

# CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES DE *Phoma sabdariffae* SACC. ET *Trichosphaeria* sp., DEUX AGENTS PATHOGENES DE LA ROSELLE AU GABON

A. N. LEPENGUE<sup>1</sup>; C. ATTEKE<sup>1</sup>; I. MOUARAGADJA<sup>1</sup>; S. AKE<sup>2</sup> et B. M'BATCHI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM) ; Unité de Recherche Agrobiologie, Laboratoire de Phytopathologie, B.P. 901 ; Franceville, Gabon. E-mail : lepengue\_nicaise@yahoo.fr.

<sup>2</sup>Université de Cocody-Abidjan, Laboratoire de Physiologie Végétale, Agrophysiologie, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

## RESUME

La roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) est une plante maraîchère de la famille des Malvaceae cultivé au gabon et qui présente au moins 13 cultivars différents. Cette plante est victime d'une sévère pourriture causée par le couple fongique *Phoma sabdariffae* Sacc-*Trichosphaeria* sp., correspondant respectivement aux formes asexuée et sexuée d'un même agent pathogène. En vue de caractériser ces 2 champignons et en dégager les principales différences, une étude comparative a été menée sur les quadruples plans biomorphologiques, culturels, biochimiques et pathogéniques. Les résultats montrent qu'en plus des différences biomorphologiques, *Phoma sabdariffae* a présenté un plus grand taux de croissance sur le milieu nutritif PDA, et une meilleure accumulation de composés glucidiques et protéiques que *Trichosphaeria* sp. Ce champignon a été significativement plus agressif. En outre, une bande protéique supplémentaire de PM égal 18 kD a été observée dans son électrophorégramme. Enfin, 3 cultivars se sont montrés résistants à ces 2 pathogènes, ce sont VV1, RV1 et RR1.

**Mots clés :** *Phoma sabdariffae*, *Trichosphaeria* sp., Roselle, biomorphologie, pathogénicité.

## ABSTRACT

### STUDY OF ROSELLE'S TWO PATHOGENIC FUNGI IN GABON

Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) is a vegetable crop from the Malvacea family cultivated in Gabon and which is infected by the fungus couple *Phoma sabdariffae*-*Trichosphaeria* sp., two sexual and asexual pathogenic forms of fungi. In order to characterize these pathogenic biomorphological, cultural, biochemical and pathogenic fungi comparative studies were conducted. Results show that, in addition to biomorphological differences, *Phoma sabdariffae* was better than *Trichosphaeria* sp. in mycelium PDA medium growth, glucidic and proteic compounds productions. *Phoma sabdariffae* was also the Jamaican sorrel most pathogenic fungi that presents supplementary electrophoretic proteic band of 18 kD. Three cultivars VV1 RV1 and RR1 were found to be resistant to these two pathogenic fungi.

**Keywords :** *Phoma sabdariffae*, *Trichosphaeria* sp., Roselle, biomorphology, pathogenicity.

## INTRODUCTION

La roselle ou oseille de Guinée (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) est l'une des principales plantes maraîchères du Gabon (Lépengué *et al.*, 2007). Elle est cultivée pour être consommée comme aliment (légume en sauce ou boisson rafraîchissante) ou exploitée comme médicament en pharmacopée (anti-scorbut, antiseptique, digestif, purgatif, tonifiant,

etc.) Chenu *et al.* (1986). Cette plante est victime d'une sévère attaque fongique provoquant la pourriture de l'ensemble des organes aériens : tiges, feuilles, fleurs et fruits. La maladie a initialement été attribuée à *Phoma sabdariffae* Sacc., un champignon Deuté-romycète de la famille des Phomaceae (Mouaragadja et M'batchi, 1998). Mais la découverte quelques années plus tard de la forme sexuée de ce pathogène, appelé *Trichosphaeria* sp., sur les

organes desséchés et longtemps après la mort de la plante, a ouvert le débat sur le rôle joué par cette nouvelle forme dans la pourriture de la roselle, dans la pathogénèse de la plante (Lépengué, 2008). *Trichosphaeria sp.*, constitue-t-elle une autre forme pathogène du champignon, un agent opportuniste, ou tout simplement la forme de conservation et de pérennisation de *Phoma sabdariffae* ? C'est pour répondre à toutes ces préoccupations que la présente étude a été initiée. Elle vise à comparer ces 2 formes fongiques sur les plans biomorphologiques, culturels, biochimiques et pathogéniques, pour en dégager les différences, et déterminer le niveau d'implication de chacune d'elles dans la maladie. La sensibilité variétale de la roselle vis-à-vis de ces 2 champignons a également été étudiée ; pour cela 13 cultivars de cette plante ont été utilisés.

## MATERIEL ET METHODES

### MATERIEL

Le matériel végétal était constitué de 13 cultivars de roselle provenant de différentes régions du Gabon, et codifiés sur la base de la couleur, la taille et la pilosité de leurs tiges et feuilles. Le matériel fongique comprenait 2 champignons, *Phoma sabdariffae* Sacc. (forme asexuée) et *Trichosphaeria sp.* (forme sexuée), Lépengué (2008).

### METHODES

#### Culture de roselle

Les graines de roselle ont été semées par lot de 4 unités, après stérilisation pendant 5 min, dans 1 dm<sup>3</sup> d'hypochlorite de sodium (1 %). Elles ont ensuite été mises à germer dans des pots en plastique contenant du sol, de texture argilo limoneuse, puis incubées pendant 40 j sous une serre en polyéthylène transparent de dimension 15 x 10 x 2.5 m (Lépengué et al., 2007). La température moyenne de la serre a été de 28 °C.

#### Isolément des champignons et préparation d'inocula

Les champignons ont été isolés sur les plantes malades de roselle, cultivés dans des boîtes de Pétri, sur milieu «Potatoe Dextrose Agar» (PDA ; 220 g de pomme de terre ; 220 g de

gélose ; 20 g de glucose), et clonés par isolement monospores (Lépengué et al., 2008). Les inocula ont été obtenus après broyage des masses sporales de chaque champignon, et dosés à 10<sup>6</sup> spores.ml<sup>-1</sup>, à l'aide d'un hématimètre de Malassez, 2 ml.

#### Etude des caractères morphologiques et culturels des champignons

##### Croissance mycélienne

Des spores en germination prélevées sous loupe binoculaire de marque Olympus, ont été ensemencées (dans des boîtes de Pétri) sur le milieu nutritif PDA, et incubées à l'obscurité à la température de 28 °C (Lépengué et al., 2008). La croissance des champignons a été déterminée par la mesure du diamètre moyen (dans 2 directions perpendiculaires) des colonies, à l'aide d'une règle graduée.

##### Masse de matière sèche

La masse de matière sèche a été mesurée selon la technique décrite par Koné et al. (2002). Les spores ont, pour cela, été ensemencées dans des flacons de culture Nunclon Bibby 75 cm<sup>3</sup>, contenant 400 ml de milieu nutritif liquide à base de pomme de terre. Au bout de 3 semaines d'incubation à 28 °C, les mycéliums récupérés après centrifugation des milieux culturels ont été, soit séchés à l'étuve à 70 °C, pour servir aux mesures des masses, soit lyophilisés (Lyophilisateur, Virtis Sentry, 3 L) et conservés pour les analyses biochimiques.

#### Analyses biochimiques

##### Extraction et dosage des sucres mycéliens

L'extraction des sucres a été réalisée suivant les techniques décrites par Lépengué (2008). Un gramme de mycélium a été broyé dans 5 ml d'éthanol 80° et centrifugé 2 fois de suite pendant 15 min à 15000 rpm. Le culot a été repris dans 5 ml d'éthanol 40° et centrifugé à nouveau, pour libérer les sucres pariétaux. Les surnageants ont été rassemblés et purifiés avec 2 ml d'acétate de plomb 10 %. L'extrait glucidique a ensuite été évaporé et complété à 5 ml avec de l'eau distillée stérile. Les sucres réducteurs et totaux ont respectivement été dosés par les méthodes colorimétriques, à base de l'acide dinitrosalicylique de sodium (DNS) à 540 nm, et du phénol sulfurique, à 490 nm (Lépengué, 2008).

### Extraction et dosage des protéines mycéliennes

Les protéines mycéliennes ont été extraites conformément aux techniques décrites par Sérémé (1999). Un gramme de mycélium après lyophilisation a alors été broyé dans 5 ml de tampon phosphate 0,1 M pH 6, et centrifugé 2 fois de suite pendant 15 min. à 15000 rpm. Les surnageants ont été précipités avec 2 ml de TCA 15 %, et centrifugés à nouveau comme précédemment. Le culot obtenu a été repris dans 1 ml du tampon d'extraction. Les protéines extractibles ont ensuite été dosées par la méthode colorimétrique de Bradford (1976), et l'électrophorèse réalisée suivant les techniques décrites par Laemmli (1970).

### Pouvoir pathogène

Dans une serre métallique en polyéthylène transparent de dimension 15 x 10 x 2,5 m<sup>3</sup>, 60 plantes/cultivar de roselle ont été inoculées par pulvérisation de l'inoculum (10<sup>6</sup> spores/ml) de chaque pathogène, sur la face inférieure des feuilles de roselle âgées de 40 jours (Lépengué *et al.*, 2007). La notation des symptômes réalisée après 2 semaines d'incubation a permis de calculer l'indice moyen d'infestation (I), la sévérité de la maladie (S %) et le degré de résistance (R) des plantes hôtes (Lépengué, 2008).

### Traitement statistique des données

Toutes les expériences ont été répétées 3 fois et soumises à une analyse de variance (ANOVA) au logiciel Statistica 6.0. En cas de différences significatives, les tests de comparaisons multiples de Newman-Keuls ont été utilisés au seuil de 5 %.

## RESULTATS

### CARACTERISTIQUES BIOMORPHOLOGIQUES ET CULTURALES

#### Caractéristiques biomorphologiques

Les résultats de l'étude biomorphologique ont révélé que *Phoma sabdariffae* et *Trichosphaeria*

*sp.* présentaient de nombreuses différences morphologiques. Les fructifications de *Phoma sabdariffae*, les pycnides, sont des organes clos, sphériques (Figure 1A), alors que celles de *Trichosphaeria sp.*, les périthèces, correspondent à des structures brunes, déprimées par le sommet, et légèrement plus volumineuses que les pycnides. Les spores de *Phoma sabdariffae*, les pycniospores ou conidies (Figure 1B), sont contenues dans une gelée fluide, et éparpillées dans toute la pycnide, alors que celles de *Trichosphaeria sp.*, les ascospores, sont renfermées par lot de 8 unités dans des saccules fusiformes, appelés asques. Dans chaque périthèce, 80 à 130 asques ont été dénombrés (Figure 1C).

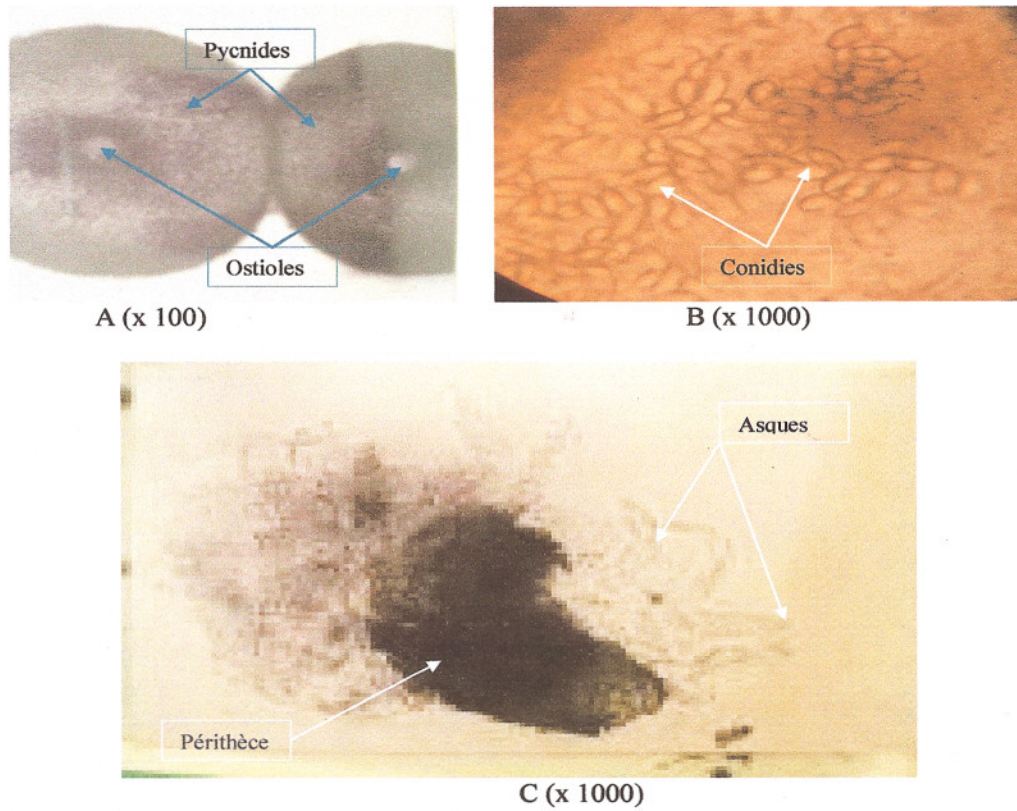
#### Croissance mycélienne

Les résultats ont indiqué que la croissance mycélienne des 2 champignons n'a pas été uniforme sur toute la période d'incubation (Figure 2). Elle s'est présentée sous forme de courbes sigmoïdes, avec 3 phases distinctes. La première phase lente, a correspondu aux 2 premiers jours de culture. La seconde phase s'est étendue du 2<sup>e</sup> au 6<sup>e</sup> jour, avec de forts taux de croissance mycélien, correspondant à 24 cmj<sup>-1</sup> pour *Trichosphaeria sp.*, et à 29 cmj<sup>-1</sup> pour *Phoma sabdariffae*. La 3<sup>e</sup> phase a débuté après le 6<sup>e</sup> jour et s'est caractérisée par une réduction de croissance des 2 pathogènes. L'analyse comparée de la croissance des 2 champignons a montré que cette phase a été significativement plus longue chez *Phoma sabdariffae* que chez *Trichosphaeria sp.*

#### Evolution de la masse sèche mycélienne des champignons

L'étude de la masse mycélienne des 2 champignons a révélé que celle-ci a augmenté proportionnellement avec la durée des temps de culture (Figure 3). Mais dans tous les cas, sa valeur a été toujours significativement plus importante chez *Phoma sabdariffae* que chez *Trichosphaeria sp.* Ainsi, au 21<sup>e</sup> jour par exemple, elle a été supérieure à 15 mg de matière sèche chez le premier champignon, mais inférieure à 0,25 mg de matière sèche, chez le second pathogène.

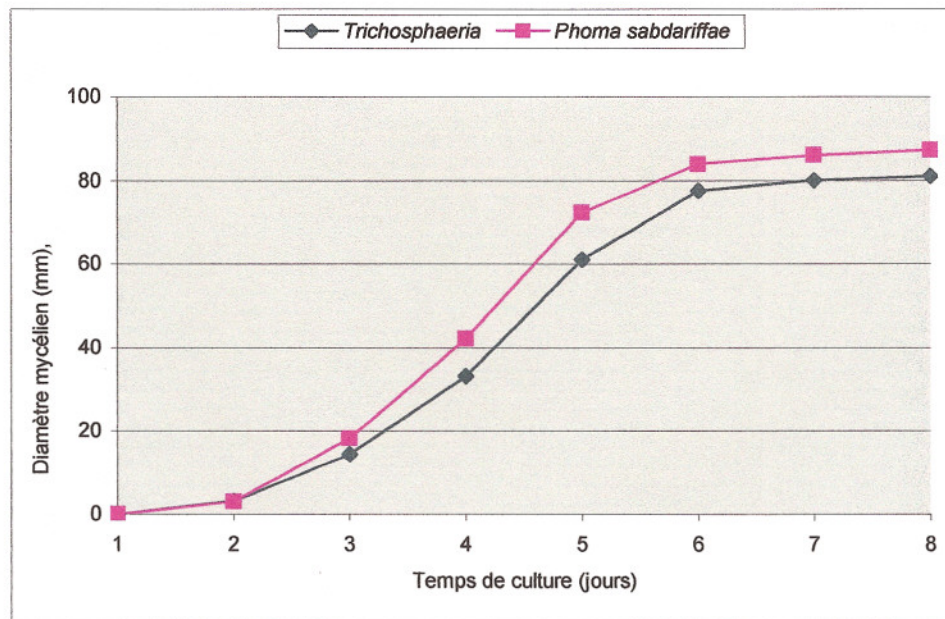




**Figure 1 :** Caractéristiques biomorphologiques de *Phoma sabdariffae* et de *Trichosphaeria* sp.

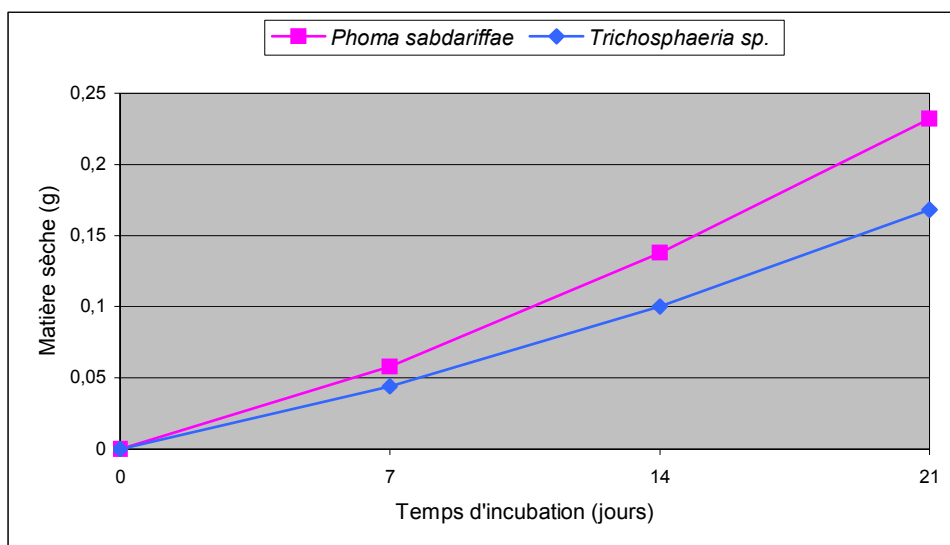
*Phoma sabdariffae* and *Trichosphaeria* sp biomorphological characteristics.

A : Pycnides de *Phoma sabdariffae* / A : *Phoma sabdariffae*'s pycnidia ; B : Conidies ou pycniospores de *Phoma sabdariffae* / B : *Phoma sabdariffae*'s conidia ; C : Périthèce éclatée et asques de *Trichosphaeria* sp. / C : *Trichosphaeria* sp perithecium and ascus.



**Figure 2 :** Croissance radiale mycélienne de *Phoma sabdariffae* et de *Trichosphaeria* sp. cultivés sur le milieu synthétique PDA, à 28° C.

*Diametric growth of Phoma sabdariffae and Trichosphaeria* sp. mycelium, cultured on PDA media, at 28 °C.



**Figure 3 :** Evolution de la masse sèche mycélienne de *Phoma sabdariffae* et de *Trichosphaeria sp.* cultivés sur milieu liquide pomme de terre, à 28° C.

*Dry matter increase of Phoma sabdariffae and Trichosphaeria sp. mycelium cultivated on potato liquid media, at 28° C.*

## CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES DES CHAMPIGNONS

### Evolution des sucres mycéliens

L'étude a révélé une augmentation aussi bien des sucres réducteurs que des sucres totaux dans les mycéliums des 2 champignons pendant toute la durée de culture (Figure 4). Mais, à chaque instant, et quel que soit le type de sucre considéré, les concentrations glucidiques ont significativement été plus élevées chez *Phoma sabdariffae* que chez *Trichosphaeria sp.* Pour les sucres réducteurs, par exemple, elles ont dépassé 36 mg/g de matière sèche au 21<sup>e</sup> jour, chez *Phoma sabdariffae*, alors qu'elles n'ont même pas atteint 34 mg chez *Trichosphaeria sp.*

### Evolution des protéines mycéliennes

Les teneurs protéiques de *Phoma sabdariffae* ont varié entre 36,58 mg/g de matière sèche au 7<sup>e</sup> jour, et 149,86 mg/g de matière sèche au 21<sup>e</sup> jour (Figure 5). Chez *Trichosphaeria sp.*, cette accumulation s'est révélée nettement plus faible, et variait entre 32 mg/g et 122 mg/g de matière sèche, pour une même durée de culture. L'analyse comparative des 2 champignons a

montré, qu'en moyenne, ces différences protéiques sont significativement différentes au seuil de 5 %.

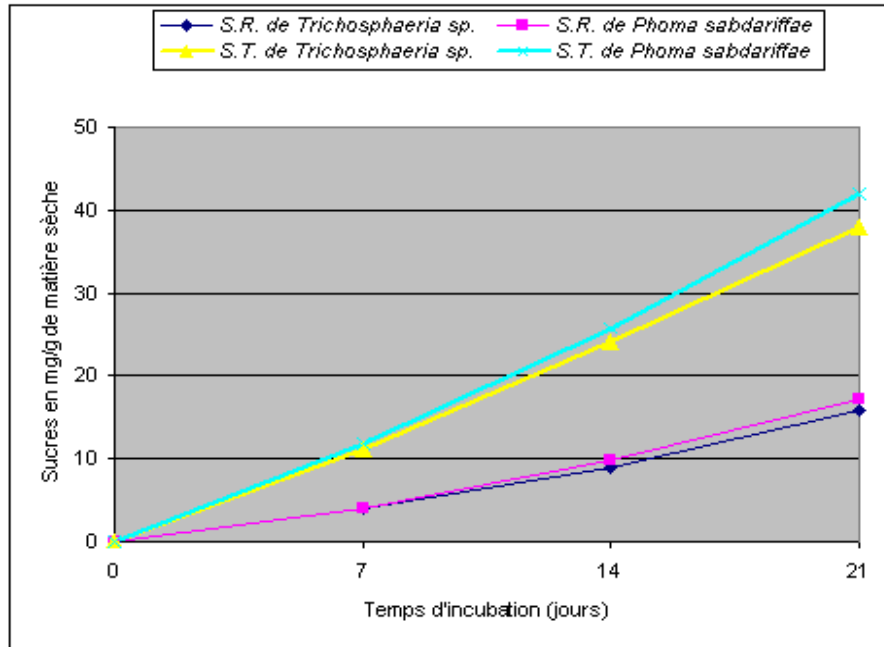
L'analyse des électrophorogrammes des 2 pathogènes, a révélé que *Trichosphaeria sp.* a présenté 2 bandes protéiques de poids moléculaire (PM) respectivement égal à 8 kD et 11 kD, alors que *Phoma sabdariffae* en a présenté 3, dont une unité supplémentaire de PM équivalant à 18 kD (Figure 6).

## POUVOIR PATHOGENE DES CHAMPIGNONS

*Trichosphaeria sp.* a présenté un faible pouvoir pathogène sur l'ensemble des cultivars étudiés. Ses meilleurs taux de pathogénicité ont tous été inférieurs à 20 %, et enregistrés sur les cultivars VV2 (17,64 %), RV2 (18,35 %) et RR2 (17,98 %) (Figure 7). Les cultivars les moins sensibles à ce pathogène ont été pour VV1, RV1 et RR1 de 4,08, 4,23 et 4,09 % respectivement. *Phoma sabdariffae*, en revanche a présenté une forte pathogénicité sur la majorité des plantes étudiées. Dix des 13 cultivars testés ont été sensibles à ce champignon. Les plus fortes valeurs de sensibilité ont été notées sur les cultivars VV2 (90,07 %), RV2 (93,17 %) et RR2 (92,56 %). Le pouvoir pathogène de ce

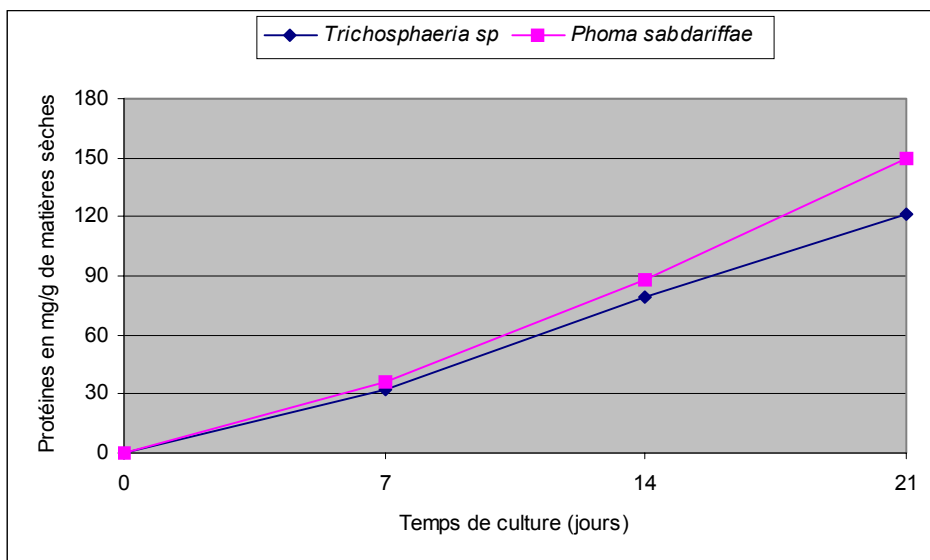
champignon s'est toutefois révélé faible sur les cultivars VV1 (8,88 %), RV1 (9,81 %) et RR1 (8,33 %) (Figure 7). Pour chaque cultivar, les

degrés d'agressivité entre les 2 champignons ont été significativement différents au seuil de 5 %.



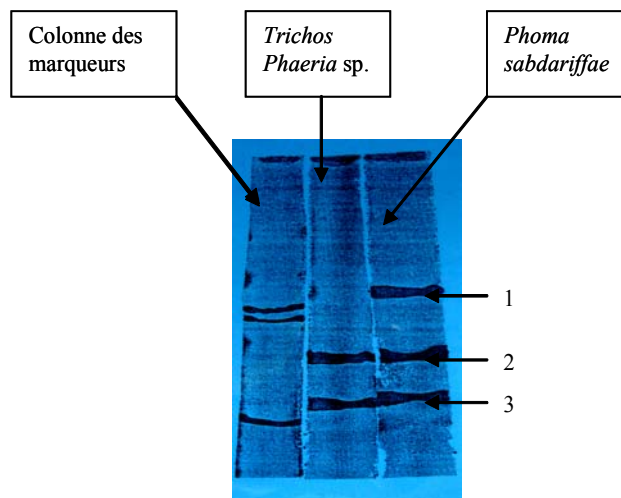
**Figure 4 :** Evolution des sucres réducteurs (SR) et totaux (ST) des mycéliums de *Phoma sabdariffae* et de *Trichosphaeria sp.* cultivés sur milieu liquide pomme de terre, à 28 °C.

*Reducers and total glucids compounds increase of Phoma sabdariffae and Trichosphaeria sp. mycelium cultivated in potato liquid media, at 28 °C.*



**Figure 5 :** Evolution des protéines des mycéliums de *Phoma sabdariffae* et de *Trichosphaeria sp.* cultivés sur le milieu liquide pomme de terre à 28 °C.

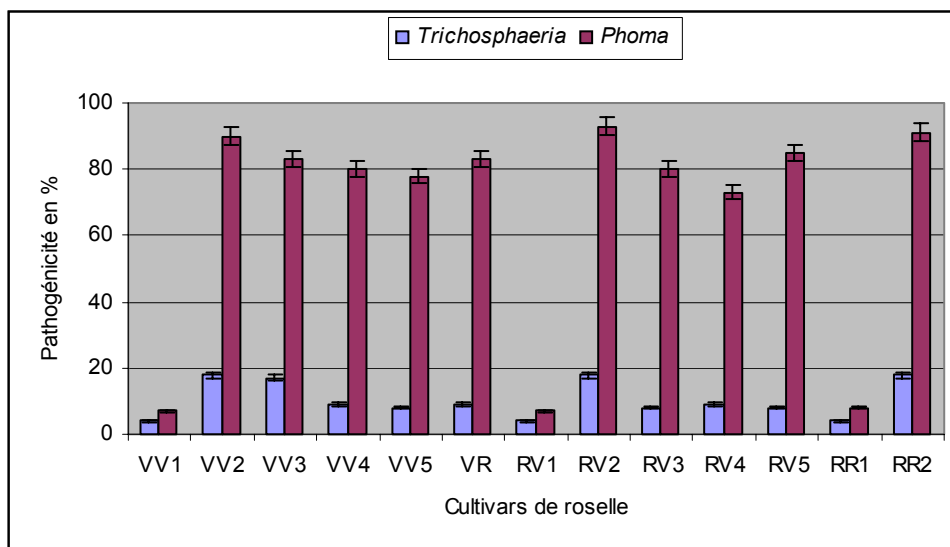
*Proteic compounds increase of Phoma sabdariffae and Trichosphaeria sp.'s mycelium cultivated in potato liquid media at 28 °C.*



**Figure 6 :** Profil électrophorétique de *Trichosphaeria sp.* et de *Phoma sabdariffae* Sacc.

*Trichosphaeria sp.* and *Phoma sabdariffae* mycelium electrophoresis profile.

1 : Protéine de PM = 18 kD ; 2 : Protéine de PM = 11 kD ; 3 : Protéine de PM = 8 kD



**Figure 7 :** Pathogénicité de *Phoma sabdariffae* Sacc. et de *Trichosphaeria sp.* sur les différents cultivars de roselle, après 2 semaines d'incubation sous serre, à 28 °C.

*Phoma sabdariffae* Sacc. and *Trichosphaeria sp.* pathogenicity on 13 roselle different cultivars, after 2 weeks under greenhouse conditions at 28 °C.



## DISCUSSION

Pour caractériser *Phoma sabdariffae* et *Trichosphaeria sp.*, une étude comparative a été menée sur les plans biomorphologiques et culturels, biochimiques et pathogéniques. Les résultats de l'étude culturale ont montré que la vitesse de croissance diamétrale et les augmentations de matière sèche de *Phoma sabdariffae* étaient significativement supérieures à celles de *Trichosphaeria sp.* En l'état actuel de nos travaux, il est difficile d'expliquer valablement ces différences morphologiques. Mais elles suggèrent que ces deux formes fongiques, quoi qu'issues d'un même pathogène, constituent 2 modèles génétiques complètement différents. Des résultats similaires ont déjà été signalés sur d'autres pathogènes. C'est le cas de *Cercospora fijiensis* (Koné et al., 2002), dont deux isolats I1 et I2 (issus du même pathogène) présentaient des croissances radiales et des augmentations de matière sèche totalement différentes.

L'étude biochimique a montré que les concentrations des composés glucidiques étaient plus importantes dans le mycélium de *Phoma sabdariffae*, que dans celui de *Trichosphaeria sp.* Selon les travaux de Maillat (2002), la majorité des composés glucidiques sont localisés soit au niveau des parois, où ils jouent un rôle structural (glycoprotéines ou de polymères osidiques), soit au niveau du cytoplasme, où ils constituent des réserves énergétiques cellulaires sous forme de glycogène. Au vu de cette distribution cellulaire, la grande teneur de *Phoma sabdariffae* en composés glucidiques laisse suggérer que ce champignon présente une structure pariétale plus solide, avec des activités métaboliques plus élevées.

Les analyses protéiques de cette étude ont révélé que ces composés étaient plus concentrés dans les mycéliums de *Phoma sabdariffae* que dans ceux de *Trichosphaeria sp.* La répartition cellulaire des protéines est assez complexe. Elles sont rencontrées dans tous les organites, même si la majeure partie est localisée au niveau du cytoplasme (Heller et al., 2002). Leur rôle est autant structural (actine, myosine...) que fonctionnel (enzymes). Le taux élevé des composés protéiques chez *Phoma sabdariffae* pourrait refléter une meilleure stabilité de l'édifice cytosquelettique du pathogène, ou traduire une plus grande activité

enzymatique. Ces dispositions auraient pour corollaire une meilleure mobilisation des réserves énergétiques pour les besoins de l'organisme (croissance, reproduction, pathogénicité etc.) justifiant du même coup l'ensemble de nos observations.

Les résultats de l'étude pathogénique ont révélé une nette différence d'agressivité, en faveur de *Phoma sabdariffae*. Cette différence nous semble conforme aux caractéristiques biochimiques de chaque champignon évoquées plus haut. Le pouvoir pathogène de *Phoma sabdariffae* pourrait être lié à la nature de sa structure pariétale, à l'abondance probable de ses réserves énergétiques, ou à sa capacité à les mobiliser (via les enzymes) dans les mécanismes d'attaque de l'hôte, comme rapporté chez d'autres pathogènes (Lepoivre et Semal, 1993).

Indépendamment de ces différences biochimiques, il est aussi possible que les différences d'agressivité des champignons proviennent de leurs modes de reproduction (Legrand et Gerlinger, 1974). En effet, de nombreux travaux analogues de comparaison entre champignons pathogènes indiquent généralement, une plus grande agressivité des formes asexuées (Ahoussou, 1989). Il semble que la mise en place des mécanismes de sexualité se fait au détriment de l'agressivité des champignons (Legrand et Gerlinger, 1974). La différence de pathogénicité entre les 2 champignons peut également être imputée aux plantes hôtes qui pourraient élaborer des mécanismes différentiels de défense : composés phénoliques et terpéniques, protéines PR (pathogenesis related), éthylène etc. (Heller et al., 2002). La concentration de ces composés serait alors plus importante chez les cultivars résistants (VV1, RV1 et RR1) que chez leurs homologues sensibles (VV2, RV2 et RR2).

## CONCLUSION

*Phoma sabdariffae* et *Trichosphaeria sp.* Quoiqu'étant 2 formes appartenant au même pathogène, présentent plusieurs différences biomorphologiques, culturelles, biochimiques et pathogéniques. *Phoma sabdariffae* est notamment plus riche en composés glucidiques et protéiques. La présence d'une protéine supplémentaire dans son électrophorogramme est certainement une piste exploitable dans la compréhension de la grande pathogénicité de



ce champignon. Les travaux à venir de caractérisation devraient permettre de déterminer le rôle de cette protéine dans l'agressivité du pathogène. Pour l'instant, la grande pathogénicité de *Phoma sabdariffae* montre qu'il est de loin, la forme la plus dangereuse, et devrait à ce titre, être priorisé dans les techniques actuelles de lutte par rapport à *Trichosphaeria* sp..

## REFERENCES

- Ahoussou N. 1989. Etude de l'antrachnose de l'igname (*Dioscorea alata*) provoquée par *Colletotrichum gloeosporioides*. Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences naturelles, Spécialité Biologie végétale, Univ. de Provence, Aix-Marseille (France), 1.100 p.
- Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72 : 248 - 254.
- Chenu J., Ouvry P. et R. Lavergne. 1986. Les plantes médicinales tropicales, tome 5. Edition Dareni, Libreville, 102 p.
- Koné D., Aké S., Kobenan K. et A. P. Anno. 2002. Caractéristiques culturales de deux isolats de *Cercospora fijensis* Morelet. *Bioterre* 1 : 75 - 83.
- Heller R., Esnault R. et C. Lance. 2002. Physiologie végétale. Développement. 6<sup>e</sup> édition de l'Abrégé, édition Dunod, Paris, 144 - 145.
- Laemmli U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680 - 685.
- Le Grand-Pernot F. et C. Gerlinger. 1974. Création expérimentale de lignées pathogènes et sexuées à partir d'un *Colletotrichum musae* (CKE & MASSE) et d'un *Glomerella cingulata* (STON) SPAUL. & SCHR. *Fruits* 29 (3) : 181 - 189.
- Lépengué A. N. 2008. Contribution à la protection de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*), contre la pourriture engendrée par *Phoma sabdariffae* Sacc. et *Trichosphaeria* sp., au Gabon : Etude des mécanismes d'action fongiques phytotoxiques. Doctorat d'Université, UFR Biosciences, Univ. Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire), 294 p.
- Lépengué A. N., M'batchi B. et S. Aké. 2007. Impact de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur la croissance et la valeur marchande de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon. *Rev. Ivoir. Sci. Technol.* 10 : 207 - 216.
- Lépengué A. N., M'batchi B. et S. Aké. 2008. Production, caractérisation et utilisation des composés toxiques de *Phoma sabdariffae* Sacc. dans la sélection des cultivars résistants de roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon. *Agronomie Africaine* 20 (1) : 59 - 67.
- Lepoivre P. et J. Semal. 1993. Les relations hôte-parasite. *Traité de pathologie végétale*. Les presses agronomiques de Gembloux, pp. 249 - 302.
- Maillet M. 2002. *Biologie cellulaire, cours & exos*. 9<sup>e</sup> édition de l'Abrégé, édition Masson, révisée et augmentée, Paris, 547 p.
- Mouaragadja I. et B. M'batchi. 1997. Etude et identification de la pourriture de l'oseille de Guinée au Gabon. *Fruits* 53 (1) : 57 - 68.
- Séréme P. 1999. La maladie des tâches brunes du niébé [*Vigna unguicula* ta (L.) Walp.] au Burkina Faso : Connaissance des agents pathogènes impliqués et développement des méthodes de lutte. Thèse de Doctorat d'Etat, Option Physiologie Végétale Spéc. Phytopathologie, UFR Biosciences, Univ. de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire), 201 p.