des fruits et influencer l'incidence et la sévérité des maladies post-récolte telle que la pourriture de couronne des bananes (Ewané *et al.* 2013b). Cette maladie représente un véritable challenge pour les cultivateurs de bananier à travers le monde et au Cameroun en particulier, car c'est l'une des plus dévastatrices.

#### **I.1.5.2.1. Généralités sur la cercosporiose noire**

La cercosporiose noire ou maladie des raies noires est la maladie la plus dévastatrice affectant la culture de la banane à l'échelle mondiale. Cette maladie peut provoquer des pertes allant jusqu'à 100% de la production (Marciel *et al.* 1998). Elle est causée par un champignon ascomycète hétérothallique appelé *Mycosphaerella fijiensis* (Morelle) appartenant à la famille des *Mycosphaerellaceae*. La première source d'infestation a été le matériel végétal importé

d'Asie pour être introduit en Afrique. Elle a été tout d'abord identifiée au Gabon en 1978 (Henderson *et al.* 2006), avant de se propager dans les pays voisins. Au Cameroun, la cercosporiose noire a été signalée en 1980 (Fouré & Lescot 1988), elle est aujourd'hui présente dans toutes les régions de culture bananière.

#### **I.1.5.2.2. Symptômes et stades de développement de la cercosporiose noire**

Les symptômes de la cercosporiose noire peuvent parfois être confondus à ceux de la Cercosporiose jaune, mais Fouré (1982) a décrit en détail les symptômes de la cercosporiose noire (Figure 4) et les a présentés en différents stades suivant une échelle de 1 à 6 qui sont :

**Stade 1:** Les premiers symptômes sont de petits points de pigmentation, blanchâtres, visibles uniquement à la face inférieure du limbe.

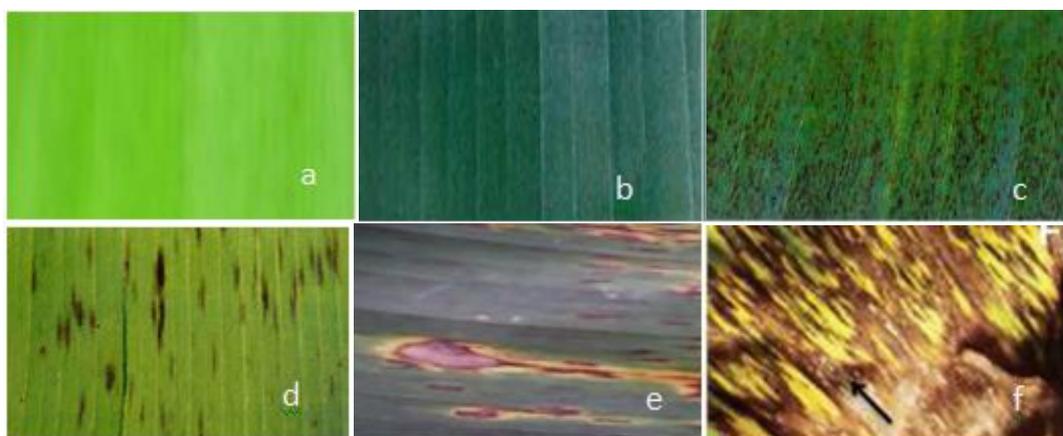
**Stade 2:** Tirets brun rouillé visibles sur les deux faces, surtout sur la face inférieure.

**Stade 3:** Allongement et élargissement des tirets, devenant des tâches.

**Stade 4:** Ces tâches sont brunes, rondes ou elliptiques.

**Stade 5:** Les tâches deviennent noires, généralement entourées d'un halo jaune.

**Stade 6:** Le centre de la tâche s'assèche avec un halo noir, lui-même entouré de jaune.



**Figure 4: Evolution des symptômes de la cercosporiose noire (a) Stade 1, (b) Stade 2, (c) Stade 3, (d) Stade 4, (e) Stade 5, (f) Stade 6 (Fouré 1982).**

## **I.2. Technique des plants issus des fragments de tiges (PIF)**

La banane-plantain est surtout cultivée par de petits paysans et c'est un composant essentiel de la plupart des systèmes agricoles d'Afrique Occidentale et Centrale, d'où provient environ 50% de la production mondiale de banane-plantain (Wilson 1987). Sa culture rencontre cependant plusieurs difficultés dues aux ravageurs et à diverses maladies dont la

plus importante est la cercosporiose noire, entraînant la production de plants de mauvaise qualité et dont les rendements de production sont faibles. Plusieurs techniques de production intensive ont été mises au point. Il s'agit d'une part de la culture *in vitro* qui est restée l'apanage des centres de recherche. Cette technique de micro-propagation permet certes la production des plants en grande quantité, mais elle est très coûteuse et nécessite une main d'œuvre qualifiée. D'autre part, la technique des plants issus de fragments de tige (PIF), mise au point pour la première fois au Cameroun, dans la localité de Njombé par le Centre de Recherche sur Bananiers et Plantains (CARBAP) permet de produire une multitude de plants en un temps réduit et à moindre coût. De plus, elle peut être réalisée par de simples paysans.

La production des plants PIF comportent plusieurs étapes allant de la construction du propagateur à l'entretien des plants.

### **I.2.1. Construction du propagateur**

La construction du propagateur nécessite la mise en place de trois structures fondamentales :

- **Un germoir** : où se fera la multiplication ;
- **Une serre** : enceinte recouvrant le germoir ;
- **Une ombrière** : qui servira à diminuer la lumière directe du soleil d'environ 50%. La présence des arbres dans les environs directs suffit en général (Metchieye 2009).

#### **I.2.1.1 Le germoir**

Le germoir doit être construit de préférence au sol ou légèrement en hauteur afin de faciliter la manipulation des explants en son sein. La technique PIF pouvant s'adapter en fonction des moyens du cultivateur, le matériel nécessaire pour la construction du germoir est très variable. Il peut se faire en planches, en parpaings ou encore en bambous. Les travaux de Metchieye (2009), ont permis d'établir des dimensions de châssis de propagation pour la production de près de 1000 jeunes plants en 6 mois. Ces dimensions sont les suivantes:

- Hauteur : Point le plus haut (milieu mitoyen) : 2,4m ;
- Largeur moyenne : 1m ;
- Longueur : 3m ;

- Il faut compter installer le lit du châssis à au moins 1m du sol quand on est dans une région très pluvieuse. On peut aussi bâtir complètement le lit si les moyens le permettent.
- La profondeur est en moyenne de 35-45cm. Ainsi, les possibilités d'enracinement sont plus intéressantes pour les tiges mises en multiplication.

Une fois le germoir construit, le châssis fait par exemple de vieilles tôles perforées (pour assurer le drainage des eaux) est rempli de sciure de bois blanc au moins aux trois quarts. La sciure de bois blanc est choisie car elle a une faible phytotoxicité comparée aux sciures de bois de couleur (rouge, noir, jaune), qui elles, peuvent avoir une incidence néfaste sur le développement des plantules. La sciure est traitée avec des produits phytosanitaires (fongicides, nématicides, insecticides...).

#### **I.2.1.2. La serre**

La serre est construite autour du germoir, par réalisation d'une charpente au-dessus de celui-ci d'une hauteur d'environ 120 cm. Le germoir est par la suite recouvert d'un plastique transparent (blanc) de bonne qualité, non toxique et hermétique. L'utilisation d'une fronde (caoutchouc) est nécessaire pour serrer le plastique sur le germoir afin de créer un effet de serre pour éviter les pertes de chaleur.

#### **I.2.1.3. L'ombrière**

L'ombrière est construite à une hauteur comprise entre 1,5 m et 2 m et permet de réduire de 50% l'impact des rayons lumineux incident du soleil sur les plants. Elle peut être construite à l'aide de matériaux divers tels que des planches de bois surmontés de feuilles de palmiers ou encore d'une haie munie d'un portillon afin d'éviter que les animaux ne viennent se nourrir des plants. La présence d'arbres peut aussi servir d'ombrière. L'ombrière permet un meilleur suivi des plants de même que la prise des paramètres agro-morphologiques.

### **I.2.2. La production de semenceaux**

La production des semences de banane-plantain par les PIF implique plusieurs étapes allant du choix du rejet à son ensemencement dans le propagateur (germoir).

### **I.2.2.1. Le choix du rejet**

Le choix des rejets de bonne qualité pour la multiplication est déterminant pour l'obtention des PIF sains et vigoureux, car les bananiers rejettent différents types de rejets. Les rejets dits « baïonnettes », ayant des feuilles étroites lancéolées, sous forme de « couteux » sont les meilleurs. Les rejets « choux », qui se distinguent par leur feuillage dense et arrondi ne sont pas conseillés, parce que de très mauvaise qualité (Meutchieye 2009). Le bulbe doit être exempt de maladie, absence de galeries et de traces de nématodes (Ngosamnick 2011).

### **I.2.2.2. Préparation des bulbes**

Cette préparation nécessite un prétraitement comportant cinq étapes principales :

- Le parage à blanc et habillage des bulbes.
- Le décorticage ou taille des gaines.
- La levée de la dominance apicale.
- Le traitement phytosanitaire préalable à l'ensemencement.
- L'ensemencement des explants.

#### **➤ Parage à blanc et habillage des bulbes**

Le rejet (baïonnette), une fois sélectionné, est déposé sur une surface plane sur laquelle le parage se fera à l'aide d'un couteau bien tranchant. C'est une opération consistant à enlever toutes les racines, la terre et les galeries susceptibles de renfermer les charançons. Une fois le bulbe pelé à blanc, il est déposé sur une surface bien propre où se fera le décorticage des gaines foliaires.

#### **➤ Décorticage ou taille des gaines**

C'est une opération qui consiste à mettre à nu les bourgeons secondaires du bulbe par enlèvement successif des gaines foliaires constituant le pseudo tronc du rejet. A la frontière entre le bulbe et le pseudo tronc, se trouve une zone (ceinture) plus ou moins claire en fonction de la variété en présence, qui relie les gaines foliaires les unes aux autres. Le décorticage des gaines se fait l'une après l'autre à 2 mm environ au-dessus de cette zone appelée « nœud ». Généralement 3 à 5 gaines peuvent être enlevées. Le pseudo-tronc restant

est ensuite éliminé par une incision à 3 mm au-dessus du dernier niveau de décortilage. On obtient ainsi l'explant. L'explant obtenu est laissé à sécher à l'ombre pendant 48 heures, le temps nécessaire pour que les blessures dues au parage et au décortilage s'assèchent (Ndongo 2015).

➤ **Levée de la dominance apicale**

Une incision en croix est réalisée à l'aide d'un couteau propre et tranchant au centre de l'explant sur une profondeur de 3 cm environ pour lever la dominance du méristème apicale caulinaire (MAC) et l'explant est laissé à sécher pendant 1 heure environ avant son ensemencement dans le germoir.

➤ **Traitement phytosanitaire préalable à l'ensemencement**

Afin d'éliminer les champignons, les insectes et les nématodes, l'explant de tige ainsi produit est trempé dans un mélange de fongicide-insecticide et séché pendant 48 à 72 heures maximum, sous ombrière, à l'air libre, dans un endroit sec (Ngo-samnack 2011). Certaines substances naturelles telles que le bulbe d'ail ou le fruit de piment fort peuvent être utilisées comme fongicides.

➤ **Ensemencement des explants**

Dans le germoir, les explants sont disposés côte à côte, la partie incisée de la pseudo-tige placée vers le haut. Le nombre d'explants au m<sup>2</sup> dépendra de la taille des explants utilisés. Le tout est recouvert avec de la sciure fine de bois blanc sur une épaisseur de 2 à 3 cm. Il est conseillé de ne pas arroser le jour de la mise en germoir, mais arroser abondamment 24 à 30 heures plus tard (Ngo-samnack 2011).

### **I.2.2.3. Suivi des explants**

➤ **Suivi en germoir**

Le suivi en germoir doit être très minutieux. Un arrosage régulier et la présence constante de gouttelettes d'eau sous la bâche en plastique indique que le germoir vit normalement. Si le substrat perd peu d'eau, des champignons peuvent se développer et il faudra par conséquent éliminer les bulbes qui auront pourrit. Au bout de deux semaines environ, de nombreuses pousses peuvent être observées par explant. Dans le cas où une seule

plantule centrale repousse, il sera nécessaire de couper cette dernière et de réaliser une nouvelle incision croisée : on parle de **réactivation**.

➤ **Sevrage ou affranchissement**

Il survient 30 à 45 jours après l'ensemencement. Au stade de deux petites feuilles ouvertes ou de 3 à 4 radicules, la plantule est sevrée délicatement à l'aide d'un couteau bien tranchant et transplanté dans des sachets de polyéthylène contenant un mélange de terre noire et de sable et de tout autre amendement approprié. En fonction des variétés, on peut obtenir de 20 à 100 plants par explant en 3 mois.

➤ **Repiquage et acclimatation**

Les plantules détachées sont repiquées dans des sachets de polyéthylène perforés contenant un mélange de terre et de sable, et disposé dans l'ombrière pour acclimatation. Les plantules sont régulièrement arrosées (tous les 2 à 3 jours), et un désherbage est nécessaire pour maintenir l'enceinte propre. La croissance et le développement des plants permettent l'émission de plusieurs autres feuilles et au bout de 6 à 10 semaines, les plants sont assez vigoureux pour être transplantés en champ.

### **I.3. Les coquilles d'huîtres en lutte biologique**

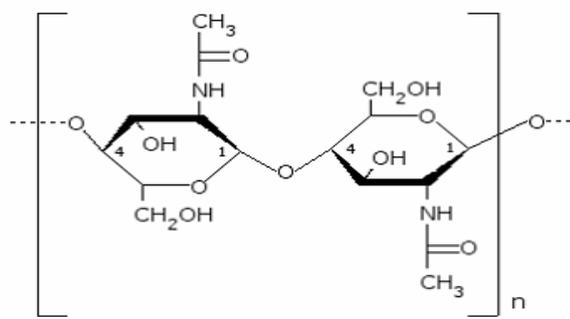
#### **I.3.1. Généralités sur les coquilles d'huître**

Les huîtres (*Crassostrea* spp.) sont des mollusques marins bivalves appartenant à la famille des *Ostreidea* et vivant en eau douce ou salée. La culture de l'huître est appelée Ostréiculture et est pratiquée sur les côtes. Le poids des huîtres correspond surtout à celui de leur coquille. Elle peut représenter, en fonction des saisons, 50% à 75% du poids de l'animal (Ruellet 2004).

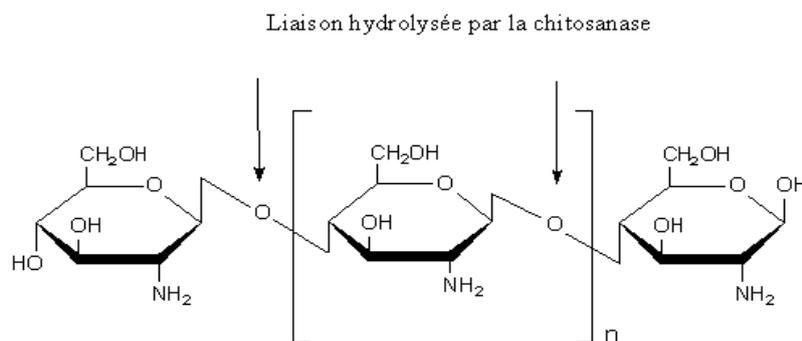
#### **I.3.2. Propriétés physicochimiques des coquilles d'huître**

La coquille des huîtres comme celles des autres mollusques est constituée d'un assemblage intime et complexe de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) et de matière organique (protéines essentiellement), secrété par l'organisme. La forme de carbonate de calcium peut être sous la forme de calcite, d'aragonite ou d'un assemblage de calcite et d'aragonite. En plus du carbonate de calcium, les coquilles d'huîtres contiennent de la chitine, deuxième bio-

polymère le plus abondant dans la nature après la cellulose. Sa teneur varie de 6% à 40% dans les coquilles des mollusques. La structure chimique de la chitine (Figure 5) est un enchaînement de monomères N-acétylglucosamine reliés par une liaison glycosidique (1→4) et sa structure physique présente trois formes différentes en fonction de l'arrangement spatial de la chaîne de cette macromolécule (Desbrières, 2002). C'est un polysaccharide insoluble de haut poids moléculaire. Sa forme soluble, le chitosane est obtenue par une N-désacétylation partielle ou totale de la chitine, soit par voie chimique, soit par voie enzymatique (Figure 6). Les propriétés physicochimiques du chitosane plus particulièrement son caractère polycationique lui confère les propriétés antimicrobiennes et élicitrices des réactions de défense chez la plante sans pour autant qu'il soit phytotoxique.



**Figure 5 : Structure chimique de la chitine (Hirano 1996).**



**Figure 6 : Structure chimique du chitosane (Peniston & Johnson 1980).**

### I.3.3. Application des coquilles d'huîtres en agriculture

Les coquilles de mollusques en général et celles d'huîtres en particulier ont une importance non négligeable en agriculture du fait de leur teneur élevée en calcium. Elles peuvent ainsi être utilisées comme amendement calcique pour l'amélioration du pH des sols des zones à forte pluviométrie. Des études ont montré qu'une application de 20 tonnes par

hectare de poudre de coquilles d'huître améliorerait le pH des sols acides de +0,3 à +0,4 au bout de 9 mois (Anonyme 2014b). De plus, les coquilles d'huîtres sont de bonnes sources de chitine ayant tout comme son dérivé le chitosane, plusieurs applications dans le domaine de l'agriculture. En effet, ce sont des composés biodégradables et non phytotoxiques. Ces polymères sont également des stimulateurs de germination et de croissance des plantes cultivées. L'enrobage des graines de soja avec une concentration 2% de chitosane dérivé de la chitine augmente le taux de germination de l'ordre de 90% (Defang *et al.* 2012). L'application du chitosane comme engrais foliaire dans les concentrations de 100-125 ppm augmente: (1) le taux de croissance absolu et relatif ; (2) la teneur en matière sèche totale ; (3) la capacité photosynthétique et (4) la teneur en chlorophylle des feuilles chez le gombo (Mondal *et al.* 2012).

#### **I.4. Induction aux mécanismes de défense chez les plantes**

##### **I.4.1. Généralités**

Les mécanismes de défenses sont un ensemble de stratagèmes mis en œuvre par les plantes pour retarder ou stopper l'évolution des agents pathogènes. Les plantes peuvent être attaquées par de multiples parasites (champignons, bactéries, virus, insectes). Lors de ces attaques, ils se créent des interactions entre la plante et le pathogène. L'organisme pathogène est tout d'abord capable de reconnaître la plante grâce à certains facteurs portés par l'hôte et ensuite de modifier son métabolisme pour fournir les conditions favorables à la pathogénicité (Alfano & Collmer 2004). Parallèlement, les plantes ont évolué pour identifier des motifs associées aux pathogènes (PAMPs), renforcer les défenses existantes et développer d'autres mécanismes de défenses puissants (Gomez-Gomez & Boller 2002). Lors de cette agression deux cas de figures peuvent se présenter :

- **l'interaction incompatible** qui correspond à une incapacité du pathogène à infecter la plante. Elle peut être due à la présence de barrières physiques (cuticule, paroi végétale) et /ou chimiques (composés antimicrobiens) ;
- **l'interaction compatible** qui correspond à une capacité du pathogène à infecter la plante. Elle commence par une reconnaissance du pathogène par la plante avec l'intervention de différentes molécules préexistantes. Ensuite, au point d'entrée de l'agresseur, les cellules s'autodétruisent pour limiter la progression du pathogène par

la réaction d'hypersensibilité. A l'intérieur de la plante, trois types de stratégies sont mises en œuvre à savoir le renforcement des parois cellulaires, la production d'antibiotiques (phytoalexines) et la synthèse des protéines de défense (PR proteins).

## **I.4.2. Quelques marqueurs biochimiques de défense**

### **I.4.2.1. Les composés phénoliques**

Chez les végétaux supérieurs, plusieurs phénomènes et rôles sont attribuables aux composés phénoliques. Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires les plus étudiés du fait de leur forte implication dans les interactions plantes-environnement (Ewané *et al.* 2012). Leur biosynthèse a lieu dans différentes parties de la plante telles que les chloroplastes, le cytoplasme et la membrane du réticulum endoplasmique. Les principales classes de composés phénoliques sont: les phénols simples (catéchol, résorcinol), les acides hydrobenzoïques (acide salicylique, acide gallique), les acides hydroxycinnamiques (acides feruliques), les flavonoides, les hydroxycoumarines, les lignanes et les polyflavanes (Dicko *et al.* 2006). Leur synthèse au sein de la plante dépend non seulement de l'espèce, mais également des facteurs biotiques (attaques parasitaires, insectes) et abiotiques (climat, granulométrie, topographie). Les composés phénoliques interviennent dans les mécanismes physiologiques de la plante tels que la croissance, la pigmentation ou la résistance aux pathogènes. Ceux impliqués dans les mécanismes de défense de la plante sont soit des phénols constitutifs (phytoanticipines) existant naturellement dans la plante, soit synthétisés de nouveau (phytoalexines) en réponse à une attaque parasitaire (Lattanzio *et al.* 2006).

### **I.4.2.2. Les peroxydases**

Les peroxydases sont des enzymes qui existent chez toutes les espèces végétales. Elles sont impliquées dans différents processus physiologiques dû au nombre élevé de leurs isoformes ainsi que la diversité de la régulation de leur expression. Elles font parties des protéines de résistance de classe 9 et utilisent divers type de substrats tels que les auxines, les composés phénoliques, l'ascorbate etc (Ghosa *et al.* 2004). L'implication des peroxydases dans les mécanismes de défense se traduit par une activation des formes préexistantes ainsi que leur utilisation en tant que marqueurs biochimiques de résistance. L'activité peroxydasique a été corrélée à la résistance des plantes aux attaques pathogènes. Lorsqu'elles

sont associées aux parois cellulaires, les peroxydases participent à plusieurs processus tels que l'oxydation d'une large gamme de composés généralement phénoliques générés à partir de l'acide cinnamique en produit toxique pour le pathogène (Kawano 2003). Il existe également la transformation des acides aminés aromatiques en quinones et en phytoalexines ayant les propriétés bactéricides et antifongiques (Ghosa *et al.* 2004). De même, elles catalysent le renforcement des parois cellulaires suite aux stimuli biotiques ou abiotiques créant ainsi des barrières physiques.

## **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

## Cadre de travail

Ces travaux ont été réalisés au Centre Biotechnologique (CBT) de l'Université de Yaoundé 1 : institution de recherche située à Nkolbisson, petite localité au Nord-ouest de la ville de Yaoundé dans la région du Centre - Cameroun. Ses coordonnées géographiques sont : 3°52' et 3°53' de latitude Nord et 11°25' et 11°26' de longitude Est (Kamgang *et al.* 1991). La région du Centre est localisée dans la zone agro écologique dite de Forêt Humide à Pluviométrie Bimodale. La phase de multiplication et de germination s'est effectuée sous une serre pendant une période allant de Mai 2015 à Août 2015, marquée par une température ambiante relativement humide (20 - 25°C) et de précipitations moyennes (250 - 800 mm / mois) (IRAD, 2015).

Pour mener à bien cette expérimentation, un certain nombre de matériel et méthodes s'est avéré nécessaire.

### II.1. Matériel

#### ➤ Matériel végétal

Les rejets de banane-plantain variété bâtard (Figure 7) utilisés pour cette étude proviennent du Département de la Lekie dans la région du Centre, plus précisément de la ville d'Obala.



Figure 7: Un rejet de bananier plantain, variété Bâtard (Photo Ngoula 2016)

#### ➤ Matériel microbiologique

La souche de *Mycosphaerella fijiensis* (sp 6155), champignon responsable de la cercosporiose noire provient du CARBAP (Figure 8). Elle a été mise en culture *in vitro* pour obtenir la quantité d'inoculum nécessaire et suffisante pour l'expérimentation.



Figure 8 : Souche de *Mycosphaerella fijiensis* (sp 6155) sur milieu V8 (Photo Ngoula 2016).

### ➤ Matériel organique

Les coquilles d’huître (Figure 9) ont constitué notre matériel organique. Ces coquilles d’huître proviennent de la commune de Mouanko, située dans la région du Littoral et plus précisément dans le Département de la Sanaga Maritime à une vingtaine de kilomètres à l'Est de son embouchure dans le Golfe de Guinée.



Figure 9 : Amas de coquilles d’huître(A) et poudre de coquilles d’huître (B) (Photo Ngoula 2016)

### ➤ Substrat de production

- La sciure de bois blanc : substrat de propagation dans les bacs de germination a été obtenue dans une scierie de la ville de Yaoundé.
- Un mélange de terre noire et de sable respectivement dans les proportions : 2/3 et 1/3 a été utilisé comme substrat pour la croissance des plantules dans des pots en plastique perforés par endroits. La terre noire a été collectée et transportée d’une plantation du village NDAMVOUT situé à quelques centaines de mètre de Nkolbisson-Yaoundé.

## **II.2. Méthodes**

### **II.2.1. Transformation des coquilles d'huître**

Les coquilles d'huître ont été collectées dans la localité de Mouanko, Département de la Sanaga maritime. Elles ont été lavées à l'eau courante puis séchées au soleil avant d'être chauffées à l'étuve à 230 °C pendant 3 heures. Quelques jours après qu'elles aient bien refroidis, elles ont été transportées dans une provenderie, où elles ont été concassées à l'aide d'une machine. Après le concassage, les granules de coquilles obtenues ont été broyées dans un moulin, puis tamisées à l'aide d'un tamis de mailles 0,8 mm de diamètre. La poudre obtenue de couleur blanchâtre a été pesée à chaque utilisation et appliquée uniformément dans des bacs désignées à cet effet à la dose de 10%, soit 100 g de poudre de coquilles pour 1 kg de substrat de croissance. Chacun des bacs utilisés constitue une unité expérimentale (UE). Ce sont des bassines de forme cylindro-conique sans sommet avec 22 cm de hauteur, 31 cm de diamètre moyen pour un volume de 16,53 litres. L'amendement s'est fait par un saupoudrage, suivi d'un mélange uniforme de la poudre avec le substrat et de l'eau du robinet (Figure 10).



Coquilles d'huître

Lavage et séchage au soleil

Chauffage à l'étuve à 230 °C pendant 3 heures

Concassage à la provenderie



Granules de coquilles d'huîtres

Broyage au moulin

Tamissage  $\text{Ø}=0.8\text{mm}$



Poudre de coquilles d'huître

**Figure 10 : Procédé de transformation des coquilles d'huître en poudre.**

### II.2.3. Stérilisation et préparation des substrats

Les différents substrats utilisés pour la germination des explants en serre, la croissance des plantules sous ombrière sont respectivement :

- La sciure de bois blanc ;
- Un mélange de terre et de sable.

Le dispositif expérimental prévoyant un bloc à substrats stériles, une quantité suffisante de chaque type de substrat a été stérilisé à l'autoclave. La durée à l'autoclave différait d'un substrat à l'autre :

- 3 heures, avec une alternance de 1 heure de stérilisation et 20 minutes de refroidissement, à 170 °C pour 20 kg de terre noire ;
- 3 heures, avec une alternance de 1 heure de stérilisation et 20 minutes de refroidissement, à 170 °C pour 20 kg de sable ;
- 3 heures à 120 °C pour 15 kg de sciure de bois blanc.

En serre, les explants ont été introduits dans chaque UE (amendement) contenant un mélange total de 1,5 kg de sciure de bois blanc et de poudre de coquilles d'huître (Figure 11). Les autres bassines sans amendement ont été considérées comme témoins. Une quantité suffisante d'eau courante a été ajoutée dans toutes les bassines et mélangée au substrat afin d'obtenir une pâte.

Sous ombrière, les plantules sevrées en serre ont été repiquées dans des pots ou petits plastiques noirs de forme cylindrique avec une base fermée et à bords perforés pouvant contenir 02 kg de substrat. Le substrat dans les pots, est un mélange de terre noire et de sable, dans les proportions respectives de 2/3 et de 1/3. Les différents traitements ont de nouveau été appliqués, soit 200g de poudre de coquilles d'huître.



Figure 11: Application de la poudre de coquille dans la sciure de bois (Photo Ngoula 2016)

#### II.2.4. Préparation du matériel végétal

Les rejets récoltés en champ ont été utilisés pour l'obtention des explants et la production des plantules par la méthode PIF.

Les explants ont été obtenus des rejets à la suite des opérations successives que nécessite la méthode PIF décrite ci-après :

- **Le parage à blanc :** C'est une opération qui consiste à enlever toutes les racines, la terre et les galeries susceptibles de renfermer les charançons. Une fois le bulbe pelé à blanc, il est déposé sur une surface bien propre où se fera le décortilage des gaines foliaires.
- **Le décortilage des gaines :** Consiste à mettre à nu les bourgeons secondaires du bulbe par enlèvement successif des gaines foliaires constituant le pseudo tronc du rejet. A la frontière entre le bulbe et le pseudo tronc, se trouve une zone (ceinture) plus ou moins claire en fonction de la variété en présence, qui relie les gaines foliaires les unes aux autres. Le décortilage des gaines se fait l'une après l'autre à 2 mm environ au-dessus de cette zone appelée « nœud ». Généralement 3 à 5 gaines peuvent être enlevées. Le pseudo-tronc restant est ensuite éliminé par une incision à 3 mm au-dessus du dernier niveau de décortilage. On obtient ainsi l'explant (Figure 12A) qui est laissé à sécher à l'ombre pendant 48 heures, le temps nécessaire pour que les blessures dues au parage et au décortilage s'assèchent.

- **Levée de la dominance apicale :** Une incision en croix (Figure 12B) est réalisée à l'aide d'un couteau propre et tranchant au centre de l'explant à une profondeur de 3 cm environ pour lever la dominance du méristème apicale caulinaire (MAC) et l'explant est laissé à sécher pendant 1 heure environ avant son ensemencement dans le germoir.



**Figure 12 : Explants de bananier plantain parés (A) et incisés (B) (Photo Ngoula 2016)**

Les explants ainsi incisés, ont été répartis de manière équitable en 2 lots. Les explants incisés du premier lot ont été enrobés par une poudre de coquilles d'huître, et ceux du deuxième lot, constitué de substrat exempt de tout amendement ont été considérés comme des témoins.

Le semis des explants dans les bacs de germoir, a été fait comme le semis naturel des bananiers avec la partie du bulbe portant autrefois les racines, en dessous et la partie superficielle incisée, au-dessus (Ndongo 2015). Les bacs ont été classés par bloc sur les étagères en serre et recouverts par un plastique blanc et transparent. Le suivi des explants en serre, a permis la germination et la production de jeunes plants de bananier plantain de la variété Bâtard.

### **II.2.5. Dispositif expérimental**

Notre dispositif expérimental était identique autant en serre que sous ombrière. Cependant, une différence sera observée au niveau du nombre de plants par UE:

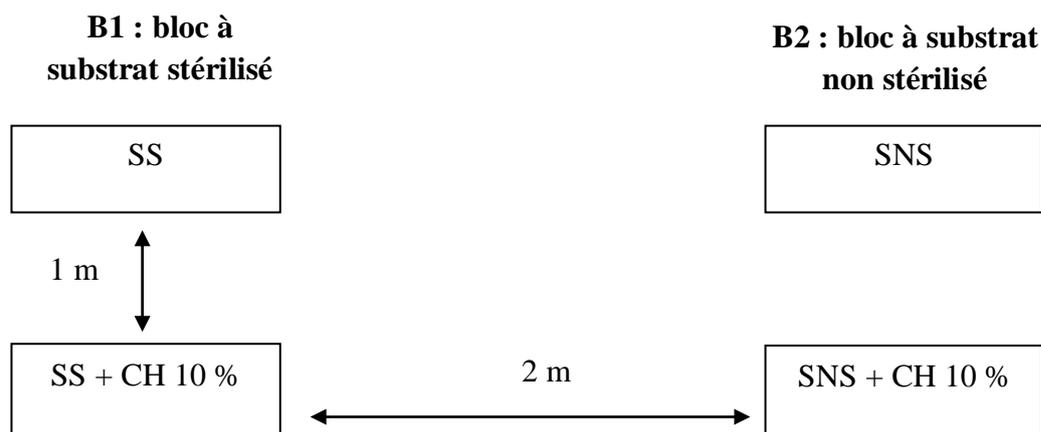
- ❖ Dans la serre : trois (03) explants par UE ;
- ❖ Sous l'ombrière : un (01) plant par UE.

L'expérimentation a été faite sur un Dispositif en Bloc Complètement Randomisée (Figure 13) avec quatre (04) traitements qui sont :

- Poudre de coquilles d'huître à 10% + substrat stérile ;
- Poudre de coquilles d'huître à 10% + substrat non stérile ;
- Témoin stérile ;
- Témoin non stérile

Les témoins sont des UE n'ayant reçu aucun amendement. Cette expérimentation s'est faite sur deux (02) blocs :

- Un bloc à substrat stérilisé (B<sub>1</sub>) ;
- Un bloc à substrat non stérilisé (B<sub>2</sub>).



**Figure 13 : Présentation du dispositif expérimental.**

**Légende** : **SS** = Substrat Stérile ; **SNS** = Substrat Non Stérile ; **CH** = Coquilles d'Huître

## II.2.6. Production des plantules PIF

Après la mise en place du dispositif expérimental, un arrosage régulier a été effectué à chaque UE (Figure 14A) et au bout de quelques semaines, les bourgeons axillaires autrefois dormants se sont différenciés peu à peu en plantules regroupées en touffes. Toutefois, dans certains cas, il est arrivé que le bourgeon centrale (ou méristème apical caulinaire, MAC) repousse, empêchant ainsi la différenciation des bourgeons secondaires. Dans ce cas une réactivation a été réalisée à chaque fois, consistant en une nouvelle levée de la dormance et une nouvelle excision en croix.

Les plantules en pot ont été transférées et disposées en deux blocs distincts sous une ombrière aménagée à cet effet pour besoin d'acclimatation où elles ont continué leur croissance (Figure 14B).

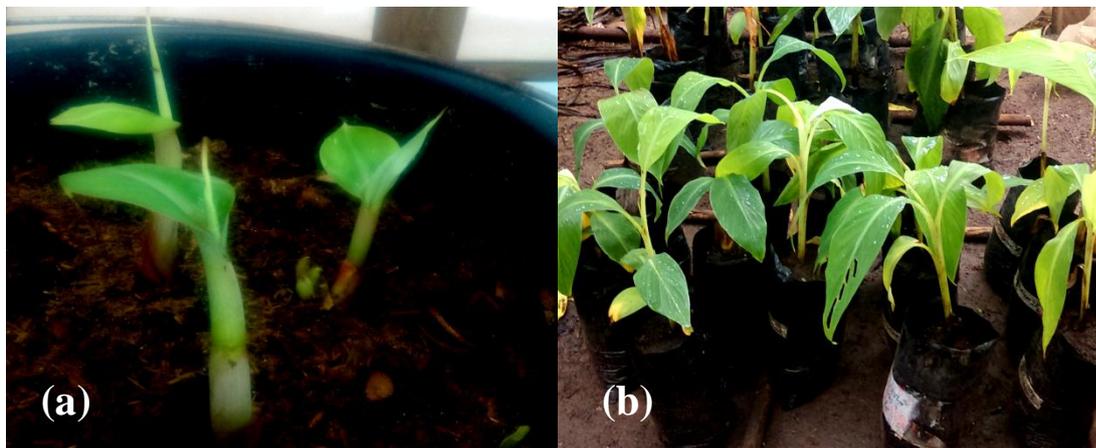


Figure 14 : Explants de bananier-plantain en germination sous serre (a) et explant en pot sous ombrière (b) (Photo Ngoula 2016).

## II.2.7. Collecte des données de germination en serre

L'arrosage de chaque UE à l'aide d'1L d'eau courante, s'est fait tous les deux jours. Après imbibition à saturation des explants et du substrat, la quantité d'eau en excès a été récupérée. Cette quantité d'eau excédentaire a progressivement diminuée avec la germination des explants et la décomposition de la sciure de bois. De plus, des gouttelettes d'eau ont été régulièrement observées sur la face interne du plastique recouvrant les UE, signe que l'évapotranspiration a bien eu lieu dans ces dernières. Enfin, certaines espèces de champignons supérieurs se développant sur le substrat dans les bacs, ont été régulièrement arrachées.

La prise de données a été faite tous les 7 jours à partir de la deuxième semaine d'entrée des explants en serre et s'est étendue sur les 4 semaines suivantes. Ainsi, une période de 6 semaines a été suffisante pour que tous les explants émettent des plantules. Les bulbes ayant germés ont été comptés et le nombre de plantules émises dans chaque bac. Le **taux de germination** et le **nombre de plantules émises** pour chaque UE ont été évalués. Le ratio du nombre de bulbes ayant germés et du nombre total de bulbes initiaux multiplié par 100 a donné le taux de germination pour chaque UE.

### II.2.8. Prise des données agro-morphologiques sous ombrière

Les plantules en serre ont été sevrées à un stade de développement normal de 2 petites feuilles ouvertes et de 3 à 4 racicules par plantules. Les plantules sevrées, ont été immédiatement repiquées dans les pots et transférées sous l'ombrière. Les plantules sous ombrière, ont été arrosées régulièrement tous les deux jours. Le désherbage manuel a été effectué constamment afin de maintenir l'enceinte de l'ombrière propre. Sous l'ombrière, la croissance et le développement des plantules ont conduit à l'émission de plusieurs autres feuilles.

L'effet des différents traitements sur le rythme de croissance des plantules, a été évalué par la mesure des variables et le calcul d'un paramètre agronomique sur chaque plante d'une UE et sur toutes les UE.

Les variables et les paramètres de croissance suivant ont été évalués :

- **La hauteur des pseudo-tiges** a été mesurée à l'aide d'une règle graduée, du collet jusqu'à l'apex ou point d'émission continue des feuilles ;
- **Le diamètre des pseudo-tiges** a été mesuré, à l'aide d'un pied à coulisse, au niveau du collet de chaque plantule ;
- **La longueur et la largeur des feuilles** ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée.

La **surface foliaire totale** ( $SF_T$ ) de chaque plantule, est le seul paramètre agronomique qui a été calculé, à l'aide de la formule de Lassoudière (2007) pour le cas des bananiers décrite ci-dessous.

$$SF_T = L \times l \times 0,8 \times \text{Nombre de feuilles} \times 0,662 \text{ cm}^2$$

Avec :

- **L** et **I** respectivement la longueur et la largeur de la feuille la plus large de chaque plante. La feuille la plus large étant notée : F III (deuxième avant dernière feuille émise, F II et F I étant les dernières feuilles émises) ;
- **0,8** et **0,662** sont des constantes.

Les mesures des variables et des paramètres de croissance des plantules ont été effectués tous les 7 jours à compter du jour d'entrée des plantules en ombrière. Les mesures ont été étendues sur 14 jours.

### **II.2.9. Préparation de l'inoculum**

La souche de *M. fijiensis* a été mise en culture dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA (39 g/l) sous hotte à flux laminaire et incubée pendant 21 jours à 25 °C sous lumière blanche permanente. Des disques de mycélium issus de cette première culture ont été ensuite repiqués plusieurs fois sur le milieu V8 modifié (Onautshu 2013) pendant 14 jours dans les mêmes conditions écologiques afin d'obtenir des souches pures qui ont été conservées à 4 °C.

Après la croissance du champignon, des disques mycéliens de 5 mm de diamètre ont été prélevés à l'aide d'un emporte-pièce sur les boîtes de Pétri de manière aseptique et introduits dans des tubes contenant de l'eau physiologique (NaCl 9g/l). Les tubes ont été vortexés pendant 15 min pour provoquer l'enkystement des spores. La solution obtenue a été filtrée et le filtrat, récupéré pour le comptage des spores. Une solution de gélatine 5% a été apportée à l'inoculum afin de la fixer en un point précis sur les feuilles des plants PIF sélectionnés.

Une goutte de cette suspension de spores a été prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur et déposée sur la cellule de Neubauer, puis recouverte par une lamelle pour le comptage microscopique. Le nombre de zoospore a été calibré à  $10^6$  zoospores/ml de solution.

### **II.2.10. Inoculation des feuilles**

La pathogénicité de la souche de *M. fijiensis* a été testée sous conditions contrôlées par inoculation des feuilles des plantules de banane plantain *var.* Bâtard issues de la méthode PIF avec des suspensions sporales de *M. fijiensis*, selon le protocole modifié d'Onautshu (2013).

En effet, 04 vivo plants PIF, soit 1 par UE du cultivar Bâtard ont été choisis sous ombrière. Les plantules de même âge (3,5 mois) et de même taille ont été arrosées tous les 2 jours. Une quantité de 100 µl d'inoculum a été prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur puis appliquée sur une feuille de chaque plantule sélectionné. Au total, un volume de 400 µl de solution sporale a été suffisant pour l'inoculation de 4 plantules. Les plantules sélectionnées ont servi pour suivre le développement ou non des symptômes.

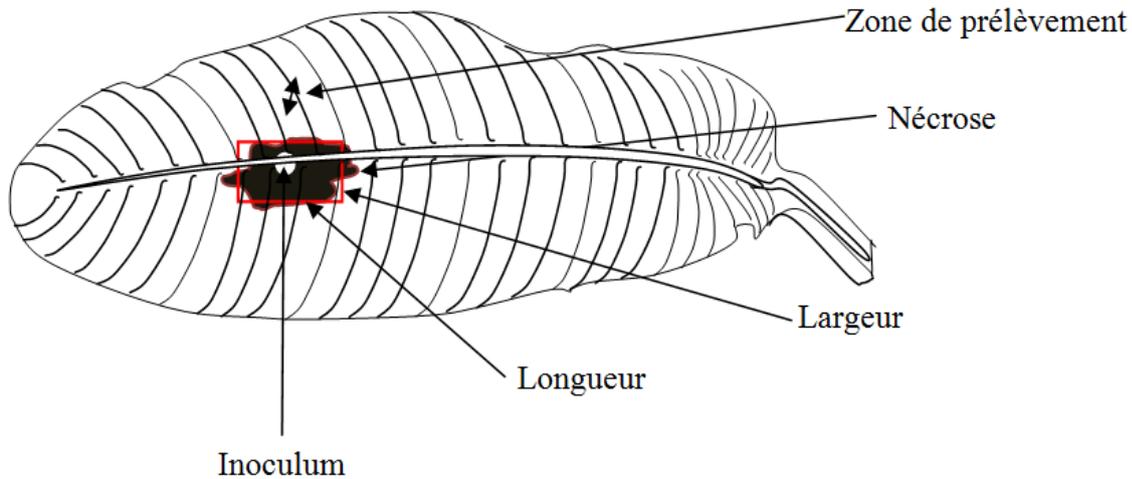
Les feuilles inoculées ont été maintenues sous ombrière et arrosés tous les 2 jours. L'évaluation de la sévérité de la maladie a permis d'apprécier l'effet des différents traitements sur la résistance des plantules à la cercosporiose noire. L'observation des symptômes, l'estimation des surfaces foliaires entières et celles des parties nécrosées ont commencé 2 jours après l'inoculation (JAI), et se sont poursuivis tous les 2 jours pendant 14 jours.

Une surface rectangulaire a été délimitée autour de la nécrose conformément à la méthode appliquée par Ewané *et al.* (2013a) et la longueur (L) et la largeur (l) de ce rectangle ont été mesurées tous les deux jours afin de calculer la surface de nécrose suivant la formule :

$$S = L \times l$$

Avec : **S** en cm<sup>2</sup>

Après les mesures de surface de nécroses au jour 14, les parties de feuilles non nécrosées ont été prélevés au-delà de 2 mm après la zone nécrosée (Figure 15) pour les analyses biochimiques futures.



**Figure 15 : Zones d'inoculation de *M. fijiensis* et de prélèvement de la feuille pour les analyses Biochimiques (Photo Ngoula 2016).**

### **II.2.11. Dosage des composés phénoliques totaux**

L'extraction a été conduite selon le protocole modifié d'El Hadrami *et al.* (1997). Un demi gramme (0,5 g) de feuilles fraîches de bananier-plantain a été broyé à froid (4° C) dans 4 ml de méthanol 80% (V/V). Après agitation au vortex, le mélange a été centrifugé à 13416 g pendant 10 min à l'aide d'une centrifugeuse de marque BECKMAN COULTER (Microfuge X-20 R Centrifuge). Le surnageant obtenu a constitué l'extrait de phénols totaux (Figure 16).

Le dosage quantitatif des composés phénoliques a été fait selon le protocole de Marigot *et al.* (1973) utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, et dont le principe et le mode opératoire se présentent ainsi qu'il suit :

#### ***Principe***

Le réactif de Folin-Ciocalteu, acide fort de couleur jaune, formé d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, est réduit en milieu alcalin et à chaud lors de l'oxydation des composés phénoliques en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite dont l'absorption maximum est de 760 nm est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présente dans l'extrait.

## Mode opératoire

Dans un tube à essai, on a introduit successivement :

- 100 µl d'extrait ;
- 2.5 ml d'eau distillée ;
- 75 µl de Folin-Ciocalteu ;
- 750 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 20% ;

Le mélange obtenu a été incubé au bain marie à 40 °C pendant 1h. Le réactif de Folin-Ciocalteu vire au bleu en présence des composés phénoliques. L'intensité de la coloration étant proportionnelle à la teneur en composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel. La mesure de l'absorbance a été réalisée au spectrophotomètre (UV-1605 ; UV-visible SPECTROPHOTOMETER SHIMADZU) à 760 nm contre un blanc dans lequel l'extrait a été remplacé par l'eau distillée. Pour chaque extrait, 3 répétitions ont été réalisées. La teneur en composés phénoliques a été exprimée en mg/g de matière fraîche par référence à la courbe d'étalonnage établie avec la catéchine (0,1 mg/ml).

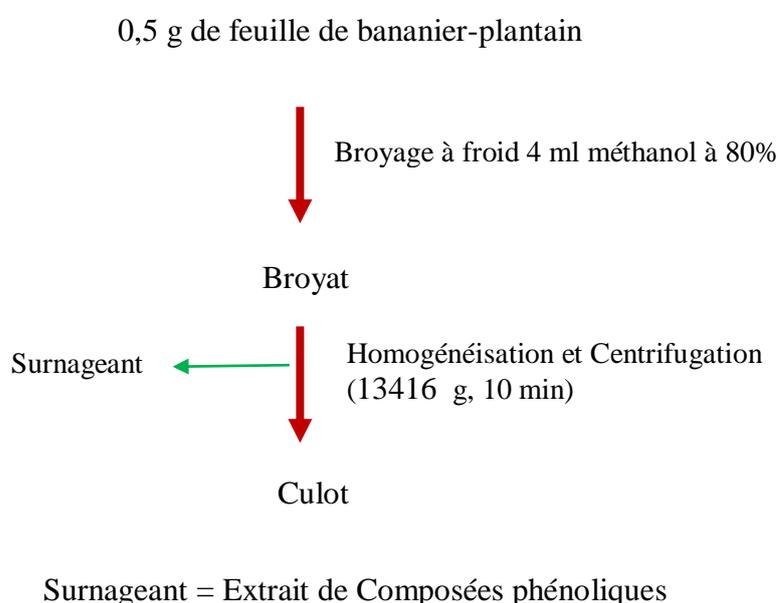


Figure 16 : Protocole d'extraction des composés phénoliques totaux (EL Hadrami *et al.* 1997 modifié).

## II.2.12. Analyse des protéines totales sous condition native

L'extraction des protéines totales a été faite selon le protocole modifié de Pirovani *et al.* (2008). Ainsi, 0,5 g de feuilles fraîches a été broyé à froid dans 4 ml de tampon d'extraction (Tampon Tris-maleate 0,1 M à pH 7,2). Le broyat a été resuspendu dans 5 ml de tampon d'extraction. Après agitation au vortex pendant 10 min et incubation dans la glace, le mélange a été centrifugé à froid à 13416 g pendant 25 min. Le surnageant a été supplémenté avec 0,4 V (facteur de dilution) de n-butanol ainsi que 1/10 de tampon acétate de sodium 3 M, pH 4,5. Le mélange a ensuite été incubé dans la glace pendant 30 min avec agitation toutes les 10 min. Le surnageant recueilli constitue l'extrait de protéines totales (Figure 17).

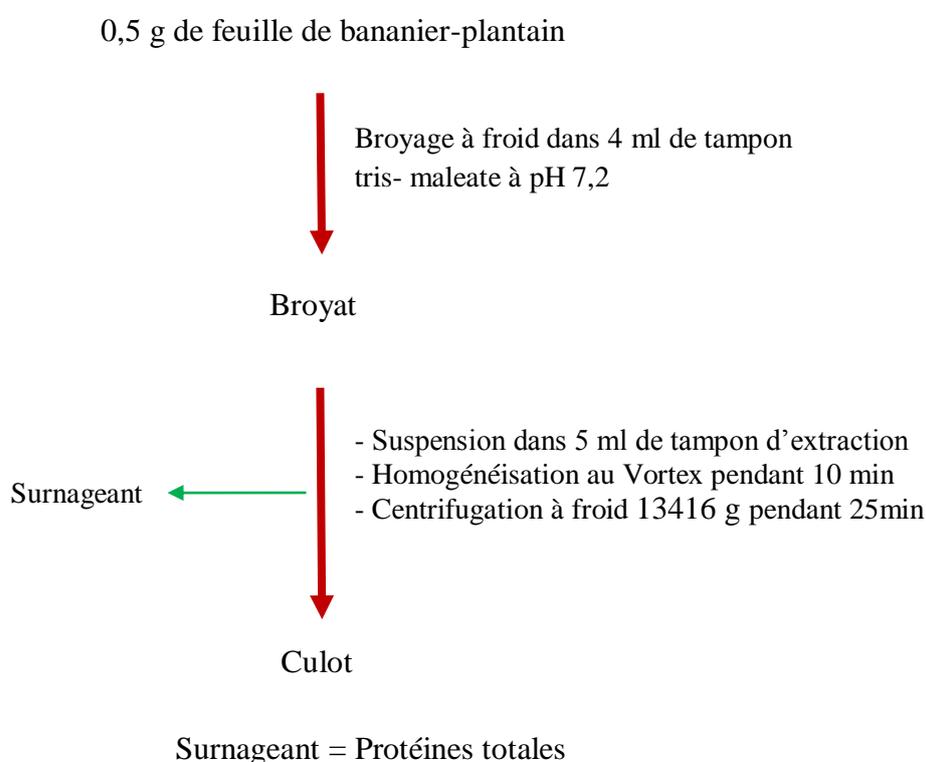


Figure 17 : Protocole d'extraction des protéines totales sous condition native (Pirovani *et al.* 2008 modifié).

Le dosage des protéines totales a été réalisé selon la méthode de Bradford (1976) utilisant le Bleu de Coomassie G250 et dont le principe et le mode opératoire se présentent ainsi qu'il suit :

## ***Principe***

En milieu acide, le Bleu Brillant de Coomassie G250 de couleur brun clair se fixe sur les résidus hydrophobes des acides aminés constituant les protéines pour former un complexe de coloration bleu absorbant à un maximum de 595 nm et dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans le milieu.

## ***Mode opératoire***

Dans chaque tube à essai, ont été introduits :

- 450 µl d'eau distillée;
- 50 µl d'extrait;
- 2000 µl de réactif de Bradford.

Après incubation à la température ambiante pendant 30 min, la lecture de la densité optique (DO) à 595 nm s'est faite contre un blanc dans lequel l'extrait a été remplacé par l'eau distillée. Pour chaque extrait, 3 répétitions ont été réalisées et les quantités protéiques ont été exprimées en mg/g de matière fraîche par référence à la courbe d'étalonnage établie avec le BSA (Bovin Serum Albumin) 0,1 mg/ml.

### **II.2.13. Analyses statistiques**

Les données collectées (le taux de germination, le nombre de plantules émises, les paramètres de croissance, la sévérité à la cercosporiose noire ainsi que les marqueurs biochimiques de résistance) ont été traitées à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2007 qui a permis de faire le tracer des graphiques. Ces paramètres ont été soumis à une analyse de la variance (ANOVA) et les moyennes ont été comparées par le test de Tukey au seuil de probabilité 5% grâce au logiciel SPSS version 17.0.

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

### III.1. Résultats

#### III.1.1. Effet des coquilles d’huître sur la germination des explants en serre

Le taux de germination des explants ainsi que le nombre de plantules émises ont été évalués au cours du temps pour les différents traitements.

Le nombre cumulé de plantules émises par les explants est significativement différent ( $P \leq 0,05$ ) en fonction du traitement et au cours du temps (Figure 18). En effet, le nombre cumulé moyen de plantules émises pour les explants traités (SS+CH et SNS+CH) est de 3, 6, 9, 11, et 14 respectivement au 14<sup>ème</sup>, 21<sup>ème</sup>, 28<sup>ème</sup>, 35<sup>ème</sup> et 42<sup>ème</sup> jours après semis (JAS) tandis qu’il est de 1, 2, 5, 6 et 9 plantules émises par les explants témoins (SS et SNS) aux mêmes dates. Le nombre cumulé de plantules émises dans les traitements SS et SNS est inférieur à celui des traitements SS+CH et SNS+CH. La présence des coquilles dans le substrat de production améliore le degré de rejettage de l’ordre de 55,2% pour les traitements stériles et de 39,7% pour les traitements non stériles.

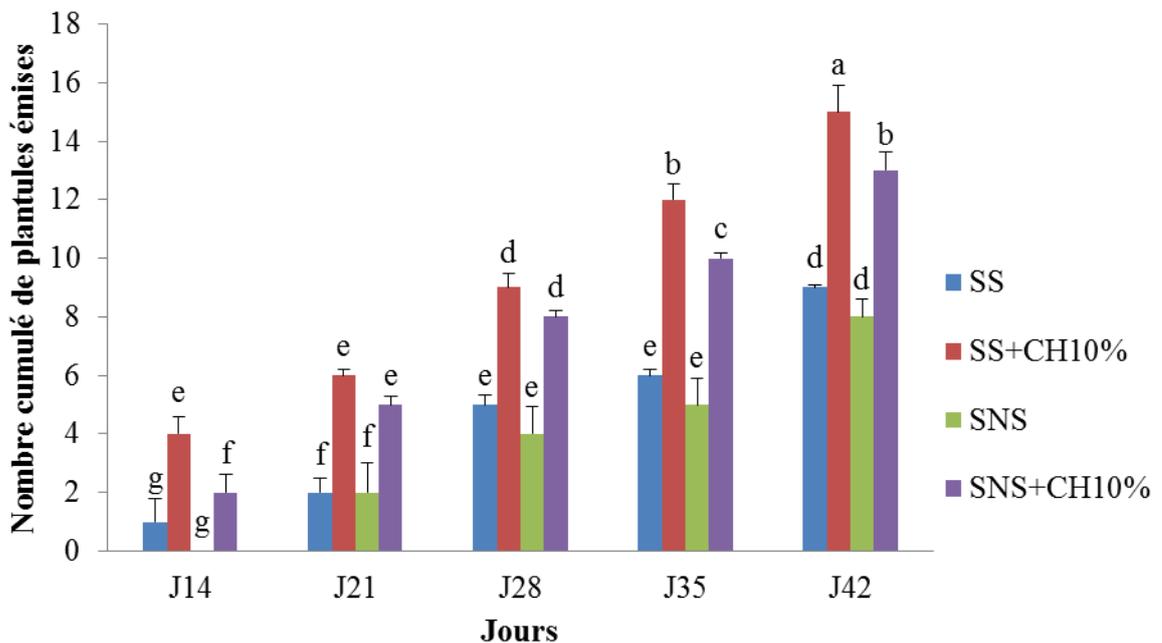


Figure 18 : Nombre cumulé de plantules émises pour les différents traitements au cours du temps. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d’huître. \*a>b>c>d>f>g pour le nombre de plantules émises au cours du temps.

Les explants ayant reçu un amendement en poudre de coquilles, ont une vitesse de germination significativement plus élevée (Tableau 4). Au 14<sup>ème</sup> jour, le taux de germination est de 67% plus élevé pour les explants traités comparé aux explants témoins. Au 21<sup>ème</sup> jour, le taux de germination est de 33,33% plus élevé pour les explants traités comparé aux explants témoins. Du 28<sup>ème</sup> au 42<sup>ème</sup> jour, le taux de germination est le même quel que soit le traitement, soit 100%. La présence des coquilles d'huître améliore le taux de germination de 33% à 67%.

### **III.1.2. Effets des coquilles d'huître sur la croissance des plantules sous ombrière**

Les paramètres morphologiques de croissance (hauteur des pseudo-tiges, diamètre des pseudo-tiges et la surface foliaire) relevés tous les 07 jours à partir du jour du sevrage (J0) présentent des différences significatives ( $P \leq 0,05$ ) entre les plantules.

Les hauteurs moyennes des pseudo-tiges, pour les jours 0, 7, 14 et 21 après semis sont respectivement de l'ordre de 8,9; 10,2; 11 et 11,9 cm pour les plantules témoins (SS; SNS) (Tableau 5). Ces valeurs sont significativement inférieures comparés à celles des plantules traitées (SS+CH et SNS+CH) dont les valeurs moyennes sont de l'ordre de 12,6; 13,3; 14 et 17,6 cm pendant les mêmes intervalles de temps. Les meilleures hauteurs ont été observées au 21<sup>ème</sup> jour chez les plantules traitées (Figure 19). L'amendement des pots en poudre de coquilles d'huître améliore la croissance en hauteur des plantules avec un taux moyen de 29,8% pour les traitements stériles et de 23,8% pour les traitements non stériles. Il n'existe pas de différence significative entre les traités des blocs stérile et non stérile.

Le diamètre des pseudo-tiges des plantules traitées (SS+CH et SNS+CH) est significativement ( $P \leq 0,05$ ) plus élevé que celui des plantules non traitées (SS et SNS) (Figure 20). Le diamètre moyen de pseudo-tige des plantules traitées est de l'ordre de 11,6; 12,3; 13 et 14,1 mm respectivement pour les jours 0, 7, 14 et 21 après semis contrairement à 10,4; 10,9; 11,4; et 12 mm pour les plantules témoins pendant les mêmes intervalles de temps (Tableau 6). Le diamètre de plantules traitées (SS+CH et SNS+CH) est significativement plus élevé que celui des témoins (SS et SNS), avec des valeurs maximales au 21<sup>ème</sup> jour. Les plantules traitées ont un taux moyen de promotion de la croissance en diamètre de 10,7% pour les traitements stériles et de 13,7% pour les traitements non stériles comparés aux plantules témoins.

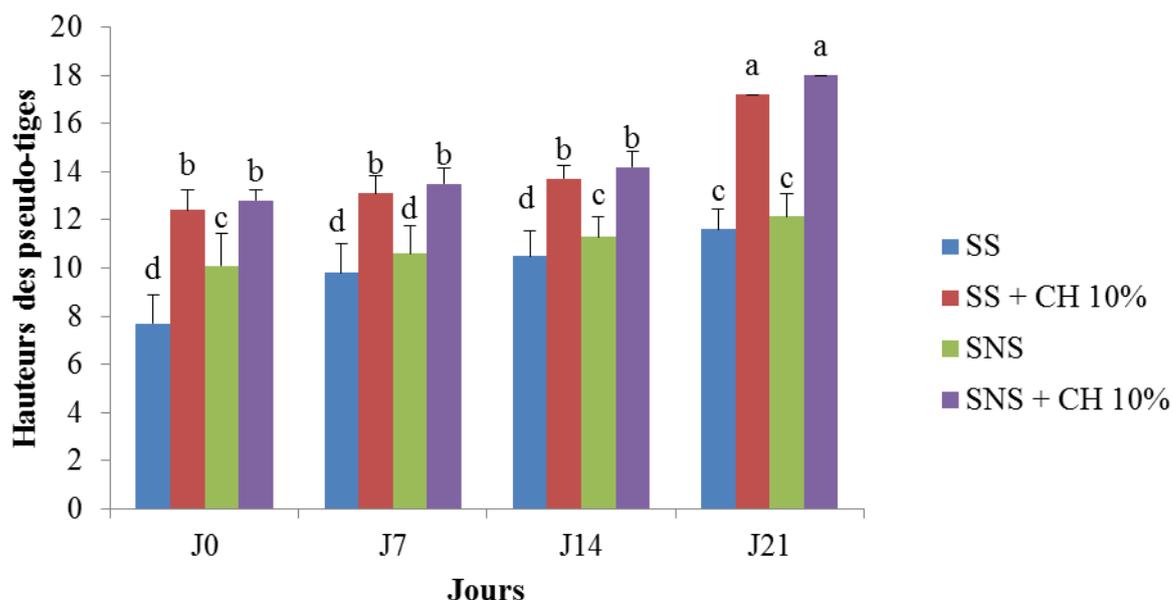


Figure 19 : Hauteurs des pseudo-tiges de plantules PIF amendés et non amendés en poudre de coquilles d’huître. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d’huître. \*a>b>c>d pour la hauteur des plantules au cours du temps.

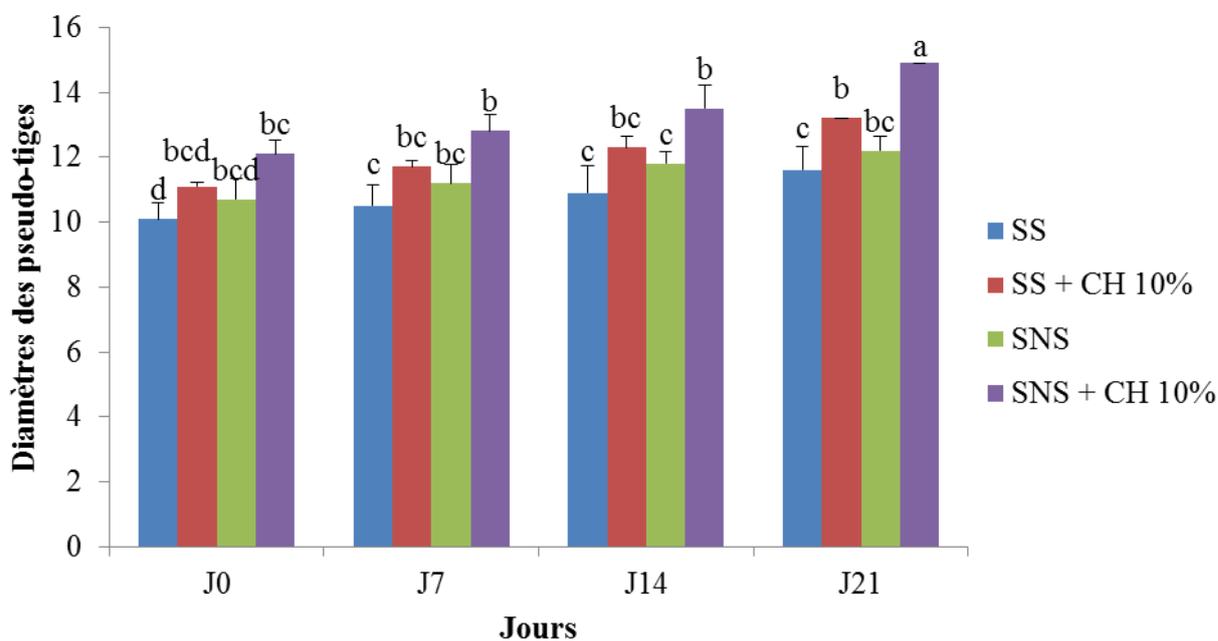


Figure 20 : Diamètres des pseudo-tiges de plantules PIF amendés et non amendés en poudre de coquilles d’huître. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d’huître. \*a>b>c>d pour le diamètre des plantules au cours du temps.

L'amendement du substrat de production et de culture en poudre de coquilles d'huître augmente graduellement et significativement la surface foliaire (Figure 21). En effet la surface foliaire moyenne est de 56 cm<sup>2</sup> au jour 0; 73,4 cm<sup>2</sup> au jour 7 et 111,4 cm<sup>2</sup> au jour 14 et 141,1cm<sup>2</sup> au jour 21 pour les plantules traitées et respectivement de 36,8; 48; 60,9 et 70,2 cm<sup>2</sup> au cours des mêmes dates pour les plantules témoins (Tableau 7). Le traitement SS+CH présente à chaque fois des valeurs de surface foliaire les plus élevées, suivi du traitement SNS+CH. Nous observons un taux moyen d'augmentation de la surface foliaire de 41% chez les plantules traitées comparé aux plantules témoins avec des valeurs maximales aux jours 14 et 21.

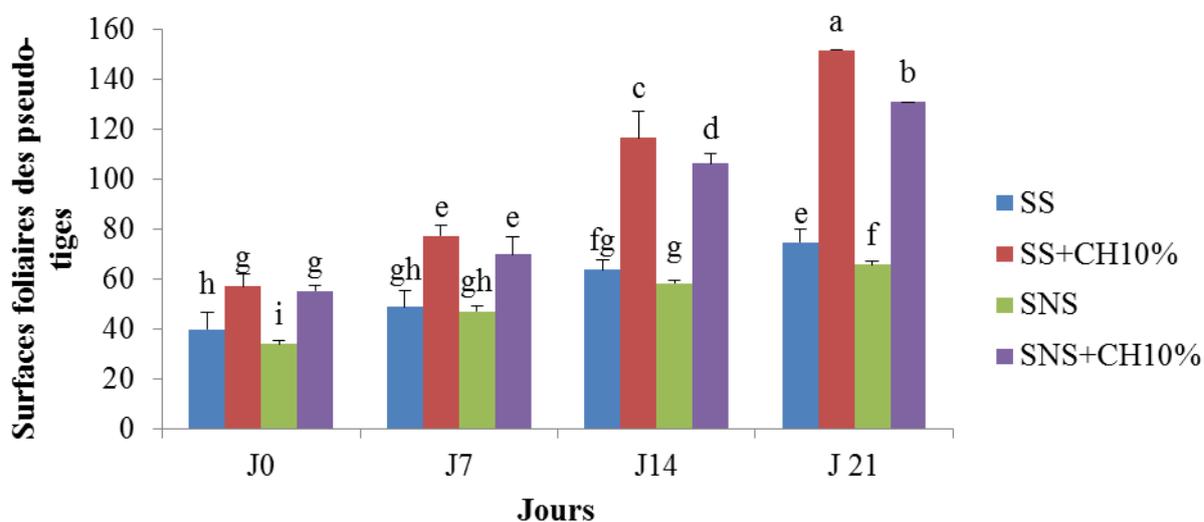


Figure 21 : Surfaces foliaires de plantules en pots amendés et non amendés en poudre de coquilles d'huître. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d'huître. \*a>b>c>d>e>f>g>h>i pour la surface foliaire au cours du temps.



**Figure 22 : Croissance en pots des plantules de bananier plantain après sevrage. (A) : plants non amendés (conditions SS et SNS) ; (B) : plants amendés en poudre de coquilles d'huître (condition SS+CH et SNS+CH) ; (C) : plants non amendé et amendé respectivement en condition contrôlé SS et SS+CH ; (D) : plants non amendés respectivement en condition paysanne SNS et SNS+CH.**

### III.1.3. Evaluation de la résistance à la cercosporiose noire

La mesure de la surface de nécrose après inoculation durant une période de 14 jours nous a permis d'observer un développement de nécroses plus important sur les feuilles des plantules PIF non traitées comparé aux feuilles de plantules PIF traitées (Figure 23). En effet, les plantules traitées (SS+CH et SNS+CH) ont des valeurs moyennes de surface nécrosée de 0,2 cm<sup>2</sup> au jour 6 et de 4,4 cm<sup>2</sup> au jour 14, comparé à celles des plantules non traitées (SS et SNS) ; soit 1,8 cm<sup>2</sup> et 23,3 cm<sup>2</sup> respectivement aux mêmes dates. Toutefois, le traitement SNS est plus sensible comparé aux autres traitements, tandis que le traitement SS+CH est le moins sensible.

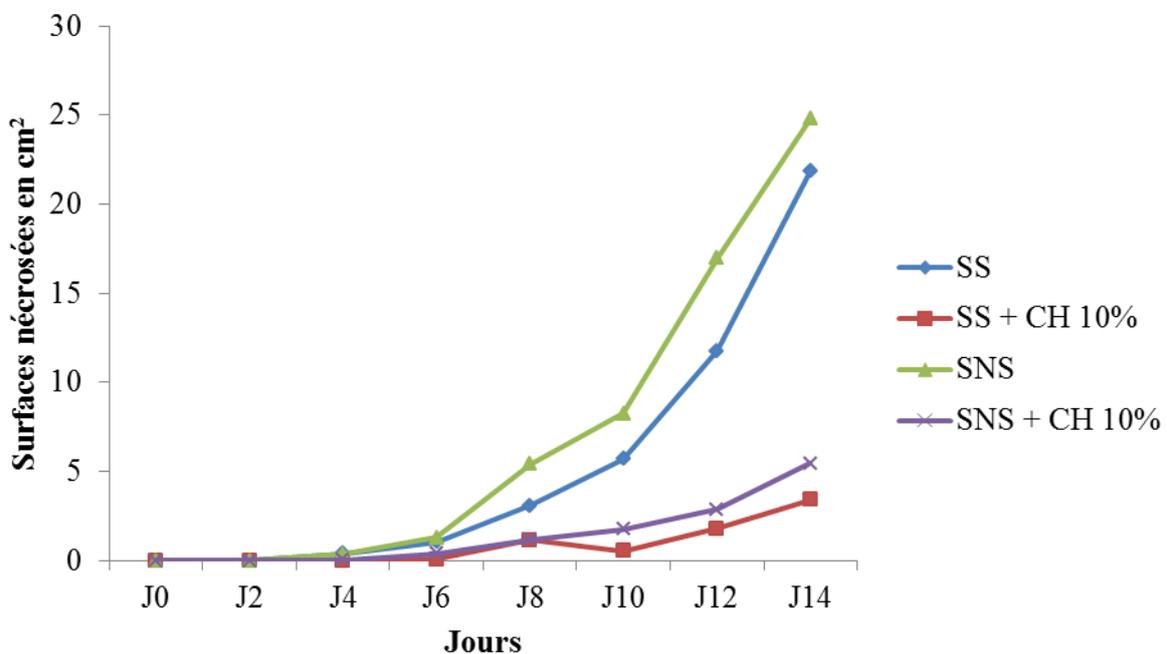
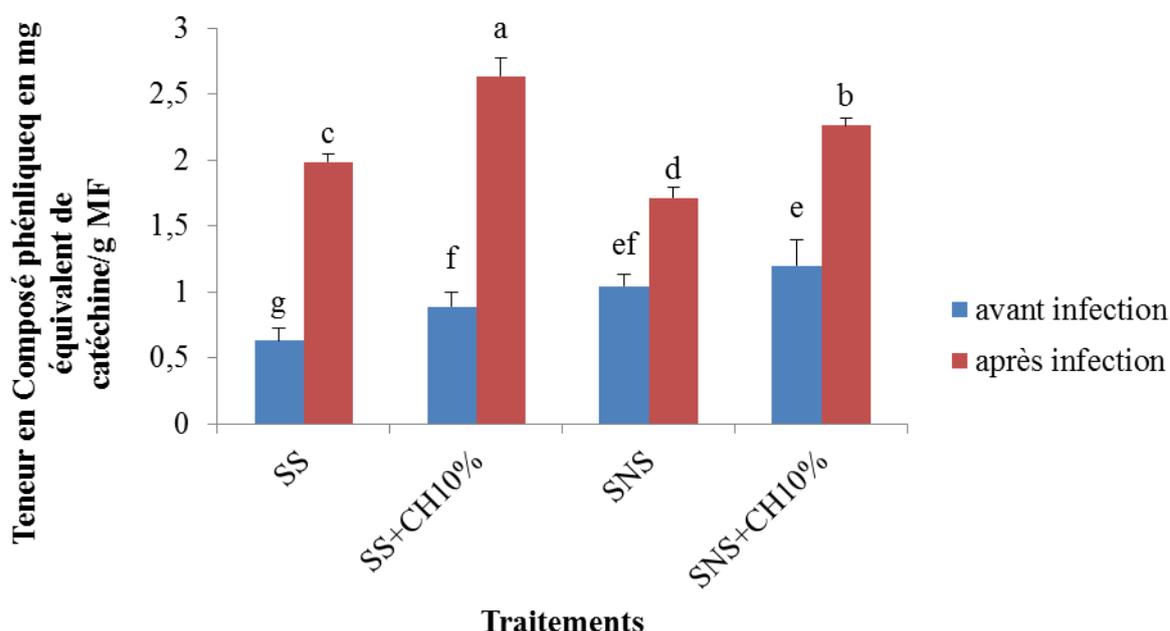


Figure 23 : Evolution de la sévérité de la cercosporiose noire en fonction des différents traitements au cours du temps. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d'huître.

### III.1.4. Variation de la teneur en composés phénoliques totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux sont significativement ( $P \leq 0,05$ ) plus élevées dans les feuilles de plantules PIF issues des substrats amendés en coquilles d'huître après infection (Figure 24). Avant infection, la teneur en composés phénoliques des feuilles des plants non infectés ne présentent pas de différence significative chez le bloc non stérile, tandis qu'elles en présentent dans le bloc stérile. Après infection, il existe une différence significative entre les individus quel que soit le bloc considéré. En effet, avant infection, la teneur en composés phénoliques moyenne est de 1,05 mgEqCat/gMF pour les feuilles de

plantules traitées (SS+CH et SNS+CH) contre 0,84 mgEqCat/gMF pour les feuilles des plantules non traitées (SS et SNS). Après infection, les feuilles des plantules traitées ont une teneur en composés phénoliques moyenne de 2,45 mgEqCat/gMF contre 1,85 mgEqCat/gMF pour les feuilles de plantules non traitées. L'infection des feuilles par *M. fijiensis* s'est accompagnée d'une augmentation de la teneur en composés phénoliques dans tous les traitements. Cependant, les teneurs en composés phénoliques sont plus importantes pour le traitement SS+CH. La présence des coquilles d'huître améliore donc la synthèse des composés phénoliques des explants.



**Figure 24 : Variation de la teneur en composés phénoliques totaux en fonction des différents traitements avant et après infection. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d'huître. \*a>b>c>d>e>f>g**

### III.1.5. Variation de la teneur en protéines totales

Les feuilles des plantules PIF traitées aux coquilles présentent une synthèse accrue de protéines totales significativement plus élevée avant infection contrairement aux feuilles de plantules PIF non traitées. Après infection, la teneur en protéines totales est plus importante dans tous les traitements, mais il n'existe pas de différence significative entre ces traitements (Figure 25). En effet, la teneur moyenne en protéines totales avant infection est de 2,90 mg EqBSA/gMF dans les feuilles de plantules PIF traitées (SS+CH et SNS+CH) comparée à 1,13 mg EqBSA/gMF dans les feuilles des plantules PIF non traitées. Les teneurs moyennes en

protéines totales après infection sont de 7,20 mg EqBSA/gMF pour les feuilles de plantules PIF traitées et de 6,33 mg EqBSA/gMF, pour les feuilles des plantules PIF non traitées.

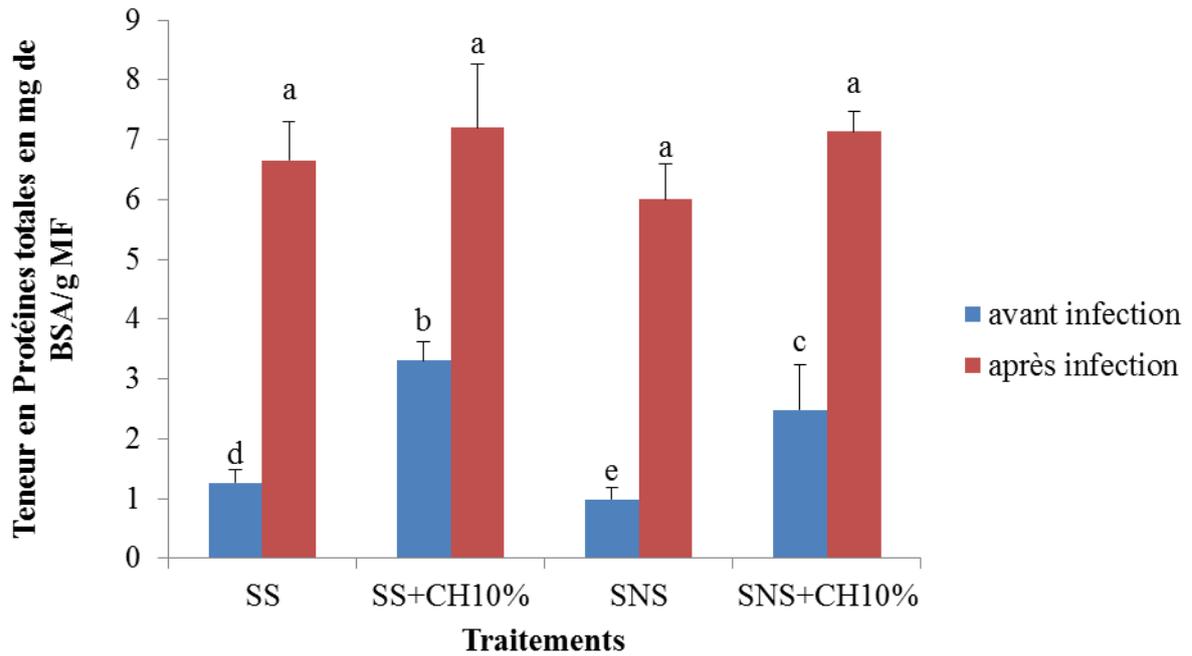


Figure 25 : Variation de la teneur en protéines totales en fonction des différents traitements avant et après infection. SS : substrat stérilisé, SNS : substrat non stérilisé, CH : coquilles d’huître. \*a>b>c>d>e.

### III.2. Discussion

L'amendement du substrat de production des semences PIF *var.* Bâtard en poudre de coquilles d'huître influence la croissance des plants et leur résistance vis-à-vis du champignon *M. fijiensis*.

L'amendement du substrat de production avec 10% de poudre de coquilles d'huître augmente de 33 à 67 %, le taux de germination des explants. Au bout de 21 JAS les plantules ayant reçu l'amendement en coquilles ont un taux de germination de 100% contre 67% enregistré à la même date pour les explants témoins. Ce résultat est en adéquation avec celui de Ndongo (2015) qui a montré que des plants de bananier-plantain (Variété Big Ebanga) traités avec un amendement de 10% de coquille d'huître, présentaient un taux de germination de l'ordre de 75 à 100% au bout de 21 JAS. Defang *et al.* (2012) ont également montré que l'enrobage des graines de soja avec une concentration 2% de chitosane dérivé de la chitine augmente le taux de germination de l'ordre de 90%. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que les coquilles d'huître riches en chitine (6 à 40 %) présentent d'excellentes propriétés physico-chimiques notamment la capacité à former un film semi-perméable à la surface du bulbe, ce qui maintiendrait son humidité par absorption de l'eau du substrat. Ce mécanisme concourt ainsi à l'accélération de la germination (Defang *et al.* 2012).

L'amendement du substrat de culture (pot de terre + sable) en poudre de coquilles 10% améliore également les paramètres agro-morphologiques des plantules PIF. En effet, la poudre de coquilles d'huître augmente en moyenne de 12% la croissance en diamètre; de 27% la croissance en hauteur des pseudo-tiges des plantules PIF de bananier plantain respectivement dans les conditions contrôlées et non contrôlées et de 41% leur surface foliaire. L'effet de l'amendement en coquilles sur la croissance des plantules PIF de bananier plantain obtenu de ce travail est similaire à celui obtenu des travaux de Ndongo (2015), qui ont montré que la poudre de coquilles d'huître augmente en moyenne de 17% la croissance en diamètre et de 16% la croissance en hauteur des pseudo-tiges des plantules de bananier-plantain ainsi qu'une augmentation moyenne de 27%, de leur surface foliaire. De même, les travaux de Mondal *et al.* (2012) ont montré que l'application du chitosane comme engrais foliaire, avait un effet promoteur sur la croissance des feuilles chez le gombo. Cette capacité à promouvoir la croissance serait due à la nature polysaccharidique de la chitine qui stimulerait les enzymes clés du métabolisme de l'azote (Nitrate réductase, protéase et glutamine synthétase) ainsi que l'amélioration du transport de l'azote dans les feuilles (Mondal *et al.* 2012). De plus, la teneur

élevée en calcium dans la composition minéralogique des coquilles leur permet d'améliorer le pH du sol tout en rendant le milieu favorable au développement des microorganismes chitinolytiques pour leurs activités sur la dégradation de la matière organique et la libération de beaucoup d'autres minéraux essentiels à la nutrition des plantes (Anonyme 2014b).

Les tests de pathogénicité effectués sur les feuilles des plantules PIF traitées présentent des valeurs de surfaces nécrosées significativement supérieures comparé aux témoins. La présence des coquilles d'huître dans le substrat de production a considérablement réduit la sensibilité à la cercosporiose noire avec des niveaux de protection très élevés. Ces faibles surfaces de nécrose reflètent une résistance induite des plantules traitées vis-à-vis de *M. fijiensis*. Ces résultats rejoignent ceux de Ndongo (2015), qui ont montré que les tests de pathogénicité sur les feuilles des plantules de bananier-plantain (Variété Big Ebanga) présentent des valeurs de sévérité de la cercosporiose noire sur les feuilles de plantules traitées significativement inférieures à celles des feuilles de plantules témoins. La chitine est toxique et inhibe la croissance et le développement des champignons, des bactéries, des virus et plusieurs autres phytopathogènes (El Hadrami *et al.* 2010). Ceci met en exergue les propriétés de la chitine comme agent antimicrobiens et protecteurs des plantes contre les bio-agresseurs. Elle exerce un contrôle sur la prolifération des mycètes (El Ghaouth *et al.* 1994) et des champignons supérieurs soit par l'arrêt de la croissance du pathogène ou par l'induction du contrôle des modifications morphologiques, des altérations structurales et des désorganisations moléculaires des cellules fongiques. La chitine stimule également le système de défense de la plante. En effet, son entrée dans la paroi cellulaire, entraîne une modification de la perméabilité membranaire jouant ainsi un rôle important dans la transduction de signaux au noyau et entraînant la synthèse accrue d'une gamme de molécules de défense tels que les inhibiteurs de protéases et kinases, les protéines PR (*pathogenesis related proteins*), les composés phénoliques (Stratmann *et al.* 2000).

Le phénomène de résistance induite a été confirmé par l'augmentation significative de la teneur en composés phénoliques totaux et en protéines totales après le dosage des plantules PIF de bananier plantain traitées à la poudre de coquilles d'huître 10% après infection par *M. fijiensis*. De même les travaux d'El Hassani *et al.* (2005) rapportent que le traitement du dattier avec le chitosane contre *Fusarium oxysporum* agent responsable de la maladie de Bayoud augmente la teneur en composés phénoliques.

Les composés phénoliques interviennent dans la majorité des mécanismes physiologiques de la plante tels que la croissance, la reproduction, la pigmentation, la rhizogenèse et la résistance aux pathogènes (Lattanzio *et al.* 2006). En effet, les interactions entre les plantes et les agents pathogènes conduisent habituellement à la mise en place par l'hôte de différents mécanismes de défense. Des exemples de ces mécanismes sont le renforcement de la paroi cellulaire par la subérine, la lignine et les composés phénoliques pariétaux, ainsi que la synthèse accrue de protéines PR et la production de phytoalexines. Un autre exemple de l'intervention des polyphénols dans les mécanismes de défense est leur action dans la mort programmée des cellules de certaines parties de la plante. La vitesse avec laquelle se déroule la mort programmée des cellules dépend de l'existence ou non d'une compatibilité entre l'hôte et le pathogène. Ces métabolites secondaires sont toxiques pour l'agent pathogène dont ils inhibent la croissance en cas d'une incompatibilité. En cas d'une compatibilité, les métabolites extracellulaires sécrétés par le pathogène virulent dégradent la paroi végétale, les polysaccharides et les métabolites phénoliques (Claydon *et al.* 1980) et ce dernier finit par s'installer et crée la maladie chez l'hôte susceptible.

## **CHAPITRE IV : IMPLICATIONS DIDACTIQUES**

La didactique et la pédagogie sont deux disciplines essentielles et constitutives de l'éducation. La didactique est une science humaine qui a pour objet les méthodes d'enseignement et d'apprentissage. Elle élabore les principes théoriques concernant le contenu, la méthode et l'organisation de l'enseignement, ainsi que leur évolution dans le temps.

La didactique d'une discipline étudie les différents processus de transmission des savoirs relatifs à la discipline considérée et leur acquisition par les élèves.

La pédagogie quant à elle, est une théorie de l'enseignement, qui s'est imposée à partir du XIX<sup>e</sup> siècle et s'interroge aujourd'hui sur les conditions de réception du savoir, sur le contenu et l'évaluation de celui-ci, sur le rôle de l'éducateur et de l'élève dans le processus éducatif et plus globalement sur les finalités de cet apprentissage, indissociable d'une norme sociale et culturelle.

Dans le cadre des Sciences de la Vie et de la Terre (SVT), le contenu des programmes élaborés par le Ministère des Enseignements Secondaires évolue vers une structure intégrée favorable à une orientation explicative, expérimentale des enseignements et surtout vers une Approche par Compétence (APC). Ces enseignements de SVT considérés comme activités d'éveil, d'éducation et de formation, portent sur des activités d'observations et d'expérimentation pouvant aider l'élève à manipuler les micros kits, se familiariser avec les instruments de la nouvelle technologie et de s'arrimer à la nouvelle donne, le rendant ainsi compétent dans des domaines précis de la vie quotidienne.

Grâce à la méthode DIPHTERIC (Données initiales, Problème scientifique, Hypothèse, Test d'hypothèse, Expérimentation, Résultats, Interprétation, Conclusion), nous pourrions à l'aide des travaux réalisés dans notre mémoire, dispenser la séance 2 du module I de la classe de 6<sup>ème</sup> portant sur : «Multiplication végétative des plantes» conformément au Livre programme. Nous devons pour y parvenir, réaliser une fiche pédagogique de la leçon à dispenser, un outil primordial de l'enseignant en salle de classe.

## FICHE PEDAGOGIQUE DE PREPARATION D'UNE SEQUENCE ENSEIGNEMENT/APPRENTISSAGE

<b>ETABLISSEMENT</b> : Lycées et collèges	<b>NOM (S) ET PRENOM (S) DE LA STAGIAIRE</b> : NGOULA MEGUASSU Katy Laure
<b>Module I</b> : Le monde vivant	<b>Date</b> :
<b>Familles de situations</b> : Couverture des besoins de l'homme en ressources animales et végétales	<b>Classe</b> : 6 <sup>ème</sup>
<b>Exemple de situation</b> : Insuffisance des ressources comestibles	<b>Effectif</b> : Garçons : Filles :
<b>Palier de compétence</b> : Pratiquer l'agriculture	<b>Durée</b> : 50minutes
<b>Catégorie d'actions</b> : Amélioration de la production animale et végétale	<b>Période</b> : 10h30-11h20
<b>Séquence 2</b> : Nécessité de la reproduction pour la production végétale	
<b>Séance n° 2</b> : Multiplication végétative des plantes	
<b>OPO</b> : A l'issue de cette leçon, l'élève de la classe de 6 <sup>ème</sup> doit être capable de citer et décrire les différentes méthodes de multiplication végétative	

Etapas	Objectifs Pédagogiques Opérationnels Intermédiaires (O.P.O.I.)	Contenus spécifiques aux O.P.O.I	Matériels / supports didactiques	Activités d'enseignement /apprentissage	Evaluation	Durée
INTRODUCTION	1- Etablir le contrat professeur-élève (compétence)	<b>Titre</b> : La multiplication végétative des plantes  <b>OPOI</b> : <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Définir reproduction asexuée</li> <li>➤ Citer les types de reproduction asexuée</li> </ul>	-Programme - Projet pédagogique	<b>Enseignant</b> : Ecrit le titre de la leçon, l'OPO et l'OPOI au tableau.  <b>Apprenants</b> recopient le titre de la leçon l'OPO et l'OPOI dans leurs cahiers		15 min
	2- Vérifier les prérequis	-Définir reproduction -Citer les organes reproducteurs de la plante à fleur	Vécu quotidien	<b>Questions</b> : -Définir reproduction -Citer les organes reproducteurs de la plante  <b>Réponse</b> : <b>-La reproduction</b> est un processus physiologique par lequel les individus se multiplient  -les organes reproducteurs des plantes à fleurs sont : les étamines et les gynécées		

3-Déterminer l'intérêt de la leçon	Savoir choisir le mode de multiplication végétative à adopter en fonction des besoins	Cours et apprentissages antérieurs	<p><b>Pose la question suivante :</b> Quel est l'intérêt de la leçon ?</p> <p><b>Répondent à la question posée :</b> l'intérêt de la leçon est savoir choisir le mode de multiplication végétative à adopter en fonction des besoins</p>													
4- Identifier le problème à résoudre Identifier les causes Proposer des actions à mener	<p align="center"><b><u>Situation problème contextualisée</u></b></p> <p>Deux groupes d'élèves de la classe de 6<sup>ème</sup> décident cultiver quelques ressources comestibles courantes à savoir le maïs, la banane, le macabo et les arachides.</p> <table border="1" data-bbox="315 810 1037 1377"> <thead> <tr> <th></th> <th>Groupe A</th> <th>Groupe B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>Semences utilisées</b></td> <td>Graines</td> <td>Boutures (fragments de la plante)</td> </tr> <tr> <td><b>Période de culture</b></td> <td>Saison de pluie</td> <td>Saison des pluies</td> </tr> <tr> <td><b>Besoins</b></td> <td>Maïs : 12 sacs Arachide : 10 fruits Macabo : 6 sacs Banane : 10 régimes</td> <td>Maïs : 12 sacs Arachide : 10 sacs Macabo : 6 sacs Banane : 10 régimes</td> </tr> </tbody> </table>		Groupe A	Groupe B	<b>Semences utilisées</b>	Graines	Boutures (fragments de la plante)	<b>Période de culture</b>	Saison de pluie	Saison des pluies	<b>Besoins</b>	Maïs : 12 sacs Arachide : 10 fruits Macabo : 6 sacs Banane : 10 régimes	Maïs : 12 sacs Arachide : 10 sacs Macabo : 6 sacs Banane : 10 régimes	Situation de vie contextualisée	<p><b>Pose les questions suivantes:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Quel est le problème posé dans le texte ?</li> <li>-Quelles en sont les causes ?</li> <li>-Quelles sont les actions à mener pour résoudre ce problème ?</li> </ul> <p><b>Répondent aux questions posées :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-<b>Le problème :</b> pas de récolte de macabo et de banane dans le groupe A et pas de récolte de maïs et d'arachide dans le groupe B</li> <li>-<b>Les causes :</b> mauvais choix des semences pour chacun</li> </ul>	
	Groupe A	Groupe B														
<b>Semences utilisées</b>	Graines	Boutures (fragments de la plante)														
<b>Période de culture</b>	Saison de pluie	Saison des pluies														
<b>Besoins</b>	Maïs : 12 sacs Arachide : 10 fruits Macabo : 6 sacs Banane : 10 régimes	Maïs : 12 sacs Arachide : 10 sacs Macabo : 6 sacs Banane : 10 régimes														

		<table border="1"> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>Récolte</b></td> <td>Maïs : 22sacs Arachide: 10 sacs Macabo : 0 sacs Banane : 0 régimes</td> <td>Maïs : 0 sacs Arachide : 0 sac Macabo : 8 sacs Banane : 15 régimes</td> </tr> </table> <p><b>Compétences :</b> à partir des ressources qui lui seront données à la fin de cette séance, l'élève doit être capable de pratiquer l'agriculture en choisissant les bonnes semences à multiplier.</p> <p>Les plantes se reproduisent de deux façons différentes : par reproduction sexuée et par reproduction asexuée.</p> <p>Comment se fait la reproduction asexuée des plantes ?</p>				<b>Récolte</b>	Maïs : 22sacs Arachide: 10 sacs Macabo : 0 sacs Banane : 0 régimes	Maïs : 0 sacs Arachide : 0 sac Macabo : 8 sacs Banane : 15 régimes	des deux groupes. - <b>Actions à mener pour résoudre le problème:</b>		
<b>Récolte</b>	Maïs : 22sacs Arachide: 10 sacs Macabo : 0 sacs Banane : 0 régimes	Maïs : 0 sacs Arachide : 0 sac Macabo : 8 sacs Banane : 15 régimes									
<b>DEVELOPPEMENT</b>	Définir reproduction asexuée	<p><b>I. La reproduction asexuée ou végétative des plantes</b></p> <p>On appelle <b>reproduction asexuée</b>, la multiplication des plantes à partir d'un organe végétatif (tige, racines, bulbe, bourgeon...). Cette multiplication peut être <b>naturelle</b> ou <b>artificielle</b>. Les plantes obtenues sont identiques entre elle et à la plante mère.</p>	Vécu quotidien	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Choisir les bonnes semences</li> <li>• Connaître le mode de reproduction de chaque plante</li> </ul>	Qu'appelle t'on reproduction asexuée ?	5 min					

	Citer les types de reproduction asexuée	<p><b>II. Les types de multiplications végétatives</b></p> <p><b>II.1. La multiplication végétative naturelle</b></p> <p>C'est celle qui s'effectue par la plante elle-même sans intervention de l'homme, à partir de divers organes de l'appareil végétatif de la plante mère telles que : les tiges, les racines, les bulbes...</p> <p><b>Exemple :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Les rejets de bananiers ;</li> <li>➤ Les tiges des cannes à sucre ;</li> <li>➤ Les tubercules de pommes de terre.</li> </ul> <p><b>II.2. La multiplication végétative artificielle</b></p> <p>La multiplication végétative artificielle est celle qui est appliquée par l'homme en agriculture. Ses techniques sont diverses et permettent de faciliter et accélérer la reproduction des plantes. Parmi ces techniques nous avons :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>Le bouturage</b> : consiste à prélever un fragment de tige ou de tubercule (bouture) sur une plante (plante mère) et de la mettre dans le sol.</li> </ul> <p><b>Exemple :</b> manioc, macabo.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>Le marcottage</b> : consiste à recourber et enterrer une des branches de la plante. Les racines se forment au niveau de la partie enterrée et permet le</li> </ul>	Exploitation du document 1 de la planche	<p><b>Question :</b></p> <p>-Comment se fait la multiplication de la pomme de terre ?</p> <p><b>Réponse:</b> elle se fait par bourgeonnement</p> <p><b>Question :</b></p> <p>-Quelle est la différence entre les multiplications végétatives naturelle et artificielle ?</p> <p><b>Réponse:</b></p> <p>-Contrairement à la multiplication végétative artificielle, la multiplication végétative naturelle se fait sans intervention de l'homme</p>	Définir multiplication végétative naturelle et donner quelques exemples	35 min
			Exploitation du document 2 de la planche		Définir multiplication végétative artificielle et citer quelques exemples	
			Exploitation du document 3a de la			

développement d'une plante fille identique à la plante mère.

➤ **Le greffage** : consiste à prélever sur une plante un fragment d'appareil végétatif (greffon), que l'on fixe sur une autre plante (porte greffon) généralement de la même espèce.

**NB** : cette technique est principalement utilisée sur les arbres fruitiers pour obtenir de meilleures variétés de fruits.

**NB** : parmi ces méthodes artificielles, une nouvelle méthode de multiplication des plants a été mise sur pied. C'est la **technique PIF** (Plants Issus de Fragments de tiges). Elle permet d'obtenir à partir d'un seul plant 20 à 80 plants fils sains et en peu de temps.

planche  
Exploitation  
du document  
3b de la  
planche

**Activité :**  
Observer les planches et  
décrire la technique utilisée  
pour la multiplication des  
plantes choisies.

La reproduction asexuée permet d'obtenir des plantes à partir des organes non reproducteurs d'une plante mère. Grâce à elle, l'homme peut sélectionner des plantes possédant de bonnes caractéristiques pour les multiplier.

**Devoir :** dans un tableau à double entrée, faire une liste de 10 plantes à usage comestible que vous connaissez et préciser leur mode de reproduction.

**Jeux bilingue**

Donner la signification des mots et expressions suivantes en anglais :

- reproduction
- multiplication végétative
- greffage

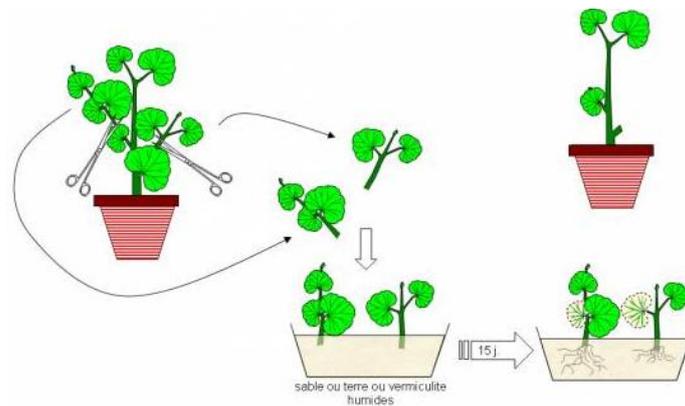
-Définir reproduction asexuée ;  
-Citer les types de reproduction asexuée ;

5  
min

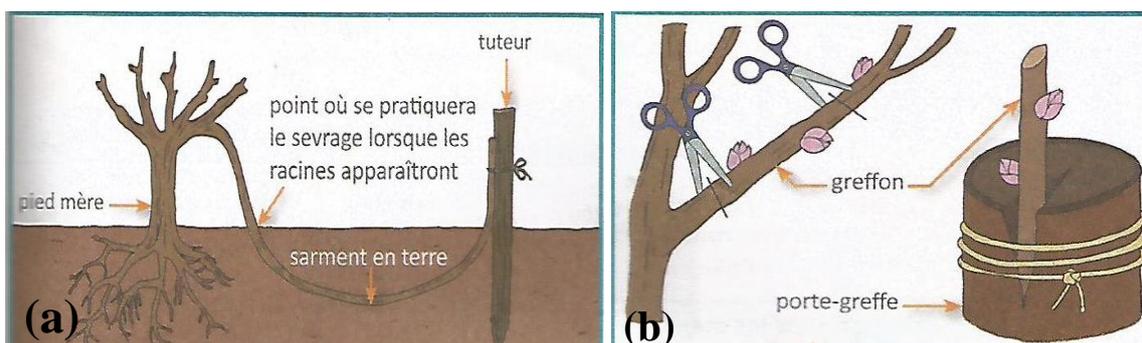
## PLANCHES DE LA LECON



Document 1 : Multiplication végétative naturelle (cas du bananier). Rejets de bananier (a) et bananier (b)



Document 2 : Technique de bouturage (cas du géranium)



Document 3 : Techniques de marcottage (a) et de greffage (b)

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Notre étude avait pour but d'évaluer l'effet de l'amendement en coquilles d'huître sur la croissance des semences PIF de bananiers plantains et leur résistance à la cercosporiose noire. L'effet de l'amendement en coquilles d'huître sur la croissance des plants a été évalué. Il en ressort que l'amendement du substrat de production avec 10% de poudre de coquilles d'huître:

- augmente la vitesse de germination des explants de 33 à 67 % ;
- augmente le nombre cumulé de plantules émises de 40% à 55% respectivement en condition contrôlée (SS) et paysanne (SNS) ;
- augmente la vitesse de croissance en hauteur des plantules de 27 % et la croissance en diamètre des pseudo-tiges de 12%, respectivement en condition contrôlée (SS) et paysanne (SNS) et la surface foliaire de 41%;
- augmente considérablement la teneur en protéines totales et en composés phénoliques dans les feuilles de plantules saines.

L'effet de l'amendement en coquilles d'huître sur la résistance des plants à la cercosporiose noire a été évalué. Il en ressort que :

- la surface de nécrose est nettement moins importante pour les feuilles de plants traités;
- la concentration en composés phénoliques totaux augmente considérablement à la suite de l'infection chez les plantules traitées;
- la teneur en protéines totales dans les feuilles des plantules traités augmente à la suite de l'infection ;

Ce travail est le premier qui relève l'effet des coquilles d'huître sur la croissance des semences PIF de bananier plantain *var.* Bâtard et leur résistance à la cercosporiose noire.

Les propriétés antifongiques, stimulatrices de croissance et des systèmes de défenses naturelles des coquilles d'huître mises en évidence dans ce mémoire, pourraient être exploitées dans l'industrie de production des semences PIF de bananier plantain au Cameroun afin d'accroître la disponibilité de semences de qualité et plus tard la productivité des bananiers plantains.

Il serait intéressant d'envisager:

- une étude sur de l'effet des coquilles d'huître associé à d'autres bio-fongicides sur la croissance et la résistance à la cercosporiose noire ;
- une étude comparée de l'effet des amendements aux coquilles d'huître à gradient de concentration sur la croissance et la résistance à la cercosporiose noire des semences de bananier plantain ;
- une étude pour les formulations de composts à base des coquilles d'huître.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alfano J.R., Collmer A. (2004)** Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defense. *Annual Reviews Mobile*. 42:385-414.
- Anonyme (2002)** Création et conduite d'une bananeraie au Cameroun : Le cas du bananier plantain. Fiche Technique (CARBAP). 15p.
- Anonyme. (2002)** Networking banana and plantain: INIBAP (International Network for the Improvement of Banana and Plantain). Networking banana and plantain: Annual Report 2001. Montpellier, France: INIBAP.
- Anonyme. (2014a)** FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations).
- Anonyme. (2014b)** Spécial sous-produits coquilliers valorisation en amendement calcique agricoles. *Journal de bord nfm Hors-série n°4*. 8p.
- Bakry F., Carreel F., Caruana M-L., Côte, Jenny C., du Montecel H.T. (1997)** Les bananiers. In: *L'amélioration des plantes tropicales*. Montpellier, France: CIRAD/ORSTOM, 109-139.
- Bradford M. M. (1976)** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein dye binding. *Analytical Chemistry* 72: 248-254.
- Champion J. (1963)** Le bananier. Editions G.P Maisonneuve et Larousse. Paris. 262p.
- Claydon N., El gersma D.M., grove J.F. (1980)** The phytotoxicity of some phenolic motabolic products of ophiostoma ulmi to ulmus sp. *Netherlands Journal of Plants Pathology*. 229-237.
- Defang Z., Xinrong L., Renjie T. (2012)** Application of Bioactive Coatings Based on Chitosan for Soybean Seed Protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*. 6p.
- Desbrières J. (2002)** Chitine et chitosane. Utilisation direct. *L'actualité chimique*.6p.
- Dicko H.M, Gruppen H., Traoré A.S., Voragen A.G.J., Van Berkel W.J.H., (2006)** Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use .*Biotechnology and Molecular Biology Review*. 1:21-38
- El Ghaouth A., Arul J., Grenier J., Benhamou N., Asselin A., Bélanger R. (1994)** Effect of Chitosan on Cucumber Plants: Suppression of *Pythium aphanidermatum* and Induction of Defense Reactions. *Phytopathology*. 83: 313-320.

- El Hadrami I., Ramos T., EL Ballaj M., EL Idrissi-Tourane A., and Macheix J.J. (1997)** A sinapic derivative as induced defense compound of date palm against *Fusarium oxysporium* f.sp. *abledinis*, the agent causing bayoud disease. *Journal of Phytopathology*. 145: 329-333.
- El Hassni M., El Hadrami A., El Idrissi A. (2005)** Toxin based in vitro selection and its potential application to date palm for resistance to the bayout *Fusarium* wild. *Comptes rendus biologie*. 328 (8): 732-744.
- Ewané C.A., Lepoivre P., de Lapeyre de Bellaire L., Lassois L. (2012)** Involvement of phenolic compounds in the susceptibility of bananas to crown rot. A review. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 16(3): 393-404.
- Ewané C.A., Lassois L., Brostaux Y., Lepoivre P., de Lapeyre de Bellaire L. (2013a)** The susceptibility of bananas to crown rot disease is influenced by geographic and temporal effects. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 35(1): 27-36.
- Ewané C.A., Chillet M., Castelan F., Brostaux Y., Lassois L., EssohNgando J., Hubert O., Chilin-Charles Y., Lepoivre P., de Lapeyre de Bellaire L., (2013b)** Impact of the extension of black leaf streak disease on banana susceptibility to post-harvest diseases. *Fruits* 68(5): 351-365.
- Fouré E., (1982)** Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Etude de la sensibilité variétale des bananiers et plantains à *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Gabon (maladie des raies noires). 1. Incubation et évolution de la maladie. *Fruits*. 37 : 749-771.
- Fouré E., Lescot T., (1988)** Variabilité génétique des *Mycosphaerella* inféodés au genre *Musa*. Mise en évidence de la présence au Cameroun sur bananier et plantain d'une cercosporiose (*Mycosphaerella musicola*) au comportement pathogène atypique, *Fruits*. 43 : 407–415.
- Gold C. (2000)** Parasites et ravageurs des *Musa* réseau international pour l'amélioration de la banane et de la banane plantain, Parc scientifique. Agropolis II, Montpellier –France.
- Gomez-Gomez L., Boller T. (2002)** Flagellin perception: a paradigm for innate immunity. *Trends Plant Science*. 6(6):251-256.
- Ghosal T.K., Dutta S., Senapati S.K., Dep D.C. (2004)** Role of phenol contents in legume seeds and its effect on the biology of *Collosbrchus chinensis*. *Annual plant protection science*. 12. 442-444.

- Henderson J., Pattemore J.A., Porchun S.C., Van Brunshot S., Grice K.R.E., Peterson R.A., Drenth A. (2006)** Sigatoka Leaf Spot Disease on Banana. Laboratory Diagnostics Manual. Plant health Australia. 61p
- Hirano S., (1996)** Chitin biotechnology application. Biotechnology Annual Review. 2: 237-258.
- Kawano T. (2003)** Roles of the reactive oxygen species-generating peroxydase reactions in plant defense and in growth induction. Plant Cell Report. 21: 829-837
- Lattanzio V., Lattanzio V.M.T., Cardinali A. (2006)** Role of polyphenols in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insect. In: Imperato F., ed. Phytochemistry: advances in research. Trivandrum, Kerala, India : Research Signpost. 23-67.
- Lassoudière A. (2007)** Le bananier et sa culture. Versailles, France : Éditions Quæ. 383.
- Lescot T. (2000)** Importance des bananes plantain et à cuire en Afrique : Débouchés pour les zones subtropicales. Info musa. 9(1):25-28.
- Marciel C.Z. (1998)** Black sigatoka confirmed in brazil. In : Info musa. The international magazine on banana and plantain. 7(1):31.
- Marido G., Godal P. (1973)** Etude comparative du contenu phénolique du genre quercus et de ses zoocécidies. European Journal of Forest Pathology. 3: 181-186
- Mindzie C.M., Doutrelepon H., Vrydaghs L., Swennen R.L., Swennen R.J., Beeckman H., de Lanhe E., de Maret P. (2001)** First archaeological evidence of banana cultivation in central Africa during the third millenium before present. Vegetation History and Archaeobotany. 10: 1-6.
- Meutchieye F. (2009)** Fiche Technique de multiplication des bananiers par la méthode de PIF. Manuel de formation pour les communautés rurales. 15p
- Mondal M.M.A., Malek M.A., Puteh A.B., Ismail M.R., Ashrafuzzaman M., Naher L. (2012)** Effect of foliar application of chitosan on growth and yield in okra. Australian Journal of Crop Science. 5 : 918-921
- Ndongo E.F. (2015)** Effet des coquilles d’huître (*Crassostreaspp*) sur la croissance et la résistance des plants de bananier- plantain en méthode PIF vis-à-vis de *Mycosphaerella fijiensis*, agent responsable de la cercosporiose noire. Mémoire d’agronomie, Faculté d’Agronomie et des Sciences Agricoles (FASA), Cameroun. 96p.
- Ngo-Sammick L. (2011)** Production améliorée du bananier plantain. Collection pro-agro. 24p

- Onautshu O.D. (2013)** Caractérisation des populations de *Mycosphaerella fijiensis* et épidémiologie de la cercosporiose noire du bananier (*Musa* spp.) dans la région de Kisangani. Thèse de doctorat ès science. UCL, Congo. 309p.
- Peniston Q.P., Johnson E.L. (1980)** Process for the manufacture of chitosan. US patent. (4): 175-195.
- Pirovani P.C., Heliana A.S.C., Regina C. R., Dayane S.G., Fatima C.A., Fabienne M. (2008)** Protein extraction for proteome analysis from cacao leaves and meristems organs infected by *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent for the witches broom diseases. Electrophoresis journal. 29 : 2391-2401.
- Ruellet T. (2004)** Infestation des coquilles d'huîtres *Crassostrea gigas* par les polydores en Basse-Normandie : recommandations et mise au point d'un traitement pour réduire cette nuisance. Thèse de Doctorat ès science. Université de Caen, Basse-Normandie. 147-154.
- Simmonds N. (1962)** The evolution of the bananas. New York, USA: John Willey & Sons Inc. 170p
- Stratmann J.W., Scheerj., Ryan C.A. (2000)** Suramin inhibits initiation of defense signaling by systemin, chitosan, and a  $\beta$ -glucan elicitor in suspension-cultured *Lycopersicon peruvianum* cells. Colloquium. 97. 8862-8867.
- Swennen R., Vuylsteke D., (2001)** Banana (*Musa* L). Agriculture en Afrique tropicale, Directorate General for International Co-operation. 530-552.
- Téné T.P.M. (2013)** Effet du chitosane et des coquilles d'huîtres sur la croissance des plants de cacaoyers et la résistance vis-à-vis de phytophthora megakaria agent responsable de la pourriture brune des cabosses de cacao. Mémoire de master, Université de Yaoundé I. 89p.
- Wilson G.F. (1987)** Status of bananas and plantains in West Africa. Pp. 29-35 in Banana and plantain breeding strategies (G.J. Persley & E.A. De Langhe, eds). Proceedings of an International Workshop, 13-17 octobre 1986, Cairns, Australie. ACIAR Proceedings. No.2.

## ANNEXE

### Annexe I : Préparation du milieu de culture

#### *Milieu V8 modifié V=1000ml*

Mesurer 100 ml de jus de légume V8 et l'introduire dans un Erlenmeyer ;

Ajouter 0,2 g de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) ;

Ajouter 15 g d'Agar ;

Ajouter 40 g de pénicilline et 60 g de streptomycine (antibiotiques) ;

Ajuster le pH à 6 ;

Compléter le mélange à 1000 ml avec de l'eau distillée et homogénéiser à l'aide d'un agitateur magnétique. Stériliser le milieu ainsi préparé à l'autoclave ;

Stériliser le milieu ainsi préparé à l'autoclave ;

Couler le milieu PDA stérilisé sous Hôte à flux laminaire dans les boîtes de pétri, laisser refroidir puis sceller les boîtes et les conserver à -4 °C avant usage.

### Annexe II : Préparation des solutions

#### **Solution de BSA (*Bovin serumalbumin*)**

La solution de BSA a été préparée par dissolution de 2 mg de poudre de BSA dans 2 ml d'eau distillée. La solution ainsi obtenue était titrée à 1 mg/ml.

#### **Réactif de Bradford**

Le réactif de Bradford a été préparé en dissolvant 50 mg de Bleu de Coomassie dans 25 ml d'éthanol 95%. Après 30 min d'agitation, 50 ml d'acide orthophosphorique 85% a été ajouté au mélange suivit d'une agitation supplémentaire de 10 min. Le volume de la solution a été complété à 500 ml avec de l'eau distillée, puis filtré et conservé à 4 °C.

#### **Solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%**

Elle a été préparée par dissolution de 4 g de poudre de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans 20 ml d'eau distillée.

#### **Solution de catéchine 0,1 mg/ml**

Peser 1mg de catéchine et dissoudre dans 10 ml d'eau distillée.

#### **Solution de méthanol 80%, V= 100 ml**

Prélever 80 ml de méthanol pur et introduire dans 20 ml d'eau distillée.

**Tampon tris-maléate C=0,1M, pH=7,2, V=500ml**

- 6 g de tris base
- 6,7 g d'acide malique
- 277 mg de CaCl<sub>2</sub>
- 1 g de guaiacol.

**Annexe III : Résultats de germination des explants et des paramètres agromorphologiques****Nombre cumulé de plantules émises à intervalle de 7 jours par traitement**

Traitements	J14	J21	J28	J35	J42
SS	1 ± 0,8 <sup>g</sup>	2 ± 0,5 <sup>f</sup>	5 ± 0,3 <sup>e</sup>	6 ± 0,2 <sup>e</sup>	9 ± 0,1 <sup>d</sup>
SS+CH10%	4 ± 0,6 <sup>e</sup>	6 ± 0,2 <sup>e</sup>	9 ± 0,5 <sup>d</sup>	12 ± 0,6 <sup>b</sup>	15 ± 0,9 <sup>a</sup>
SNS	0 ± 0 <sup>g</sup>	2 ± 1 <sup>f</sup>	4 ± 1 <sup>e</sup>	5 ± 0,9 <sup>e</sup>	8 ± 0,6 <sup>d</sup>
SNS+CH10%	2 ± 0,6 <sup>f</sup>	5 ± 0,3 <sup>e</sup>	8 ± 0,2 <sup>d</sup>	10 ± 0,2 <sup>c</sup>	13 ± 0,6 <sup>b</sup>

Les moyennes dans la colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test LSD ( $p \leq 0,05$ ).

**Pourcentage de germination des explants non traités et traités aux coquilles d'huître au cours du temps.**

Traitements	J14	J21	J28	J35	J42
SS	33	67	100	100	100
SS+CH 10%	100	100	100	100	100
SNS	0	67	100	100	100
SNS+CH10 %	67	100	100	100	100

**Hauteurs moyennes des pseudo-tiges des plantules PIF amendés et non amendés en poudre de coquilles d’huître.**

Traitements	J0	J7	J14	J21
SS	7,7 ± 0,85 <sup>d</sup>	9,8 ± 0,85 <sup>d</sup>	10,5 ± 0,75 <sup>d</sup>	11,6 ± 0,8 <sup>c</sup>
SS + CH 10%	12,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	13,1 ± 0,5 <sup>b</sup>	13,7 ± 0,4 <sup>b</sup>	17,2 ± 0,0 <sup>a</sup>
SNS	10,1 ± 0,95 <sup>c</sup>	10,6 ± 0,8 <sup>d</sup>	11,3 ± 0,6 <sup>c</sup>	12,15 ± 0,9 <sup>c</sup>
SNS + CH 10%	12,8 ± 0,3 <sup>b</sup>	13,5 ± 0,45 <sup>b</sup>	14,2 ± 0,45 <sup>b</sup>	18,0 ± 0,0 <sup>a</sup>

Les moyennes dans la ligne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test LSD ( $P \leq 0,05$ ).

**Diamètres moyens des pseudo-tiges des plantules PIF amendés et non amendés en poudre de coquilles d’huître.**

Traitements	J0	J7	J14	J21
SS	10,1±0,35 <sup>d</sup>	10,5±0,45 <sup>c</sup>	10,9±0,6 <sup>c</sup>	11,6 ± 0,7 <sup>c</sup>
SS + CH 10%	11,1±0,1 <sup>bcd</sup>	11,7±0,15 <sup>bc</sup>	12,3±0,25 <sup>bc</sup>	13,2 ± 0,0 <sup>b</sup>
SNS	10,7±0,45 <sup>bcd</sup>	11,2±0,4 <sup>bc</sup>	11,8±0,25 <sup>bc</sup>	12,2 ± 0,4 <sup>bc</sup>
SNS + CH 10%	12,1±0,3 <sup>bc</sup>	12,8±0,35 <sup>b</sup>	13,5±0,5 <sup>b</sup>	14,9 ± 0,0 <sup>a</sup>

Les moyennes dans la ligne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test LSD ( $P \leq 0,05$ ).

**Surfaces foliaires moyennes des feuilles des plantules PIF amendés et non amendés en poudre de coquilles d’huître.**

Traitements	J0	J7	J14	J 21
SS	39,745 ± 6,7 <sup>h</sup>	48,855 ± 6,4 <sup>gh</sup>	63,52 ± 4,1b <sup>fg</sup>	74,635 ± 5,0 <sup>c</sup>
SS+CH10%	56,875 ± 4,9 <sup>g</sup>	77,105 ± 4,2 <sup>e</sup>	116,465 ± 10,6 <sup>c</sup>	151,47 ± 0,0 <sup>a</sup>
SNS	33,755 ± 1,7 <sup>i</sup>	47,03 ± 2,2 <sup>gh</sup>	58,195 ± 1,4 <sup>g</sup>	65,69 ± 1,3 <sup>f</sup>
SNS+CH10%	55,105 ± 2,4 <sup>g</sup>	69,725 ± 6,9 <sup>e</sup>	106,27 ± 3,9 <sup>d</sup>	130,73 ± 0,0 <sup>b</sup>

Les moyennes dans la ligne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test LSD ( $P \leq 0,05$ ).

#### Annexe IV : Résultats du test de pathogénicité

Valeurs des surfaces nécrosées en cm<sup>2</sup> de la maladie des raies noires après infection des feuilles en fonction des traitements

Traitements	J0	J2	J4	J6	J8	J10	J12	J14
SS	0	0	0,4	1,05	3,08	5,7	11,76	21,84
SS + CH 10%	0	0	0	0,06	1,15	0,54	1,8	3,4
SNS	0	0	0,36	1,28	5,4	8,25	16,96	24,8
SNS + CH 10%	0	0	0,03	0,4	1,17	1,76	2,85	5,46

#### Annexe V : Résultats des dosages biochimiques

##### a- Dosage des Composées Phénoliques

Valeurs de composées phénoliques en milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière fraîche (mg EqCat/gMF) avant et après infection des plantules traitées et non traitées aux coquilles d'huître.

Traitements	SS	SS+CH10%	SNS	SNS+CH10%
Avant infection	0,63 ± 0,09 <sup>g</sup>	0,89 ± 0,11 <sup>f</sup>	1,04 ± 0,09 <sup>ef</sup>	1,2 ± 0,2 <sup>e</sup>
Après infection	1,98 ± 0,06 <sup>c</sup>	2,64 ± 0,13 <sup>a</sup>	1,71 ± 0,08 <sup>d</sup>	2,26 ± 0,05 <sup>b</sup>

Les moyennes dans la ligne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test LSD ( $P \leq 0,05$ ).

##### b- Dosage des Protéines totales

Valeurs de protéines totales en milligramme équivalent de « Bovin Serum Albumin » par gramme de matière fraîche (mgBSA/gMF) avant et après infection des plantules traitées et non traitées aux coquilles d'huître.

Traitements	SS	SS+CH10%	SNS	SNS+CH10%
Avant infection	1,27 ± 0,21 <sup>d</sup>	3,31 ± 0,31 <sup>b</sup>	0,98 ± 0,21 <sup>e</sup>	2,48 ± 0,76 <sup>c</sup>
Après infection	6,65 ± 0,65 <sup>a</sup>	7,2 ± 1,07 <sup>a</sup>	6,01 ± 0,58 <sup>a</sup>	7,14 ± 0,34 <sup>a</sup>

Les moyennes dans la ligne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test LSD ( $P \leq 0,05$ ).

**Annexe VI : Quelques photos des travaux de stage**



**Photos :** Incision des explants (A) ; Germination en serre (B, C); Sevrage des plantules PIF (D); Mise en pot des plantules sevrés (E); croissance sous ombrière (F).