

UNIVERSITE DE KISANGANI

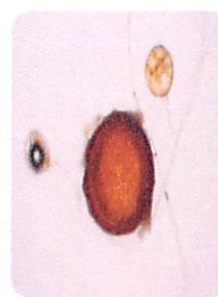
Département des Eaux et Forêts

Faculté de Gestion des Ressources
Naturelles Renouvelables



**B.P. 2012
KISANGANI**

« La détection et dénombrement des souches des mycorhizes
dans le site expérimental de l'Université de Kisangani à Simi-
Simi, R.D Congo »



Par

Marie Noëlla MILINGANYO THOMBO

MÉMOIRE

Présenté et défendu en vue de l'obtention de
grade d'Ingénieur agronome

Option : Eaux et forets

Directeur : Professeur Adrien Moango Monga

Co- promotrice : Jolien venneman

Encadreur : Crispin Lebisabo



ANNEE ACADEMIQUE 2012-2013

DEDICACE

Porte de mes études, élevez vos linteaux ; elevez-les ; portes éternelles ! Que le roi de gloire fasse son entrée ! Qui donc est ce roi de gloire ?

L'éternel des Armées : Voilà le roi de gloire ! Psaume : 24 :9-10

A mon Papa Hyppolyte THOMBO BIEMBA et à ma maman Rosalie BITOTA MUKUNA pour votre attention soutenu à notre égard ;

Dévouant malgré tout pour notre éducation ; formation ..., par l'ambition de bâtir une maison et l'achève,

Que notre rédempteur vous accordent une longue vie, recevez mes plus sincères reconnaissances.

Marie Noëlla Milinganyo thombo

REMERCIEMENTS

Je tiens à adresser premièrement toute ma gratitude au Professeur ADRIEN MOANGO MANGA Promoteur de ce travail pour la réalisation de cette étude. Par ces qualités scientifiques qui est grave en nous restant une source d'inspiration.

Aux excellences Messieurs Hyppolyte NSHIMBA SEYA WA MALALE le Doyen de la faculté des sciences agronomiques ,actuellement Faculté de gestion de ressources naturelles renouvelables ;

Professeur Benoît DHED'A DJAILO ; ainsi que les corps académiques de cette entité ,qui se dévouent pour notre formation excellente durant les année académiques ...

Notre profonde reconnaissance s'adresse particulièrement au Co-promoteur de ce travail jolien venneman de l'Université de Gant pour sa bravoure, dévouements, les corrections et remarques qu'il ne cessait de nous apportées depuis le protocole jusqu'à la finalité.

Nous remercions également l'encadreur Crispin LEBISABO ,Co-encadreur KASAKA pour avoir accepté l'encadrement de ce travail. Je ne pourrais oublier à remercier toute l'équipe des professeurs visiteurs qui ont contribué à cette effet ; pour que la formation aboutisse à son terme. Sans le concours financier et matériel de (Vlaamse Interuniversitaire,Road/Université Développement Coopération en sigle : (VLIRUOS), la présente étude n'aurait pu être réalisée.

Sur ce, je remercie sincèrement l'équipe dirigeante: aux Professeurs :LOKOMBE, JAN RAMELOO , Many Kennes- MADIKA, René Oleko, Honorine NTHAHOBAVUKA, Jean-Pierre MATE MWERU, MAMBANI, KATWALA, KAHINDO, BWAMA, Doudou AKAIBE, Ulyel, JUAKALI, ... et Chefs des travaux : Jean- Jacques KAKUNI, Diddy ONAUTCHU, Dieudonne PYAME, John MABAY, BOLA, BONDOMBE, Freddy OKANGOLA, MUKINZI, Eddy LOKELE, BASILE, NGAMBALE MOKE, AGBEMA, trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude

Sans oublier ; nos ami(e)s et camarades compagnons de luttes dans la vie estudiantine pour l'endurance et l'esprit d'équipe qui n'a cessé de nous animer pendant les Cinq ans et plus, remerciement le plus profond du cœur.

Tous mes remerciements Aux assistants : Simon TUTU N'SIMEMBA, Pitchou TSHIPANGA, John TSHIBAMBA, Thierry KAHINDO, Dieu merci ASSUMANI, Tabu KANYAMA, Emmanuel KASONGO, EBUY, Leon KASAKA.

Nos sincères reconnaissances s'adressent également à Monsieur Faustin MWENE BATENDE et Ma chère sœur Brigitte BILILO THOMBO, Mon Cher Frère César THOMBO MUSIWA et Mado Ngwangala, Madame Kabedi, Monsieur Jean lumière MOMODOU et Betty N'TUMBA THOMBO, Monsieur Gahylor THOMBO BIEMBA, Monsieur Adolphe LOBOKU et Maguy, Albert MERCATI et Carine KIYOMBO, Alphonse MOBONDA...

Pour leur soutien morale, spirituel, Financière, Par des conseils et encouragements qui ont apportés un plus à notre personne et par le même sentiment ; nous témoignons notre reconnaissance à nos enfants, Rosalie Bitota Musiwa, Mieke Gloria MWENEBATENDE, Gracia Musiwa, Rosa MWENEBATENDE, Brigitte BILILO MUSIWA, Dorcas et d'autres ...

RESUME

Concernant la détection et dénombrement des souches mycorhizienne sur le site d'expérimentation à simi- simi,

Pour se faire, un dispositif expérimental de 94m x110m qui comprend quatres blocs partagent à 6 parcelles par blocs, divisent en 96 sous parcelles dont Ecartements ou la densité

- Manioc monoculture : 1mx1m
- Manioc avec arachide:
 - manioc : 2 m x 0,5 m
 - Arachide : 40 cm x 20 cm

Les résultats obtenus ont montré ce qui suit :

- les mycorhizes sont présents dans toutes les 9 sous parcelles analysées. détectées au total **377 mycorhizes** ont été détectées dans les racines, dont 89 mycorhizes soit **24 %** pour la sous parcelle 4 suivi de SP 30 avec 67 mycorhizes soit **18%** et SP 86 vient en dernière position avec 9 mycorhizes, soit **2%**. Il est à remarquer que dans la SP4 les mycorhizes sont plus abondants que dans les autres SP.

Après analyse, le **dénombrement des spores**

Était au total **1519 spores** et trois catégories des spores ont été trouvées. Ils s'agissait des : spores des couleurs : Jaune (glomus), Blanche (gigaspora) et Noire (acaulospora).dont les Mycorhizes de couleur Jaune sont les plus abondant avec **750 spores**, soit **49%** suivi des mycorhizes de couleur Blanche avec **407 spores**, soit **27%** et les spores de couleur noire sont peu abondantes avec **362 spores**, soit **24%**.

Effet des Mycorhizes sur les cultures de Manioc ainsi que de la production des Gousses d'Arachides.

Les hauteurs des plants de manioc après 3 mois. La sous parcelle 76 a donné un pied le plus long de 2m de hauteur que les autres ; suivi SP4 avec 1,55m et SP26 à 1, 5m, et les poids des gousses d'un pied d'Arachide par sous parcelle. La sous parcelle 26 donne le poids le plus élevé, soit 53g par rapport aux autres sous parcelles analysées, suivi de la sous parcelle 65. La sous parcelle 30 vient en dernière position avec 14,4g pour le pied le plus performant.

SUMMARY

Concerning the detection and numbering of the original mycorrhizienne on the site of experimentation to simi - simi,

To make itself/themselves, an experimental device of 94m x110m that consists of quatres blocks shares to 6 parcels by blocks, divide in 96 coins parcels of which Spacings or the density

-Cassava monoculture: 1mx1m

-Cassava with peanut: -cassava: 2 x m 0,5 m -Peanut: 40 x cm 20 cm

The gotten results showed what follows:

- the mycorhizes is present in all 9 under analyzed parcels. detected to the total 377 mycorhizes have been detected in the roots, of which 89 mycorhizes is 24% for the under parcel 4 follow-up of SP 30 with 67 mycorhizes is 18% and SP 86 comes in last position with 9 mycorhizes, either 2%. He is to notice that in the SP4 the mycorhizes is more abundant than in the other SP.

After analysis, the numbering of the spores, was to the total 1519 spores and three categories of the spores have been found. They were about the: spores of the colors: Yellow (glomus), Half note (gigaspora) and Crotchet (acaulospora). of which the Mycorhizeses of Yellow color are the most abundant with 750 spores, either 49% follow-up of the White color mycorhizes with 407 spores, either 27% and the spores of black color are little abundant with 362 spores, either 24%.

Effect of the Mycorhizeses on the cultures of Cassava as well as the production of the Pods of peanuts. The heights of the plantations of cassavas after 3 months. The under parcel 76 gave a longest foot of 2m of height that the other; consistent SP4 with 1,55m and SP26 à 1, 5m, and the weights of the pods of a peanut foot by coins parcel. The under parcel 26 gives the most elevated weight, either 53g in relation to the other analyzed coins parcels, followed of the under parcel 65. The under parcel 30 comes in last position with 14,4g for the most effective foot.

0. INTRODUCTION

0.1. PROBLEMATIQUE

Le sol est considéré comme un environnement minéral, aussi un lieu de vie, héberge une très forte diversité d'espèces microscopique et macroscopique vivantes. Parmi ces espèces, les microorganismes sont les plus nombreux et les plus diversifiés. Composés de bactéries, d'archaeobactéries et de champignons, ils assurent des fonctions essentielles comme la biodégradation de la matière organique, la production des nutriments pour les plantes, la fixation d'azote, la dégradation des polluants, etc.

Les cycles biogéochimiques comme le cycle du carbone, de l'azote et de phosphore sont sous la dépendance (à plus de 90 %) des microorganismes. Ces microorganismes jouent des rôles cruciaux dans le cycle de la matière vivante et dégradent les matières organiques, sources d'électrons, de carbone et d'énergie pour leur biosynthèse. En mourant, ces microorganismes contribuent à l'enrichissement de sol en différents composés minéraux (Moango, 2011)

A l'heure actuelle, promouvoir une meilleure activité des microorganismes du sol s'avère très nécessaire.

L'utilisation de la microflore symbiotique naturelle des sols; les champignons mycorhiziens à arbuscules (MA), dont le rôle sur la nutrition minérale, la croissance des plantes et la protection ou la tolérance phytosanitaire contre les microorganismes pathogènes tellurique est largement admise, est une voie à envisager.

Il est impérieux de les étudier pour connaître leur importance et leurs effets bénéfiques sur les cultures vivrières de la région enfin d'en sélectionner ceux qui pourront jouer un rôle important dans les processus de fertilisation des cultures ciblées (Zhu and Salmeron 2007)

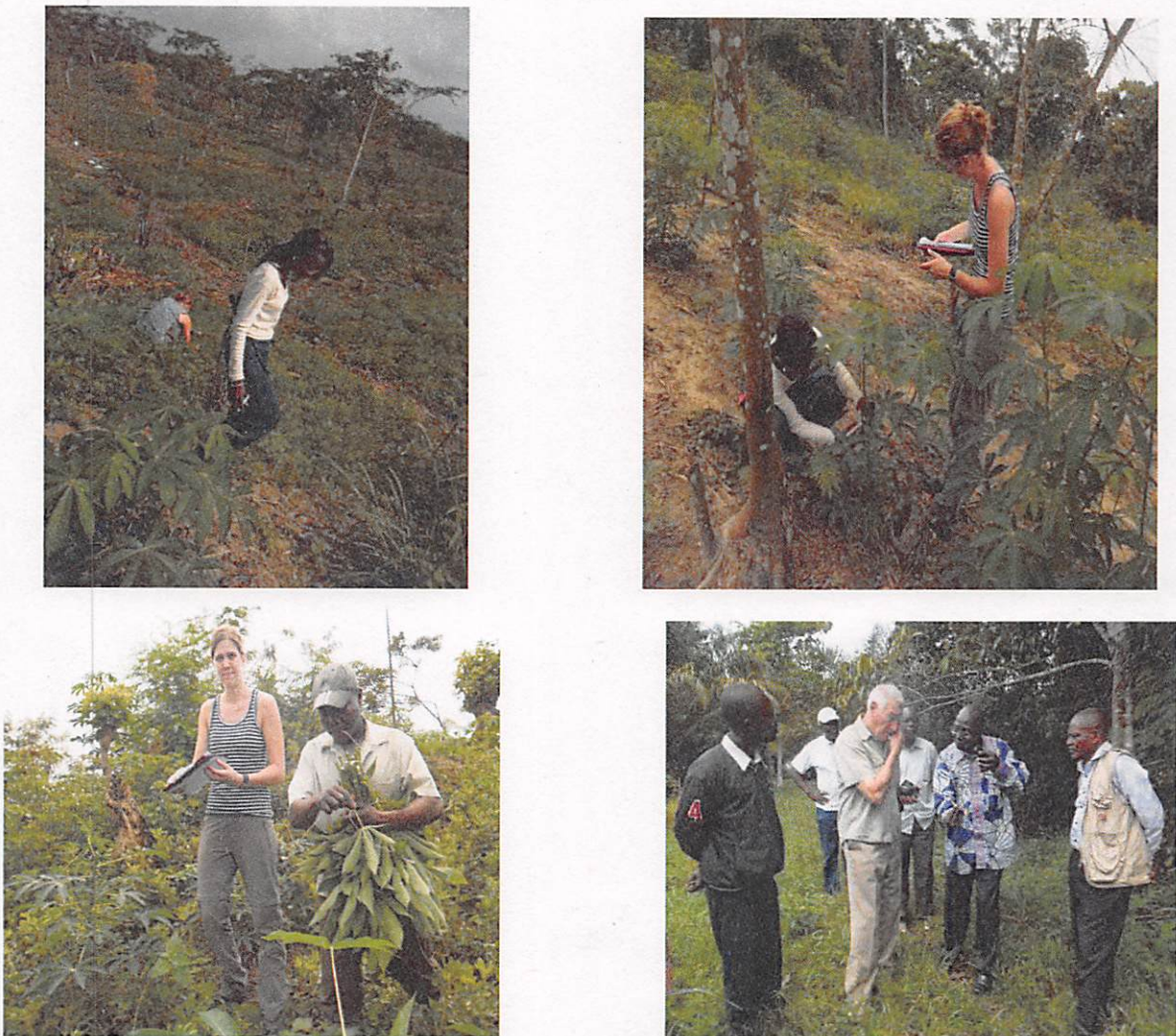
Le mycorhize est une symbiose entre les champignons et plusieurs espèces végétales.

Auparavant; on pensait que cette symbiose était réalisée seulement par les essences forestières, mais actuellement on suppose qu'elle se réalise sur les plantes vivrières (manioc, riz, arachide, soja, coton, agrume, oignon etc. ainsi que plusieurs plantes sauvages herbacées ou non) (Janrammeloo 2013).

Le champignon mycorhizien sert à la plante à la fois de mineur, de traiteur, de médecin, de vigile et d'ingénieur en aménagement du territoire.

En juste retour de ces services, la plante, en bonne cuisinière écologique (elle fonctionne à l'énergie solaire), nourrit son partenaire fongique avec des sucres élaborés avec soin lors de la photosynthèse.

Les mycorhizes demeurent encore peu connus dans nos milieux et peu d'études ont été faites sur leurs biodiversités, leurs dénombrements et leurs caractérisations macroscopiques et microscopiques, sur la performance de leurs souches pour les cultures envisagées et sur leurs productions en masse. Nous essayerons de générer e meilleures connaissances sur la détection et le dénombrement des souches mycorhizienne sur le site d'expérimentation à simi- simi (figure 1).



Figures 1: site d'expérimentation de Simi-simi.

0.2. OBJECTIFS

0.2.1. Objectif général

L'objectif général de ce travail est de contribuer à la mise au point d'un système de coloration et d'isolement des spores par des méthodes appropriées dans la région de Kisangani en République Démocratique du Congo.

0.2.2. Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques de ce travail sont les suivants :

- ✓ Identifier les espèces des souches des mycorhizes sur le site expérimental de Simi-simi (dans la région de Kisangani),
- ✓ Évaluer leurs abondances par sous parcelle, par parcelle et par bloc expérimentales,
- ✓ Caractériser de manière préliminaire les croissances des manioc et arachide en association avec le *Pennisetum purpureum* dans le site expérimental,
- ✓ Identifier le meilleur traitement à appliquer pour favoriser la bonne activité de différentes souches des mycorhizes dans ce système de culture.

0.3. HYPOTHESES

L'idée qui mérite d'être étudiée est basée sur :

- ✓ Le site expérimental de Simi- Simi regorge plusieurs sortes des mycorhizes.
- ✓ Il y a une différence sur le plan d'abondance numérique des spores entre les sous parcelles, les parcelles et les blocs.
- ✓ La croissance des maniocs et la production des arachides seront également différentes d'après l'abondance numérique des spores,
- ✓ Les différents traitements des sols ne favorisent pas de la même manière les activités des mycorhizes.

0.4. INTERET

La présente étude est une contribution à la connaissance de la diversité des souches des mycorhizes présents dans le site expérimental de simi- simi à Kisangani. Ce travail permet

aussi de mettre en application les méthodes de détection et le dénombrement des souches mycorhiziens par la coloration des racines et isolement des spores à partir du sol. Pratiquement ces données serviront à la gestion rationnelle de nos ressources forestières.

0.5. DIVISION DU TRAVAIL

Outre l'introduction qui présente la problématique, les objectifs et les hypothèses de recherche, le présent travail est subdivisé en trois principaux chapitres. Le premier chapitre présente la revue de la littérature sur les mycorhizes. Le deuxième chapitre expose le milieu d'étude, le matériel et les méthodes utilisées et le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus, et la discussion de ces résultats obtenus. Il se termine par une brève conclusion générale avec quelques perspectives de recherche.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE SUR LES MYCORHIZES

I.1. Mycorhize

Le mycorhize est une association symbiotique entre les hyphes de champignons et les racines des végétaux supérieurs. Elles sont connues depuis le siècle dernier et des études approfondies sont consacrées à l'amyotrophie depuis plus de 80 ans. De nombreux manuels très complets font le point de la recherche mycorhizienne et des théories de dernières décennies (Kelley, 1950).

Jusqu'il y a récemment ; les mycorhizes vésiculaires -arbusculaires étaient classés dans les Zygomycète (ordre des Glomales). Ces champignons ne forment néanmoins jamais des zygospores, caractéristique des Zygomycètes, et tous ces champignons forment des symbioses mutualistes. Des études moléculaires ont suggéré de placer ces champignons dans un propre phylum, les Glomeromycota (Jan Ramelloo, 2012).

La systématique de mycorhize faisant l'objet de cette recherche se présente comme suit :

- ✓ Règne : Fungi
- ✓ Phylum : Glomeromycotina
- ✓ Embranchement : Glomeromycota
- ✓ Classe : Glomeromycètes
- ✓ Ordre : Glomales

Traditionnellement la systématique du groupe a été basée sur les caractéristiques des spores multi nucléées, de grand diamètre (40 jusqu'à 800 μm de diamètre). Jusqu'à présent, on n'a pas pu trouver une reproduction sexuée chez les Glomeromycota. On suppose que les spores sont formées d'une façon asexuée. Il y a des limitations aux caractères morphologiques qui peuvent être utilisés en taxonomie, ce qui fait que pour l'instant on ne peut guère reconnaître qu'à peu près 200 espèces (des morphotypes). Les spores possèdent des parois à multiples couches ; elles sont formées seul ou en groupe dans ce qu'on appelle des sporocarpes ; la façon dont elles sont formées est un caractère important pour décrire des familles et des genres.

1.2. Type des mycorhizes

Les mycorhizes sont classifiées d'après leurs morphologie ou par la structure du complexe mycorhizienne, Cette classification est devenu simplifier pour mieux le reconnaître ; actuellement on reconnaît 7 types différents, qui peuvent être réduit à deux types majeurs, il s'agit des :

- ✓ Ectomycorhizes
- ✓ Endomycorhize

1.2.1. ECTOMYCORHIZES

Morphologiquement, l'ectomycorhize est plus facile à reconnaître que l'endomycorhize parce que les hyphes (cellules) du champignon ectomycorhizien associé à la racine, l'enrobent et forment autour d'elle un tissu fongique coloré (manteau fongique) comparable à une douille qui recouvre et protège la pointe d'un stylo (Paluku 2009).

Les ectomycorhizes représentent l'association la plus évoluée entre les plantes et les champignons. Plus ou moins 3% des plantes à fleur connaissent une telle association. Dans cette association, les racines sont complètement entourées par une gaine jusqu'à 100 μm d'épaisseur (généralement 50 μm).

Les hyphes pénètrent entre les cellules extérieures de la racine, sans jamais dépasser le péricycle. Les hyphes, les rhizomorphes et les cordons mycéliens s'épanouissent dans le sol.

Les champignons impliqués sont généralement des basidiomycètes, appartenant à des genres qu'on trouve surtout en forêt puisque c'est un type de mycorhize typique pour les espèces ligneuses. Un arbre peut avoir plusieurs partenaires en même temps et les partenaires peuvent changer avec l'âge de l'arbre. Les ectomycorhizes peuvent faire des réseaux entre arbres, les reliant dans le sol. Les ectomycorhizes dépendent des arbres comme source de carbone ; elles ne sont pas du tout compétitives comme saprotrophe. Le champignon de son côté est très efficace à résorber des ions minéraux qu'ils passent à la plante. C'est particulièrement le cas pour l'azote et le phosphore que les plantes ne savent pas absorber du sol (Jan rammeloo 2012).

Les hyphes s'infiltrant dans les racines de l'arbre, entourant les cellules sans y pénétrer, et forment, au pourtour de la racine, un amas d'hyphes (le manchon). Les échanges

symbiotiques entre les partenaires se font au niveau intercellulaire. Le manchon fait par les hyphes du champignon joue aussi un rôle protecteur contre des organismes pathogènes. Les champignons symbiotiques développent un vaste réseau mycélien permettant aux arbres d'assurer l'absorption de l'eau et des éléments minéraux (Garbaye et Guehl, 1997).

De plus, plusieurs champignons ectomycorhiziens forment les « chapeaux » ou « carpophores » que l'on voit sur les sols et certains d'entre eux sont comestibles (De Kesel, 2002), (Buyck, 1994) et recherchés par les gastronomes, citons entre autres les girolles (ou chanterelles) et les bolets. D'autres comme les truffes ne sortent jamais du sol, on les dits « hypogés ». Sans cette association avec l'arbre, ces champignons ne pourraient former ce « chapeau » fort prisé (Egli et Ivano, 2002).

Les ectotrophiques ou ectomycorhizes termes qui veulent dire les mycorhizes retrouvant à l'extérieur de la racine, La forme ectotrophe est beaucoup moins largement répartie et sa morphologie est beaucoup plus uniforme. Elle est caractéristique chez les pinacées, les fagacées et les bétulacées,

C'est-à-dire les principales familles d'arbres des climats froids et tempérés. Plus récemment, on a observé des mycorhizes ectotrophes associées à des arbres d'autres régions, comme par exemple aux eucalyptus australiens (Chilvers et Pryor, 1963), ainsi qu'à plusieurs essences tropicales de césalpiniacées (Peyronel et Fassi, 1957). La dernière liste de genres végétaux comprenant des mycorhizes ectotrophes est celle qu'a publiée Moser en 1967.

Dans les mycorhizes ectotrophes, le champignon est généralement un basidiomycète.

Des expériences ont prouvé l'existence de quelque 80 espèces de basidiomycètes mycorhiziens et l'on soupçonne que le nombre des espèces formant des mycorhizes en symbiose avec les arbres forestiers est plusieurs fois plus élevé (Trappe, 1962).

La présence constante d'associations mycorhiziennes dans les forêts froides et tempérées résulte d'une longue évolution qui appartient au développement biologique normal des arbres et écosystèmes en question. Ainsi, (Singer, 1963a). a comparé les ectotrophes (c'est-à-dire les arbres et leurs associés fongiques) aux lichens qui sont, eux aussi, l'expression d'un rapport de symbiose organisée entre des végétaux non chlorophylliens (champignons) et des végétaux verts.

1.2.2. ENDOMYCORHIZES

L'endomycorhize résulte de champignons microscopiques dont les hyphes ont la particularité de pénétrer dans les cellules de la racine de la plante. Contrairement aux ectomycorhizes, le champignon ne forme jamais de « chapeau » et les hyphes ne forment pas de manchon autour des racines. Les hyphes forment plutôt une structure, appelée « arbuscule », à l'intérieur des cellules végétales (modèle tri dimensionnel d'arbusculaire). Cette association se retrouve principalement chez les plantes cultivées, mais aussi chez certains arbres forestiers dont l'if et l'érable à sucre ainsi que plusieurs petites plantes des sous-bois (FIS, 1992).

Les endomycorhizes gardent l'aspect de racines ordinaires mais dont les parenchymes corticaux sont envahis soit par des filaments isodiamétriques (mycorhizes à pelotons) soit par des éléments fongiques polymorphes (mycorhizes à vésicules et arbuscules) (FIS, 1992). Les mycorhizes arbusculaires aident la plante à lutter contre ses adversaires, qu'il s'agisse de champignons parasites ou même d'insectes herbivores. (Smith SE et al, 1996). Il a été démontré que les glomérormycètes (groupe auquel appartiennent tous les mycorhizes Arbusculaires) produisent une substance appelée glomaline qui structure le sol alentour, le rendant ainsi plus favorable au développement de la végétation. (Smith et Read, 2008).

En termes d'objectifs économiques et d'espèces végétales impliquées, les mycorhizes les plus importants sont les mycorhizes à vésicules et arbuscules (MVA). On estime que 80% des espèces végétales de la flore actuelle sont concernées et ceci dans la plupart des biotopes. En titre d'exemple, Solrize est un bio fertilisant utilise en agricultures biologiques ; il est utilise, forme des granules contenant des champignons endomycorhize glomus (10 propagules/gr) et a été sélectionné à l'INERA (W.W.W.contact@inoculumplus.eu)

Dans les conditions de production au champ, les grandes cultures (céréales, légumineuses, tournesol, pomme de terre, etc.), les cultures maraîchères (laitue, poireau, carotte, céleri, etc.) et les cultures florales (rosier, œillet, chrysanthème, géranium, etc.) forment des MVA.

Leurs racines sont colonisées par des mycéliums particuliers qui se développent dans le parenchyme cortical en épargnant le cylindre central (FIS, 1992).

Les champignons des mycorhizes à vésicules et à arbuscules (VAM) sont des Zygomycètes (champignons filamenteux sans zoospores, dont le thalle est multi nucléé) qui se conservent dans le sol sous formes de spores de résistance. Ces spores germent et forment un

appressorium à la surface d'une racine hôte, y pénètrent et progressent dans le parenchyme de la racine. Le champignon forme des suçoirs ramifiés à l'intérieur des cellules, les arbuscules (Paluku, 2009).

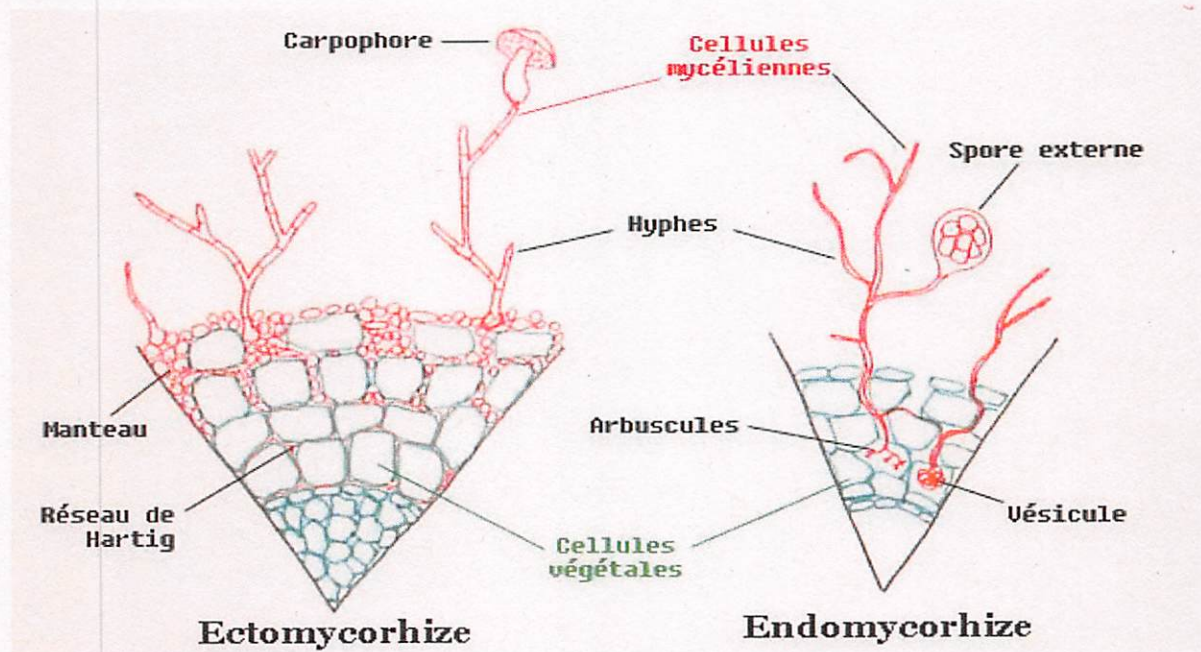


Figure 2 : Source : (Francis Martin, 2010).

Dans les endomycorhizes la presque totalité des hyphes se trouve dans la racine.

Les endomycorhizes (ou mycorhizes internes) sont la forme la plus répandue. Ce sont des mycorhizes qui pénètrent à l'intérieur des racines pour mieux s'y associer.

Il existe plusieurs types d'endomycorhizes :

- ✓ Les endomycorhizes à arbuscules ou arbusculaires (AM): c'est le cas le plus répandu. Les champignons mycorhiziens arbusculaires colonisent environ 80 % des plantes vasculaires terrestres, c'est-à-dire plus de 400000 espèces.

Il existe cependant moins de 200 espèces de champignons endomycorhiziens. Ces champignons ne sont donc pas très spécifiques dans leurs relations de symbiose. Étant peu spécifique, chaque espèce doit posséder un grand potentiel d'adaptabilité et une large diversité génétique afin de lui permettre de s'adapter aux différentes conditions environnementales auxquelles elle doit faire face (Ramelloo,2012).

Ils sont associés avec les plantes herbacées et ligneuses. Les endomycorhizes arbusculaires (aussi appelés : mycorhizes à vésicules et arbuscules), tirent leur nom des structures formées à

l'intérieur des cellules rappelant un petit arbre. S'ils traversent bien la paroi, ils ne pénètrent cependant pas la membrane plasmique de la cellule végétale, se contentant de provoquer une invagination de la membrane de celle-ci. Cela a pour effet d'accroître la surface de contact entre l'hyphe et la cellule de la plante et ainsi faciliter l'échange de métabolites entre les deux partenaires.

Les endomycorhizes arbusculaires sont formées uniquement par des champignons Glomérômycètes ayant perdu la reproduction sexuée.

Les hyphes s'étendent dans le parenchyme cortical de la racine, formant des vésicules contenant des réserves, et des structures ramifiées, les arbuscules. Ils se reproduisent donc uniquement asexuellement. Cependant les hyphes d'individus différents peuvent fusionner, ce qui rend possible un échange génétique et une forme de parasexualité

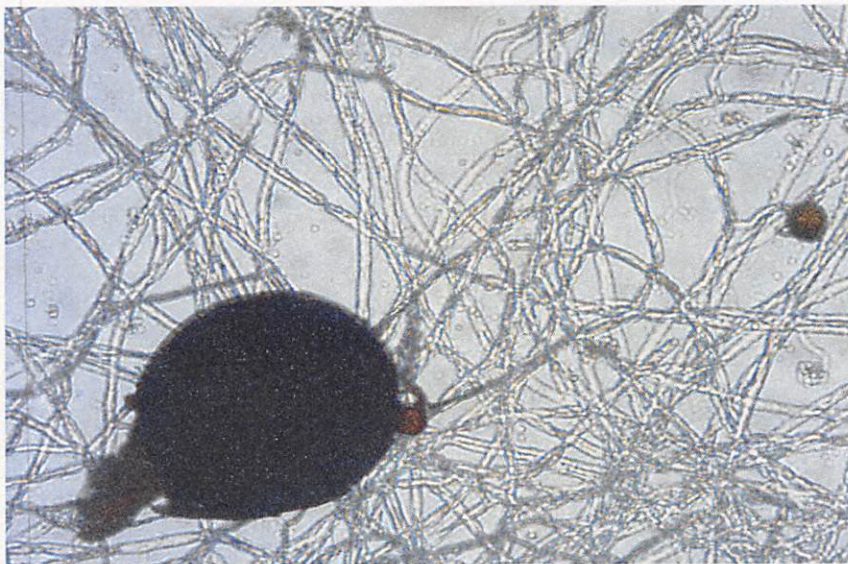


Figure 3: Les hyphes et spores. (Source: laboratoire de Pédologie/UNIKIS, 2013)

Ils sont aussi uniques au point de vue génétique puisque leurs spores possèdent plusieurs noyaux génétiquement différents :

- **Les endomycorhizes à pelotons intracellulaires** : les hyphes forment des amas dans les cellules corticales. Elles impliquent des basidiomycètes, en symbiose avec les Orchidacées. Les hyphes pénètrent à travers la paroi des cellules à l'intérieur des cellules du cortex racinaire en repoussant la membrane plasmique. La paroi des hyphes est donc en contact avec la membrane plasmique de la cellule racinaire, sans la traverser. La surface de

contact peut être augmentée par la formation de ramifications (=arbuscules). Les racines ne sont pas déformées.

➤ **Les endomycorhizes éricoïdes** : les hyphes forment des pelotons dans des racines transitoires de faible diamètre. Elles impliquent des Ascomycètes ou Basidiomycètes (en symbiose avec les Ericales).

➤ **Les ectendomycorhizes** : elles sont aussi appelées mycorhizes de type arbutoïde. Le champignon forme des pelotons intracellulaires et un manteau autour de la racine. C'est le cas chez les Ericales.

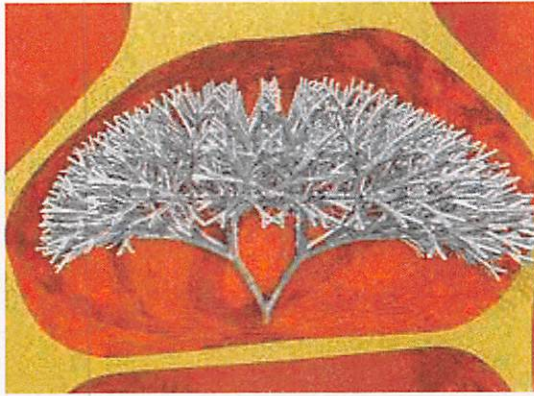
Les mycorhizes endotrophes sont très largement distribués dans le règne végétal et présentent des structures anatomiques très variées. Ainsi, les mycorhizes endotrophes des familles végétales orchidacées, graminacées et éricacées, ainsi que de plusieurs essences d'arbres feuillus, ont des structures anatomiques et sans doute aussi une physiologie différentes. Ces espèces de champignons n'appartiennent peut-être pas aux mêmes groupes taxonomiques.

Dans les mycorhizes arbusculaires l'échange se passe par les arbuscules et dans les mycorhizes éricoïdes à travers les hyphes enroulés à l'intérieur de la cellule hôte. Dans ces deux cas, l'échange se fait à un niveau intracellulaire (sans que la paroi cytoplasmique de la cellule hôte ne soit interrompue). Dans les ectomycorhizes, l'échange entre plante et champignon se fait à travers le réseau de Hartig, ce qui est un réseau extracellulaire pour la cellule plante.

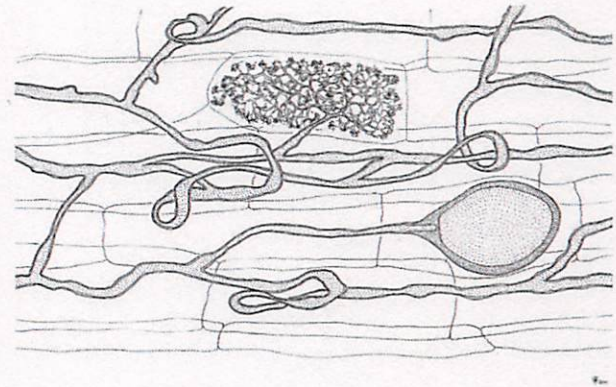
La nutrition directe par les racines des plantes résulte souvent dans des zones autour de la racine qui sont déficientes en substances nutritives. La conséquence est que l'absorption de nutriments par la racine est limitée par le taux auquel les nutriments savent « bouger » dans le sol. Les hyphes savent pousser en dehors de la zone de carence et parviennent donc à exploiter une zone nettement plus grande du sol pour approvisionner la plante en nutriments. Énergiquement et économiquement, c'est une méthode plus favorable pour exploiter le sol que de continuellement faire pousser le système racinaire.

Les endomycorhizes arbusculaires étaient les premières mycorhizes et les plus anciennes qui se sont développées. Il s'agit de champignons appartenant aux Glomeromycota. Ce sont des biotrophes obligatoires et elles sont associées avec environ 80 % des racines des plantes, y compris les plantes cultivées. Ce groupe était auparavant appelé : « mycorhizes vésiculaires arbusculaires », mais comme pas toutes les espèces ne forment pas de vésicules, on préfère

indiquer ce groupe comme endomycorhizes arbusculaires. Dans la littérature mycologique l'ancien terme reste la clé pour la consulter.



Figures 4 : Arbuscule dans une cellule du cortex



Des vésicules à l'intérieur des tissus de l'hôte.

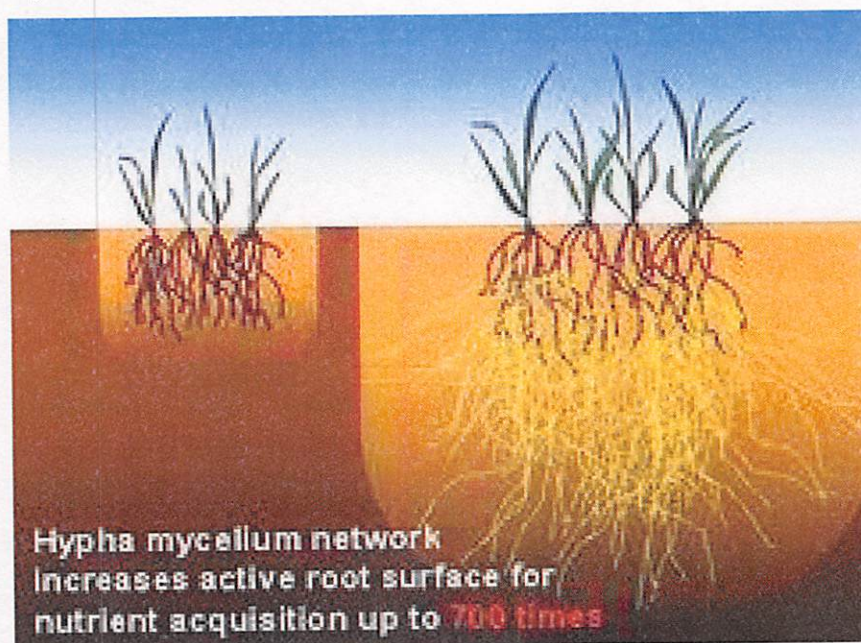
Il y a beaucoup de défis à étudier ce groupe. Les Glomeromycota sont des symbiontes obligatoires et il n'y a aucune espèce qui a pu être cultivé sans sa plante hôte. De la biomasse fongique pure peut être obtenu par la méthode de culture de racines transformées de plantes, mais le nombre d'espèces disponible sous cette forme reste très limité. Presque toujours, les échantillons ont été contaminés de nombre d'autres microorganismes, dont des champignons appartenant à d'autres phyla, ce qui a rendu le progrès des analyses phylogénétiques sur bases de plusieurs gènes difficile et très lent. Seuls les gènes du RNA ribosomal, encodé à partir du noyau, ont été acceptés largement comme marqueurs moléculaires (Ramelloo, 2012).

En termes écologiques ce groupe est probablement un des plus importants des Fungi par ce que ces AM Fungi forment des associations endomycorhiques avec environ 80 % des plantes terrestres. Cette association est essentielle pour le fonctionnement des plantes dans les écosystèmes. Les plantes dépendent sur cette association pour leur approvisionnement en minéraux et en eau, tâche qui est réalisée par le champignon dont le mycélium s'étend dans le sol. Dans les cellules de l'hôte, ces champignons forment des hyphes enroulés ou des structures ressemblent aux arbres, les arbuscules. Certains de ces Fungi forment aussi des structures de réserve, des vésicules. Du point de vue phylogénétique, ce groupe est important par ce qu'il forme d'une façon non ambigu les Fungi fossiles les plus anciens. Il est probable que la colonisation de la terre par les plantes n'a été possible que grâce à leur association avec les mycorhizes arbusculaires ou au moins ait été responsable pour le succès de la colonisation. La phylogénie multi gènes du projet AFTOL place les Glomeromycota dans une position basale comme groupe sœur des Ascomycota et des Basidiomycota.

Pour l'instant, on reconnaît dix genres dans les Glomeromycota. Le genre le plus important, ou au moins avec le plus grand nombre d'espèces (70 morphospecies) est le genre *Glomus*. *Gigaspora* et *Acaulospora* sont des genres apparentés.

Les endomycorhizes éricoïdes sont des mycorhizes du genre *Calluna* et *Vaccinium*, des plantes typiques des Finlandes mais aussi des montagnes et des volcans africains en altitude et des marécages. Les champignons impliqués dans cette association sont des Ascomycètes (e. a. des représentants du genre *Hymenoscyphus*). Les racines très fines de la plante sont couvertes d'un réseau assez ouvert d'hyphes ; le champignon digère des polypeptides et passe de l'azote à la plante hôte. Dans des situations extrêmes le champignon peut même fournir du carbone à la plante. Dans ce groupe on peut reconnaître deux sous-groupes.

Les endomycorhizes orchidées ressemblent aux mycorhizes des éricacées mais la nutrition en Carbone de la plante hôte est encore beaucoup plus prononcée, même par le fait que la jeune plante ne possède pas de chlorophylle, pas de substances de réserve et survit complètement sur le champignon. Un champignon caractéristique pour cette association est le genre *Rhizoctonia*. La majorité des arbres mycorhiziques ne savent pas pousser ou poussent très mal en absence de leur partenaire mycorhizique. Il existe des sols sans mycorhizes et avec mycorhizes.

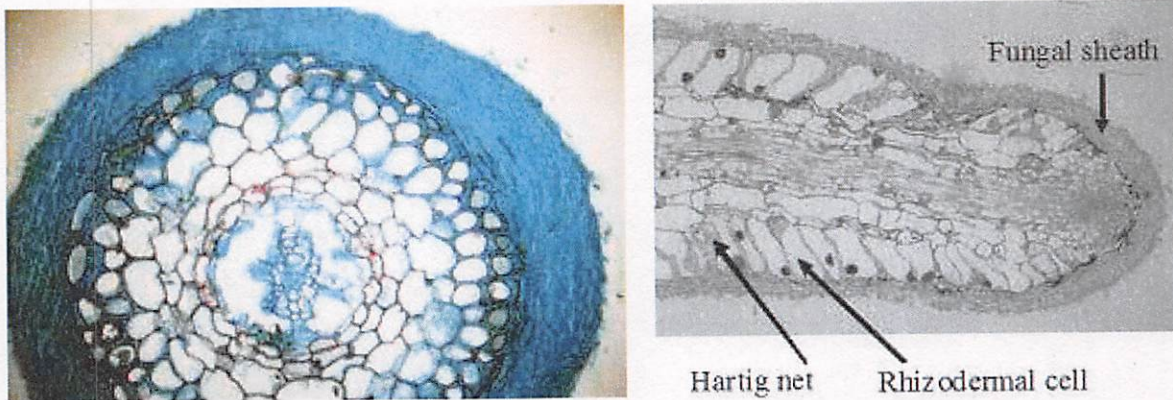


Figs :5 , Sans mycorhizes

Avec mycorhize

La présence des hyphes comme endomycorhize augmente la surface pour s'approvisionner en nutriments jusqu'à 700 fois. (Source : Ramelloo , 2013)

Les mycorhizes unissent aussi de plantes dans des communautés qui résistent mieux au stress que des plantes individuelles. Des nutriments peuvent être transférés d'une plante à une autre, étant connectés par un champignon qu'ils ont en commun. Le phénomène est bien connu d'une plante bien placée vers une plante vivant dans l'ombre. Les interconnexions mycorhiziques forment un réseau à travers lequel un transport de nutriments plante-plante, plante-champignon, champignon-plante est possible. Dans des sols pauvres les champignons mycorhiziques savent approvisionner de l'azote à leur plante hôte qu'ils ont obtenu par la digestion saprotrophique de matériel nutritif dans le sol. Les réseaux mycorhiziques jouent un rôle clé dans les communautés de plantes par le fait qu'ils savent faciliter et influencer l'établissement de jeunes plantes après germination, qu'ils changent les interactions entre plantes en fournissant des nutriments recyclés.



Figures : 6, Coupe transversale dans une racine avec ectomycorhizes.

La zone colorée en bleu intense est exclusivement formée par des hyphes du champignon. Les hyphes pénètrent dans le cortex de la racine, mais restent cantonnés entre les cellules. Les hyphes restent toujours en dehors du péricycle de la racine. A droite une coupe longitudinale. Le réseau des hyphes pénétrant entre les cellules du cortex forment, ce qu'on appelle, le réseau de Hartig.

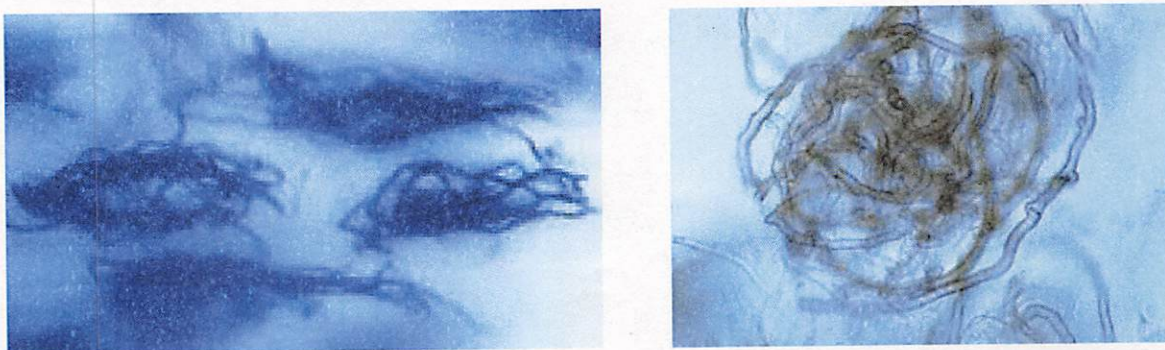


Figure 7 : Photos au microscope optique de mycorhizes des orchidées.

Ces mycorhizes sont des endomycorhizes. Les hyphes forment à l'intérieur de la cellule une masse d'hyphes. Sur la photo à droite on observe qu'il s'agit d'un basidiomycète, puisqu'il y a présence de boucles sur les hyphes. Source : Jan rammello, 2012

1.3. IMPORTANCE DE LA SYMBIOSE MYCORHIZIENNE

Les associations mycorhiziennes sont à la base de la biodiversité floristique et fongique des forêts tropicales humides, car certaines essences n'existent dans certains secteurs forestiers que grâce à la présence de champignons mycorhiziens. Cette association mycorhizienne permet à l'arbre d'augmenter sa capacité à puiser des ressources minérales en couvrant un très grand territoire, comparativement aux seules racines des végétaux, et en ayant accès à des nutriments inaccessibles aux racines. Les hyphes accélèrent l'altération des roches, permettant ainsi d'augmenter la disponibilité en minéraux. Les associations mycorhiziennes facilitent l'absorption plus efficace du phosphore et des oligo-éléments, surtout en sols pauvres dominant les forêts tropicales humides (ONGUENE, 1996).

D'autres recherches ont aussi permis de découvrir que lorsqu'un même champignon colonise des systèmes racinaires différents, il peut se produire des échanges de carbone d'une plante à l'autre, y compris entre des espèces différentes. La plante mycorhizée s'avère mieux nourrie et mieux adaptée à son environnement. Elle acquiert une protection accrue contre les stress environnementaux (Sylvia et Willias, 1992, Van der Heijden and Kuyper 2001) Ces adaptations socio- fonctionnelles des organes d'absorption des plantes apparaissent avoir été un phénomène universel puisque, actuellement, la quasi totalité des racelles supérieures, vivent et fonctionnent en symbiose avec des bactéries (nodules) et/ou des champignons (mycorhizes), (PALUKU, 2009)

1.4. Importance écologique

Les mycorhizes sont à l'origine des écosystèmes les plus complexes, et en particulier dans les forêts et notamment les forêts tropicales qui vivent et évoluent souvent sur des sols ingrats. Leurs mycéliums forment des réseaux interconnectés qui influencent le fonctionnement des écosystèmes (cycles biogéochimiques, composition des communautés végétales, alimentation carbonée des plantules pendant leur développement, modification de la compétition...) en permettant ou augmentant des flux importants de carbone organique et de minéraux (azote, phosphore, eau...) via le sol (en moyenne 30 à 40 % des minéraux captés par les marges du

réseau mycélien sont rétrocedés à la racine, cette dernière apportant 30 % des glucides photo synthétisés au champignon) (Francis Martin, 2010).

Ils constituent un des éléments les plus dynamiques de la symbiose mycorhizienne. Ces transferts sont si efficaces, qu'ils remettent en cause le concept de spécialisation par compétition pour les nutriments entre les plantes d'un écosystème, en particulier pour la capture des phosphates par les racines (ils permettent de se passer des fertilisants phosphatés) ou pour la résistance à la sécheresse. Ils sont pourtant encore peu exploités en horticulture, agriculture et Mycorhize forestier, ou pour la dépollution de certains sols pollués.

Certains groupes de champignons sont probablement des espèces-clé voire des « espèces ingénieur » qui influent sur les principaux processus écologiques du sol. Ils sont considérés par les pédologues comme des éléments essentiels de la diversité des communautés, laquelle est un facteur de stabilité et d'équilibre écologique (T. Helgason et al,1998).

Beaucoup de groupes-clés trouvés dans les sol (bactériens et de champignons mycorhiziens notamment) peuvent se connecter aux plantes (au moins 90 % des familles de plantes terrestres sont concernées) via des associations mycorhiziennes à arbuscules et jouer des synergies essentielles pour la survie et la productivité des plantes, contribuant à former un réseau écologique essentiellement souterrain, que certains biologistes ont nommé le "wood-wide web" (en référence au « World wide web »),(Francis Martin, 2010).

La plupart des champignons mycorhiziens sont soupçonnées d'avoir plusieurs hôtes voire une large gamme d'hôtes, ce qui semble se confirmer dans les milieux naturels, mais les études faites sur les sols arables cultivés montrent cependant que la diversité en champignons mycorhiziens y est « extrêmement faible par rapport aux sols forestiers » (T. Helgason et al, 1998).

La colonisation des systèmes racinaires, le potentiel « mycorhizogène » du sol et la « dépendance mycorhizienne » des plantes sont inversement corrélés avec la teneur de la solution du sol en ions phosphates ; De plus, ce résultat n'est pas lié à une forme d'engrais phosphaté, qu'il soit organique ou minéral, puisque les plantes n'absorbent que des ions en solution. L'enrichissement de cette solution devient directement responsable du fait que la plante bien nourrie ne favorise plus le développement des mycorhizes. Dans certaines

besoins de la plante hôte (Fortin et al 2008).

1.5. Importance bio mycologique

L'exploitation des mycorhizes est une technologie biologique qui permet de doter une plante d'un système racinaire plus performant et d'augmenter sa défense naturelle. De ce fait, les mycorhizes sont des :

- Bio-fertilisants

situations, les niveaux de phosphore atteints deviennent incompatibles avec l'installation des mycorhizes (Fortin et al, 2008)

Les mycorhizes interagissent aussi avec diverses bactéries du sol (dont *Pseudomonas*) qui peuvent être pathogènes, mais qui sont aussi appelées « bactéries auxiliaires à la mycorhization » (en anglais MHB: Mycorrhizal Helper Bacteria) tant elles jouent un rôle important.

Les mycorhizes interagissent aussi avec les autres mycorhizes et les autres champignons et avec certains prédateurs et parasites aériens des plantes :

- L'attaque des plantes par des herbivores provoque une modification rapide des communautés mycorhiziennes (les espèces demandant le moins de carbone sont favorisées) mais la nature de la population mycorhizienne modifie également (positivement ou négativement) les capacités de défense des plantes.
- Les communautés mycorhiziennes répondent (par modification des abondances spécifiques relatives) aux modifications de l'environnement suivant qu'elles soient plus ou moins favorables à l'hôte ou au symbiote et les communautés bactériennes sont modifiées par la variation des exsudats entre racines mycorhizées et non-mycorhizées.
- La diversité des champignons mycorhiziens à arbuscules du sol contrôle la composition des communautés végétales par un effet direct du champignon sur la valeur sélective des individus qu'ils colonisent (effet bénéfique, neutre, négatif ou même suppressif). Ce phénomène est lié à la préférence d'hôte existant pour chaque champignon. Cette préférence résiderait dans l'adéquation entre fonctions écologiques exercées par le champignon et besoins de la plante hôte (Fortin et al 2008).

1.5. Importance bio mycologique

L'exploitation des mycorhizes est une technologie biologique qui permet de doter une plante d'un système racinaire plus performant et d'augmenter sa défense naturelle. De ce fait, les mycorhizes sont des :

- Bio-fertilisants

- Bio- protecteurs
- Bio- régulateurs du développement des plantes.

La présence des champignons est à l'origine des écosystèmes les plus complexes et en particulier des forêts tropicales qui vivent et évoluent souvent sur le sol ingrat.

Les mycéliums des mycorhizes forment des réseaux interconnectés qui influencent la fonctionnalité des écosystèmes.

Certaines souches fongiques sont particulièrement bien adaptées pour la décomposition de sol et leurs revegetation (KAKUNI, 2012). Les Fungi ont d'une part une fonction de prédateur, d'autres parts ils sont la source de nutrition de beaucoup d'autres organismes dont des bactéries, d'autres champignons, de nématodes, des microarthropodes, ...

Les mycorhizes participent aussi dans :

- ✓ la stimulation de défenses naturelles des plantes,
- ✓ la diminution de la mortalité ou transplantation des plantules,
- ✓ l'accroissement plus rapide des cultures (KAKUNI, 2012)

En outre, Les champignons d'une façon générale, sont les plus évolués, et particulièrement les basidiomycètes semblent être les candidats idéals pour dégrader des déchets que nous produisons lors de nos activités en agriculture.

1.6. Importance géo mycologie

Les mycorhizes participent à la stabilisation du carbone et augmentent la fixation de CO₂ dans le sol. Certaines souches fongiques sont particulièrement bien adaptées pour la décomposition de sol et leurs revegetation.

Les scientifiques d'avant le 19eme siècle considéraient le sol comme un milieu abiotique. C'est grâce à l'introduction de l'expérimentation en science par (Saussure (1804). et les expériences en champignons par (Boussingault(1834) que la notion de la vie fut introduite en science du sol.

Vers la 2eme moitié du 19eme siècle, certains chercheurs mettent en évidence les 3 grandes processus biochimiques propre du sol qui sont :

- ✓ La décomposition des micros –organismes et formation d’humus,
- ✓ Production des nitrates après épandage des fumiers riche en Azote organique,
- ✓ Enfin, la fixation d’azote atmosphérique par les légumineuses,

Le sol apparait dans cet ensemble comme constituant « pont » de jonction entre les éléments telluriques, c'est-à-dire entre le monde minéral et vivant par :

- ✓ la résistance des essences forestières vis à vis de la sécheresse,
- ✓ la symbiose mycorhizienne de la fertilisation du sol caractérisée par la présence de diverses populations.

Un autre avantage des racines protégées par un manteau, comparé aux racines nues, est que le manteau peut accumuler et immobiliser les métaux lourds, ce qui est certes un avantage pour des plants poussant dans des sols pollués ou riche en Zn, Cadmium, arsenic...

Les mycorhizes favorisent la croissance des plantes dans des circonstances de stress hydrique. Cela veut dire que des champignons continuent à fonctionner parfaitement dans des circonstances où les plantes supérieures seraient déjà fanées et se trouveraient sur le point de mourir.

Signalons que les mycorhizes peuvent protéger les plantes contre des pathogènes. Les ectomycorhizes sont particulièrement apte à cela et ils ont plusieurs stratégies pour combattre les attaques de pathogènes :

- ✓ excrétion de substances antimycotiques et antibiotiques. 80 % des espèces du genre *Tricholoma* produisent des antibiotiques et le genre *Boletus* et *Clitocybe* produisent des substances antimycotiques ;
- ✓ ils stimulent la croissance et le développement d’autres organismes qui sont eux-mêmes un facteur limitant sur le développement de pathogènes ;
- ✓ ils stimulent la plante à produire elle même des antibiotiques sous contrôle du champignon mycorhizique ;
- ✓ protection structurelle par le manteau épais formant barrière mécanique contre les pathogènes des plantes qui ont besoin d’un accès aux tissus de la plante hôte pour pouvoir l’infecter, alors que ces pathogènes ne sont généralement pas capables d’infecter le champignon.

Mais aussi les endomycorhizes arbusculaires augmentent la résistance contre les infections de pathogènes, particulièrement contre des pathogènes racinaires, comme *Fusarium oxysporum* et des Oomycètes comme *Phytophthora parasitica*. Il faut noter que : un champignon racinaire pathogène et un champignon arbusculaire en se complétant ensemble pour la même racine, c'est le pathogène qui gagne généralement, ayant une croissance beaucoup plus élevée que le mycorhize. Si par contre l'association mycorhizique est déjà établie, l'effet du pathogène est fortement réduit. Comme règle on peut dire qu'une infection mycorhizique améliore la croissance d'une plante par une augmentation des nutriments disponibles :

- ✓ Par une augmentation de la surface des organes absorbants dans le sol (c'est en premier lieu le champignon qui absorbe et pas les poils absorbants);
- ✓ En mobilisant des nutriments qui ne sont accessibles pour la plante par ce qu'ils doivent être digérés ou rendu solubles par les enzymes du champignon.

Les nutriments sont obtenus par des hyphes, parfois des cordons mycéliens ou des rhizomorphes qui sont capables d'exploiter un volume beaucoup plus grand de sol qu'une racine pouvait le faire. L'efficacité pour transporter des nutriments par le champignon est remarquable, mais le manteau de mycélium autour de la racine peut jouer aussi le rôle de structure de réserve pour les nutriments venant du sol, les lâchant, les transportant vers la plante qu'au moment nécessaire.

1.7. Les travaux antérieurs

Les études antérieures se rapportant à notre thème de travail font défaut. En 2012, EUNGI a travaillé sur : « La contribution des mycorhizes dans le système de culture à Kisangani »

CHAPITRE 2. MATERIELS ET METHODES

2.1. MILEU D'ETUDE

Cette étude a été menée dans la ville de Kisangani, dans le Secteur LUBUYA BERA situé à 15 Km de la ville de Kisangani dans le site d'expérimentation de l'Université de Kisangani à simi simi.

Coordonnées géographiques du site :

- ✓ Altitude 388 m
- ✓ La Longitude : $00^{\circ} 33' 04,6''$ N,
- ✓ La Latitude : $025^{\circ} 05' 15,6''$ E

La ville de Kisangani est située dans la partie Nord-est de la cuvette congolaise à $0^{\circ}31' N$ et $25^{\circ}11' E$, à une altitude moyenne de 396 m (Bultot, 1954).

Elle est le chef lieu de la Province Orientale. Elle s'étend sur une superficie de 1.910km^2 . Son relief est caractérisé par les plateaux unis par des faibles pentes et terrasses.

Selon la classification de Köppen (Köppen, 1928) Kisangani appartient au type climatique Af. Les critères de Köppen différencient les climats suivant quelques caractéristiques précises. On trouve en R.D.Congo les climats du type A, du type C, du type E (Vandenput, 1981).

la R.D.Congo s'inscrit dans les climats de type A comprend les climats des zones où la température moyenne diurne du mois le plus froid est supérieur à 18°C . On peut distinguer les climats Af, Aw, As, Am. Le climat Af caractérise les régions dont la hauteur mensuelle des pluies du mois le plus sec est supérieure à 60 mm (cuvette forestière centrale). L'insolation est de 1925 heures, soit 45 % en moyenne de la radiation totale (VAN WAMBEKE et LIBENS, 1959).



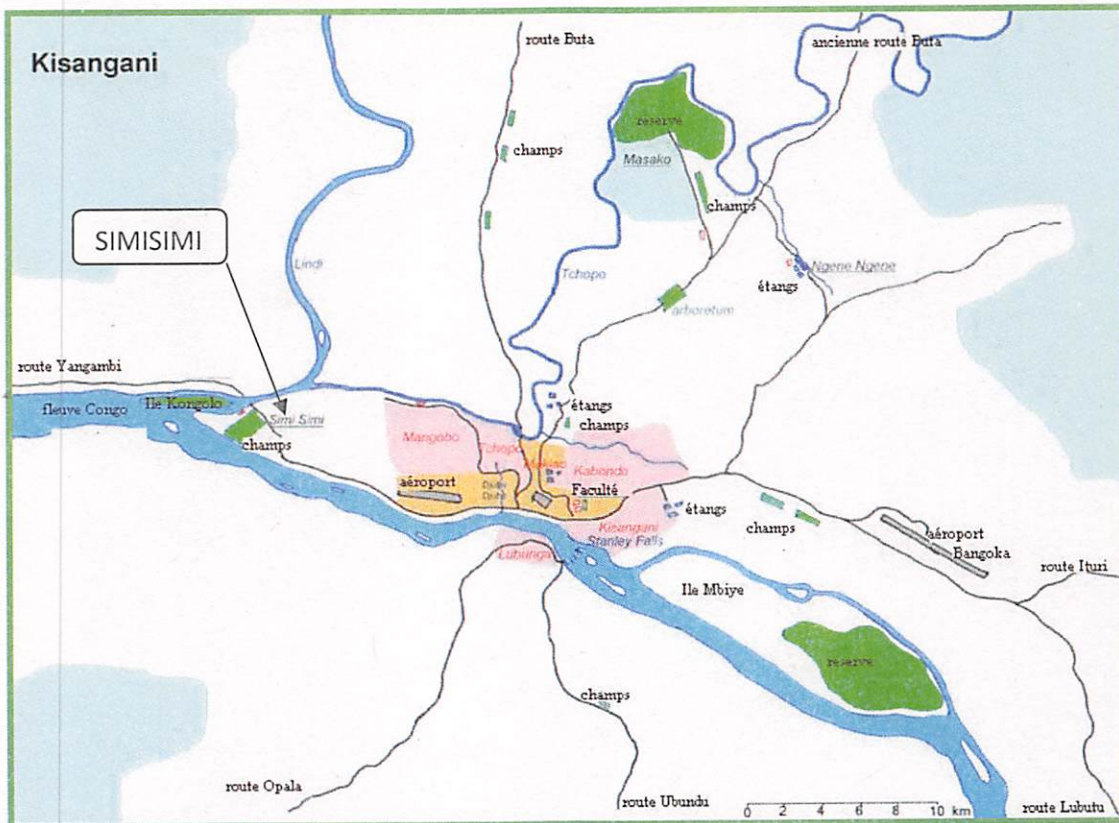


Figure:8. Présentation Géographique de la ville de Kisangani et ses environs (Google Earth 2004 Modifié). Source Kasaka, 2011.

2.2.MATERIELS

A. Matériels Biologiques

- ✓ Les échantillons de sol
- ✓ les racines des Arachides et des Maniocs,
- ✓ *Pennisetum purpureum* (Mulch)
- ✓ Engrais minérales



Figures :9 Prélèvement des échantillons et Traitement par les mulch à simi-simi du sol



Figure :10, source :laboratoire du pédologie,2013.

B. Matériels Non Biologiques

- Les lames et les lamelles,
- Les tubes à essai et les portoirs,
- Un bain marie,
- Deux tamis de 2mm et 63 μ m
- Une centrifugeuse,

- Une Balance à précision marque pnc de 1000g pour le poids du sol,
- Appareil photos numériques
- Un Véhicule ou une Moto pour le déplacement,
- Une tarière pour prélever les échantillons du sol,
- Les sachets pour le transport des échantillons du sol,
- Deux microscopes, un à objectif renversé et un autre connecté à l'Ordinateur pour la capture des photos en direct,
- Les boîtes de pétri,
- Papier mouchoir
- Béchets
- Les flacons et tubes à essais
- Pied à coulisse
- Les pinces
- Ciseaux.

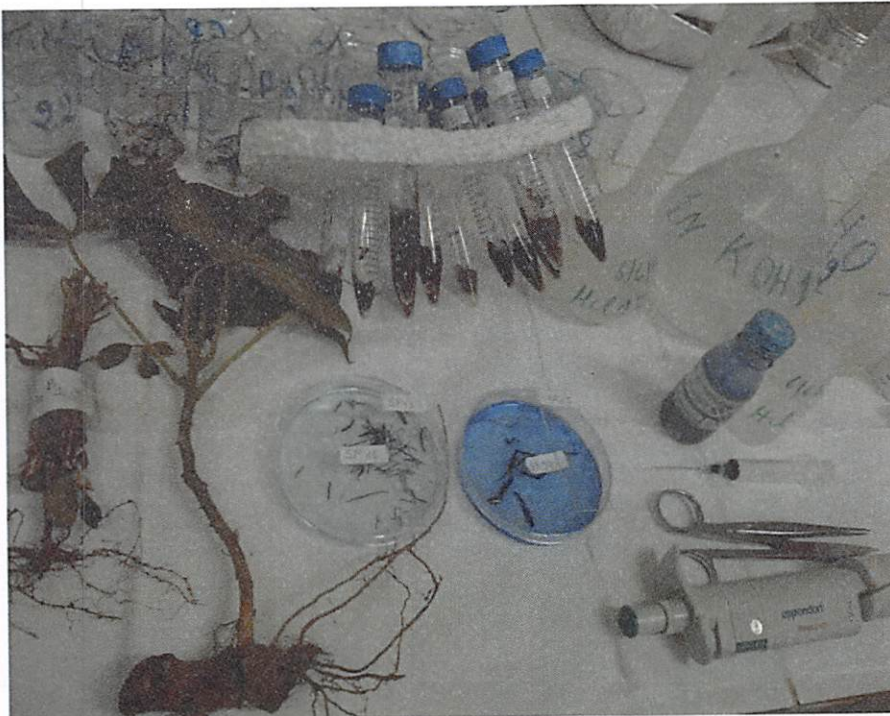


Figure :11 .Matériels biologique et non biologique

C. Les produits à utiliser :

- le sucre
- KOH 10 % ;
- Le bleu de méthyle (Color Index 42780) 1 % et acide acétique 3 % ;
- De l'eau acidifiée : 9 ml d'eau distillée + 1ml d'acide chlorhydrique de 1 %.
- L'huile à immersion

II. 2. MÉTHODE

Le travail a commence par l'installation d'un dispositif comprenant 4 blocs, chaque bloc avec 6 parcelles et chaque parcelle comportant chacune 4 sous- parcelles(SP). De 96 sous- parcelles nous avons prélevé 96 échantillons composites. De ces échantillons composites, 9 échantillons représentatifs ont été sélectionnés pour notre analyse au Laboratoire. Les sous parcelles retenues sont : SP4, SP17, SP26, SP30, SP57, SP65, SP74, SP76 et SP86

DISPOSITIF DE SIMI- SIMI (94m x 110 m)

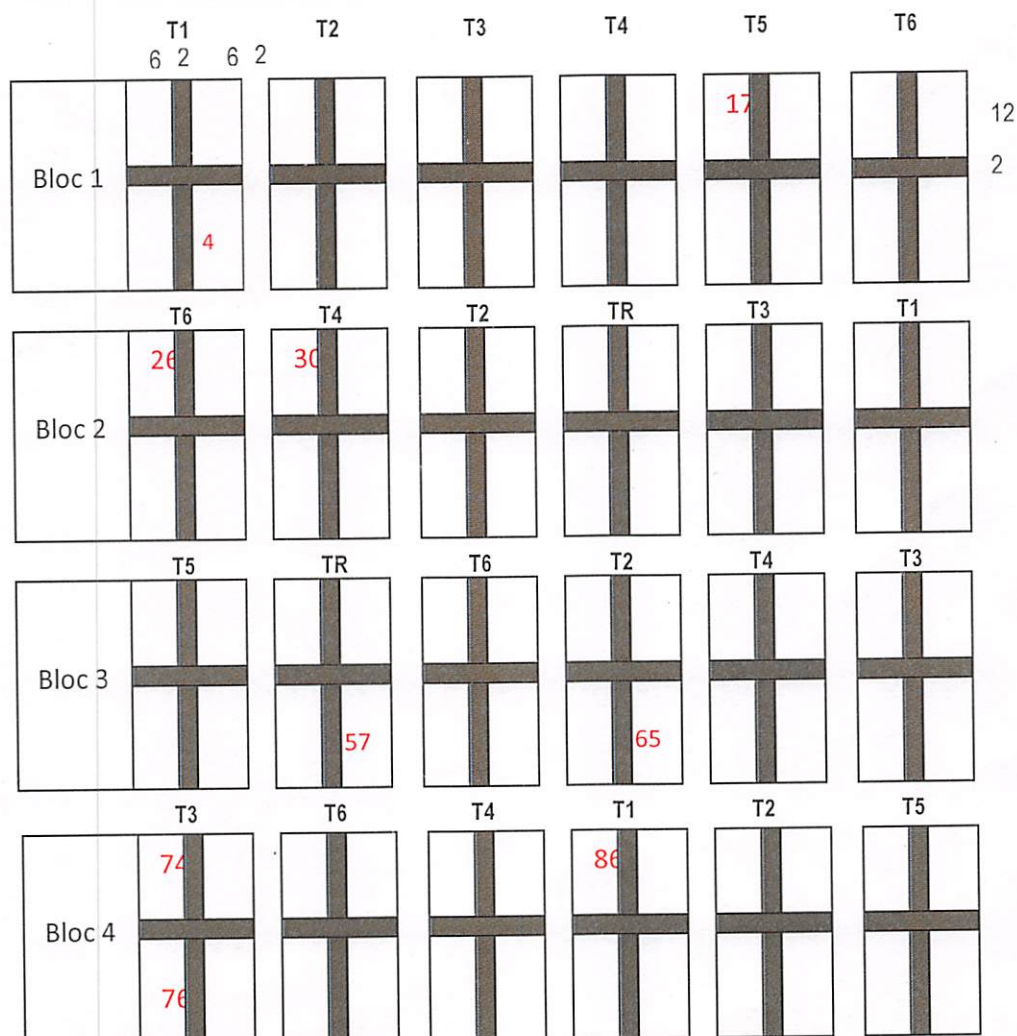


Figure12 : Dispositif de Simi simi (Légende : T :Traitements 1,2,3,4...)

Deux techniques sont appliquées pour la visualisation ou détection de mycorhizes et l'isolement des spores à partir du sol et les observer aux microscopes.

II.3. METHODOLOGIE DU TRAVAIL

A. Techniques de coloration des racines



Figures 13 , source :laboratoire du pédologie,2013.

Principe

Il s'agit de décolorer toutes les cellules (de la racine et des mycorhizes s'elles sont présentes) en conservant leurs parois, puis de colorer les parois des cellules du champignon grâce à un colorant bleu. Les champignons concernés ici sont des Eumycètes du groupe des Gloméromycètes ou Glomales.

Matériel

- ✓ Racines des Arachides, des maniocs et des *Pennisetum purpureum*.
- ✓ Eviter de tirer les racines ou d'arracher les plantes du sol, il vaut mieux les extraire par une tarière.

Procédure

- Laver précautionneusement les racines et prendre les plus jeunes (minces), Les mettre dans un tube à essai avec la potasse 10 %, et chauffer au bain-marie à 90° C durant 15 Minutes ou les laisser toute une nuit dans KOH.
- Cette opération détruit le contenu des cellules végétales et décolore les tanins des racines ligneuses. La solution devient alors brun-rouge.

- Jeter la potasse et filtrer dans un tamis, rincer avec l'eau et ensuite acidifier avec HCl à 1% pour neutraliser le KOH.
- Ajouter l'Ancre bleu et remettre dans le bain marie à 90° C pour 10 ou 15 minutes.
- Filtrer à nouveau dans un tamis et rincer à l'eau distillée ou l'eau de robinet.
- Mettre dans les flacons et ajouter 5ml de vinaigre ou coca-cola pendant 12 heures pour la décoloration
- Laver avec de l'eau de robinet
- Mettre dans la boîte de pétri contenant de l'eau pour l'observation directe.

L'ancre bleu marque le champignon mycorhizien, présent dans tout le parenchyme cortical, sans jamais entrer dans le cylindre central. On distingue des arbuscules à l'intérieur de certaines cellules racinaires (structure d'échange entre partenaires) et des vésicules entre les cellules (souvent, une goutte lipidique dedans : c'est une structure de réserve pour le champignon). On voit parfois aussi des hyphes externes, qui ne sont jamais cloisonnés. Il s'agit donc des mycorhizes à arbuscules. La détection des mycorhizes a été faite par la méthode de dénombrement des mycorhizes, en coupant les racines en diagonal de 12 à 15cm de longueur en suite, les coupe encore en petit morceau de 1à2cm

B. Technique d'isolement des spores

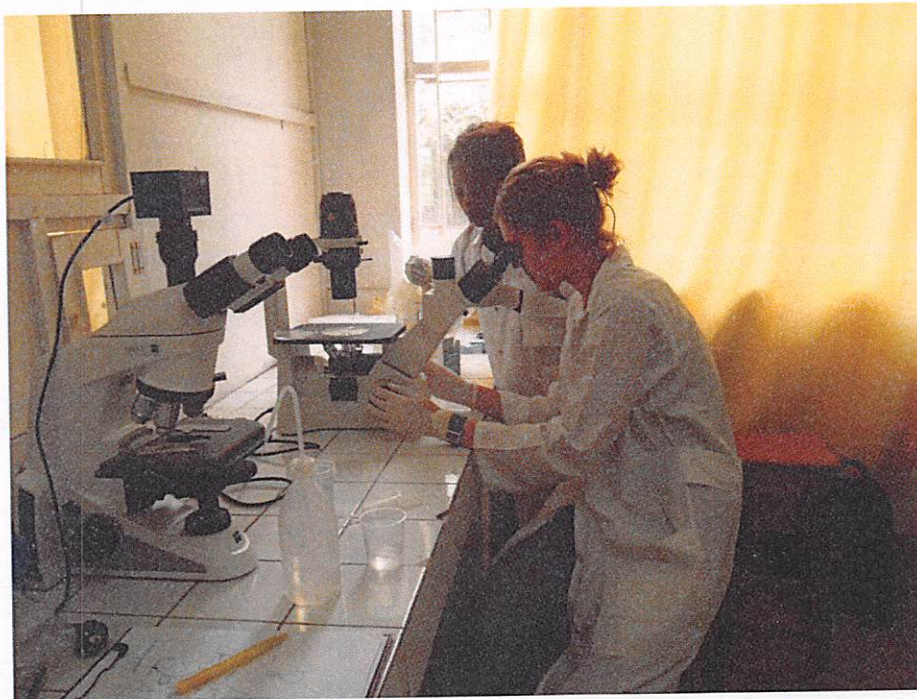


Figure14 :laboratoire de phytotechnie/UNIKIS

Principe

Prélèvement du sol pour isoler les spores, les observer et en fin les capturer à l'aide d'une pince appropriée.

Figure 4 : Observation de mycorhizes au laboratoire de la biotechnologie

Matériels

Sol contenant les racines, deux béchers, trois filtres à micro mailles (Tamis à maille fins de 250, 150, et 50 μm), les boîtes de pétris, les tubes à essai et une centrifugeuse.

Procédure

- ✓ Peser 100g de terre dans le premier bécher, malaxer et laisser reposer pendant 50 secondes et puis filtrer avec le tamis de 1mm dans le deuxième bécher,
- ✓ - Récupérer le liquide et filtrer pour la seconde fois avec le tamis de 63 μm ,
- ✓ Récupérer le déchet ou filtrat et le placer dans les tubes à essais pour la centrifugation,
- ✓ Centrifuger pendant 10 minutes, récupérer le culot puis mélanger avec le sucrose (solution du sucre à 30 % = 30mg de sucre +70 ml d'eau) suivant la quantité de culot,
- ✓ Centrifuger de nouveau pendant 10 minutes,
- ✓ Filtrer avec le tamis de 63 μm et retenir le déchet, le laver et le placer dans une boîte de pétri pour l'observation au microscope à objectif renversé

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. RESULTATS

3.1.1. DETECTION DES MYCORHIZES

La Présences des mycorhizes et leurs nombres dans les 15 Cm de racines dans les 9 sous parcelles analysées sont présentés dans le tableau 1 ci-dessous.

S/PARCELLE	BLOC	DETECTION (+ ou -)	Nbre MYCORIZES	%
SP4	1	+	89	24
SP17	1	+	65	17
SP30	2	+	40	11
SP26	2	+	67	18
SP57	3	+	50	13
SP65	3	+	15	4
SP74	4	+	13	3
SP76	4	+	29	8
SP86	4	+	9	2
TOTAL			377	100

Tableau 1 : Présences des mycorhizes et leurs nombres dans les 9 sous parcelles analysées.

Il ressort de tableau 1 que les mycorhizes sont présents dans toutes les 9 sous parcelles analysées. Au total 377 mycorhizes ont été détectés dans les racines, dont 89 mycorhizes soit 24 % pour la sous parcelle 4 suivi de SP 30 avec 67 mycorhizes soit 18% et SP 86 vient en dernière position avec 9 mycorhizes, soit 2%. Il est à remarquer que dans la SP4 les mycorhizes sont plus abondants que dans les autres SP. Cela s'explique par le fait que la SP4 se trouve au pied de la termitière. Le bas de la termitière favorise une forte activité des microorganismes telluriques en général et des mycorhizes en particulier car il y a une forte accumulation des matières organiques.



Figure 15 :Detection de mycorhizes par coloration de racines ,
Source :laboratoire du pédologie /UNIKIS

3.1.2. DENOMBREMENT DES SPORES

3.1.2.1. Répartition des spores selon les couleurs

Le graphique 1 illustre la répartition des spores dans des différentes sous parcelles analysées.

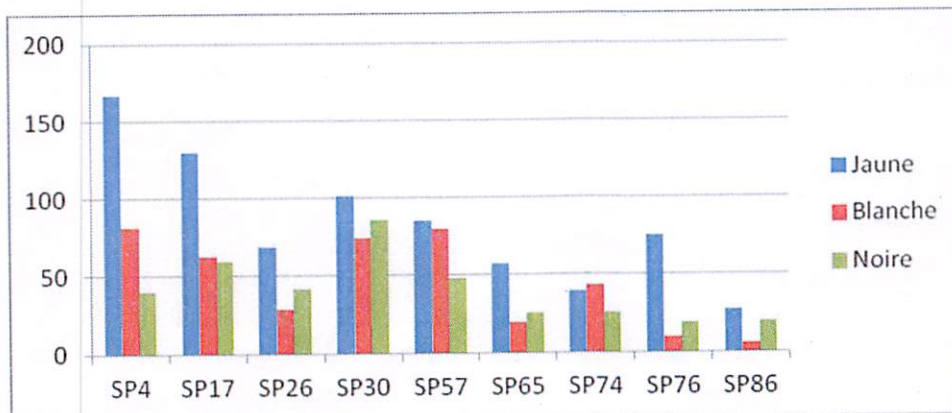


Figure16 : Répartition des spores selon les couleurs

Le graphique ci-dessus montre la répartition des spores dans des différentes sous parcelles. La quantité de spores obtenues au cours de notre expérience montre une forte abondance des spores jaunes dans toutes les sous parcelles et leur dominance dans la sous parcelle 4. Ceci s'explique par le fait que les spores jaunes sont toujours les plus abondants dans les écosystèmes moins perturbés. Cette abondance se justifie aussi par la présence de cette sous parcelle à coté de la termitière. Le même cas se voit pour les sous parcelles SP 17, SP 30 et SP 76. Les spores Blanchâtres viennent en seconde position suivi des spores noirâtres qui sont parfois absent dans certains endroits.

Les quantités importantes des spores mycorhiziennes se remarque aussi pendant la période pluvieuse conférant beaucoup d'humidité au sol, c'est vraiment un moment propice pour le développement de la flore mycologique.

3.1.3. Répartition des spores selon les sous parcelles

Après analyse, 1519 spores ont été dénombrés au total et trois catégories des spores ont été trouvées. il s'agit des : spores des couleurs : Jaune, Blanche et Noire.

La figure 2 : présente les pourcentages totaux des Spores par couleurs.

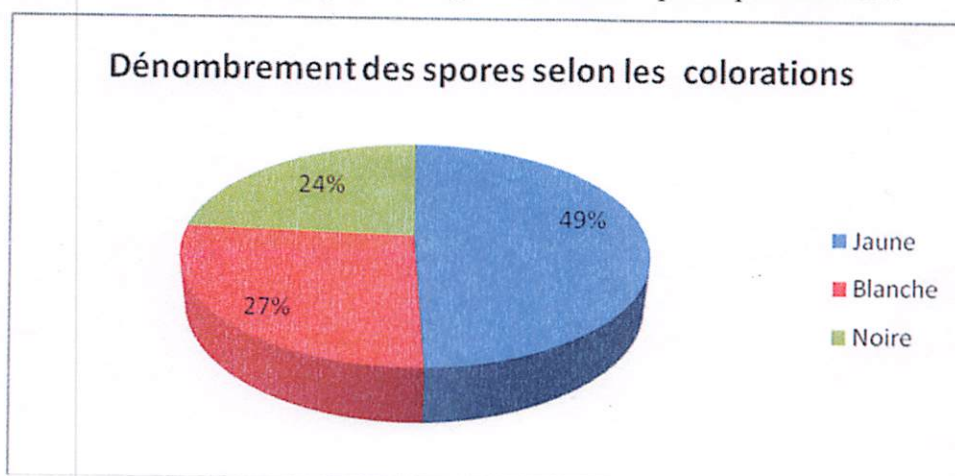
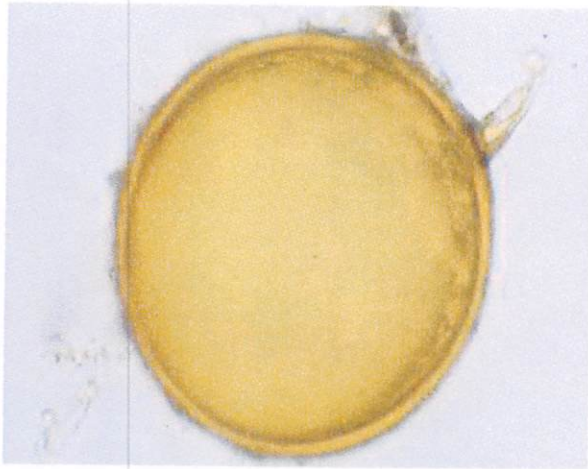


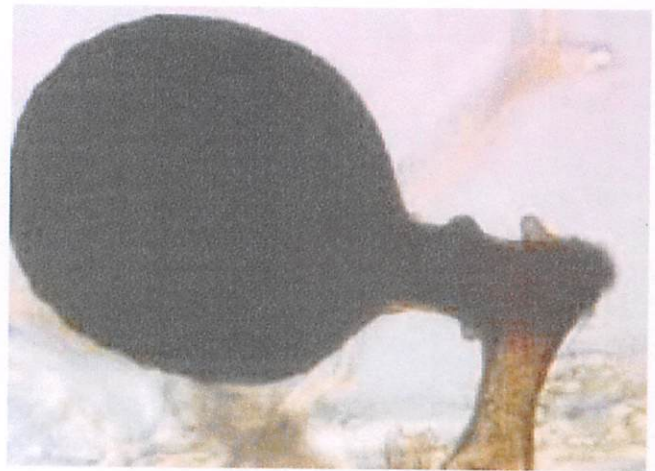
Figure 17 :Dénombrement des spores selon les colorations

La figure 18 ; montre que les Mycorhizes de couleur Jaunes sont plus abondant avec 750 spores, soit 49% suivi des mycorhizes de couleur Blanche avec 407 spores, soit 27% et les spores de couleur noire sont peu abondantes avec 362 spores, soit 24%.

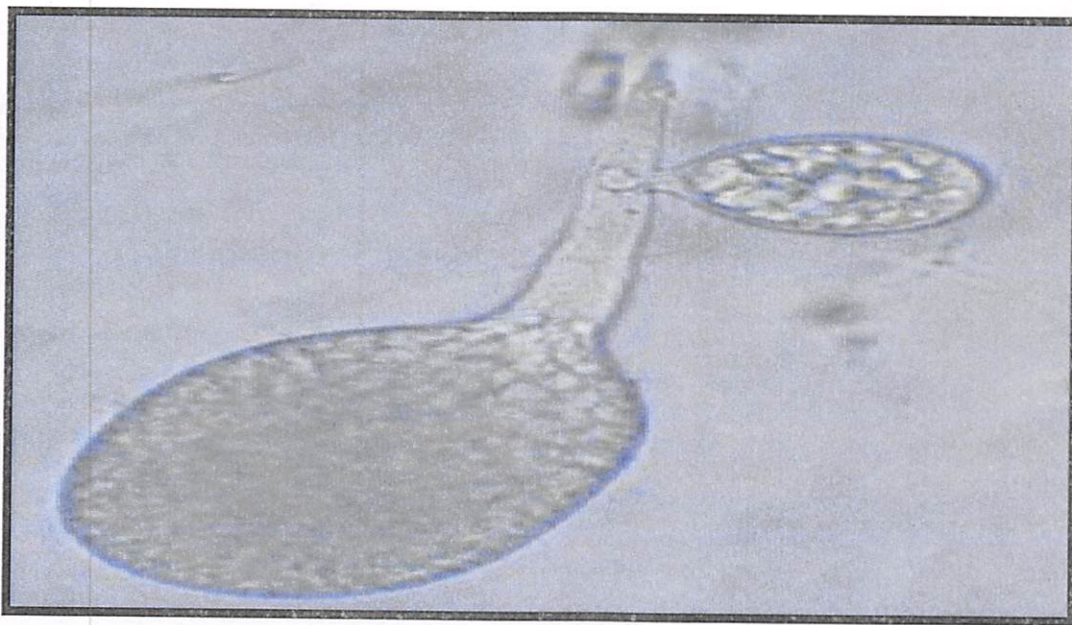
De ces trois couleurs de spores caractérisées, nous avons identifiées 3 Genres de spores mycorhiziennes à l'aide de clé de détermination de ces derniers. Il s'agit des Genres *Glomus* (couleur jaune), Genre *Gigaspora* (couleur blanche) et du Genre *Acaulospora* (couleur noire) .



Glomus



Gigaspora



Figures 18 : les spores

Acaulospora

Le Genre *Glomus* comprend les espèces suivantes :

- *G. clamydospores*
- *G. paraglomus*,
- *G. funneliformis*,
- *G. sclerocystis*,

Le Genre *Gigaspora* comprend :

- *G. scutelospora* ;

- G. racocetra,
- G. dentiscutata,
- G. centraspora

Le genre Acaulospora avec :

- A . ambispora,
- A. achaeospora
- A. entrophospora
- A. Scintillans.

3.1.4. Effet des Mycorhizes sur les cultures de Manioc

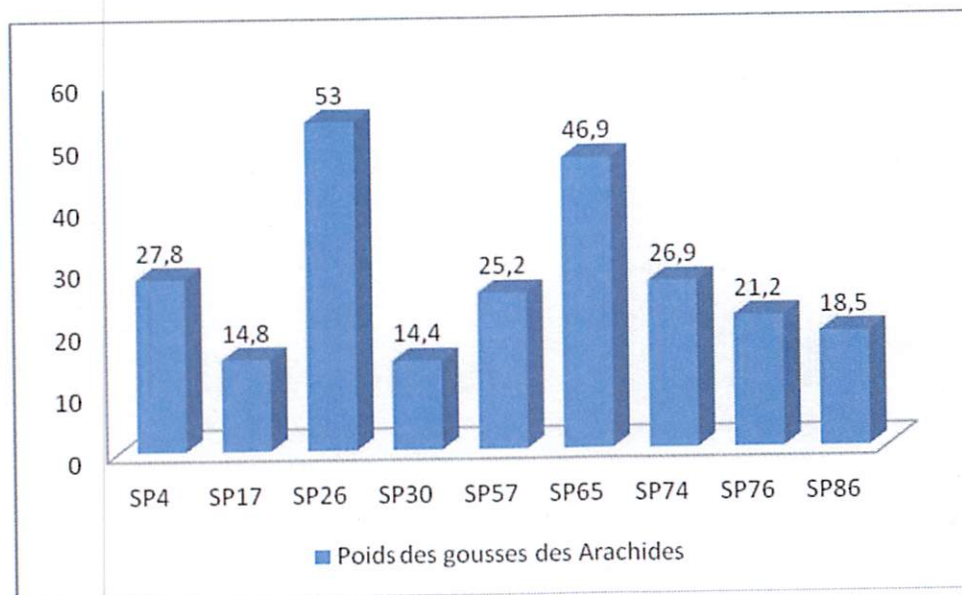
La figure suivante nous donne les hauteurs maximales des pieds de maniocs par sous parcelles.



Figure 19 : Donne les hauteurs maximales des pieds de maniocs par sous parcelles.

Le présent paragraphe donne Les hauteurs des plants de maniocs après 3 mois. La sous parcelle 76 a donné un pied le plus long 2m de hauteur que les autres ; suivi SP4 avec 1,55m et SP26 à 1,5m ... ; Ces résultats s'explique par leur proximité à cote de la termitière toujours et l'abondance de mulch en décomposition dans ces sous parcelles. Notons aussi que cette hauteur a eu un effet positif sur la biomasse de cette culture et par conséquent il y aen aura aussi une bonne production de Manioc.

3.1.5. Effet des Mycorhizes sur la production des Gousses d'Arachides.



La figure 20 : Montre les poids des gousses d'un pied d'Arachides par sous parcelles

Ce graphique présente les poids des gousses d'un pied d'Arachide par sous parcelle. La sous parcelle 26 donne le poids le plus élevé, soit 53g par rapport aux autres sous parcelles analysées, suivi de la sous parcelle 65. La sous parcelle 30 vient en dernière position avec 14,4g pour le pied le plus performant.

Cette différence s'expliquerait par les différentes structures de sols pour chacune des sous parcelles.

La faible présence des Mycorhizes et leurs spores s'explique par le fait que le site expérimentale de Simi Simi est un écosystème perturbé car différent travaux ont été réalisé avant la plantation et pendant le sarclage. Beaucoup de spores ont été retrouvé morts au cours de notre analyse, ceci s'expliquerait par une faible couverture du sol par les plantes et peut être la mauvaise conservation de nos échantillons après prélèvement.

3.2. CONCLUSION ET DISCUSSION

Notre discussion se portent sur :

1. La détection et dénombrement des souches mycorhizienne sur le site d'expérimentation à simi- simi,

Pour se faire, un dispositif expérimental de 94m x110m qui comprend quatres blocs partagent à 6 parcelles par blocs, divisent en 96 sous parcelles dont Ecartements ou la densité

- Manioc monoculture : 1mx1m
- Manioc avec arachide:
 - manioc : 2 m x 0,5 m
 - Arachide : 40 cm x 20 cm

Les résultats obtenus ont montrer ce qui suit :

1) En ce qui concerne la détection de mycorhizes

Il ressort de tableau 1 que les mycorhizes sont présents dans toutes les 9 sous parcelles analysées. Au total **377 mycorhizes** ont été détectées dans les racines, dont 89 mycorhizes soit **24 %** pour la sous parcelle 4 suivi de SP 30 avec 67 mycorhizes soit **18%** et SP 86 vient en dernière position avec 9 mycorhizes, soit **2%**. Il est à remarquer que dans la SP4 les mycorhizes sont plus abondants que dans les autres SP.

2) Pour le dénombrement des spores

Après analyse, **1519 spores** ont été dénombrés au total et trois catégories des spores ont été trouvées. il s'agit des : spores des couleurs : Jaune (glomus), Blanche (gigaspora) et Noire (acaulospora).dont les Mycorhizes de couleur Jaune sont les plus abondant avec **750 spores**, soit 49% suivi des mycorhizes de couleur Blanche avec **407 spores**, soit 27% et les spores de couleur noire sont peu abondantes avec **362 spores**, soit 24%.

3) Effet des Mycorhizes sur les cultures de Manioc et de la production des Gousses d'Arachides.

Les hauteurs des plants de manioc après 3 mois. La sous parcelle 76 a donné un pied le plus long de 2m de hauteur que les autres ; suivi SP4 avec 1,55m et SP26 à 1, 5m ..., et les poids des gousses d'un pied d'Arachide par sous parcelle. La sous parcelle 26 donne le poids le plus élevé, soit 53g par rapport aux autres sous parcelles analysées, suivi de la sous parcelle 65. La sous parcelle 30 vient en dernière position avec 14,4g pour le pied le plus performant.

Nouveau outil biologique de perceptives ; d'innovation et d'amélioration des systèmes de cultures conduisant :

- A la maximisation des rendements, par la symbiose, interaction entre racine-mycorhize, racine-sol va permettre d'améliorer la croissance des cultures par des moyens biologiques tout en réduisant considérablement l'apport d'engrais chimiques de synthèse et des pesticides parce que les mycorhizes étant un acteur clé des services écosystémiques pour l'agriculture, éco-compatible jouent déjà ces rôles pour la sécurité alimentaire et la gestion de ressources naturelles durables.

De ce qui précède ; nous suggérons ce qui suit :

- ✓ D'étudier comment les différentes espèces se distinguent-elles en termes d'utilité pour la plante hôte de cycles des éléments nutritifs ?
- ✓ De chercher à comprendre le rôle que jouent les mycorhizes pour les cycles des éléments nutritifs et la productivité des plantes pour l'exploitation agricole.
- ✓ Quel est l'impact du changement des conditions climatiques a-t-il sur les effets des champignons mycorhiziens ,
- ✓ la propriété positive des champignons mycorhizes peut-elle être favorisée de manière ciblée par les techniques culturales spécifiques comme le semis direct ?

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Buyck, B., 1994. Les champignons comestibles de l'ouest du Burundi. Bruxelles, Belgique, AGCD, Publication agricole n° 34, 123 p.
- Chilvers, G. A. & Pryor, L. D. 1963. The structure of eucalypt mycorrhizas. *Austr. Jour Bot.*, 13: 245-259.
- De Kesel, A., Codjia, J.T.C., Yorou, S. N., 2002. Guide des champignons comestibles du Bénin. Centre International d'Ecodéveloppement Intégré & Jardin botanique National de Belgique, Coco Multimultimedia, 274 p.
- Egli, S. et Ivano, B., 2002. Les mycorhizes: une fascinante biocénose en forêt, Institut fédéral de recherches WSL, CH-8903 Birmensdorf, ISSN, 1012-6554, 8p.
- Eungi, A., 2012. La contribution des mycorhizes dans le système de culture à Kisangani, TFC, Faculté des sciences agronomiques, Université de Kisangani. 47p.
- Fortin, J. A., Plenchette et Piché, Y., 2008. "Les mycorhizes, la nouvelle révolution verte", quae, 96p.
- Francis, M., 2010. « Plantes et champignons, des associations à bénéfice réciproque ». Conférence à la Cité des Sciences et de l'Industrie, 26p.
- Garbaye et Guehl., 1997. Growth response of eucalypts in the Congo to ectomycorrhizal inoculation. *Forest Ecology and Management*, 24: 15 I-I 57.
- Jan Rammelloo, 2013. Notes de cours de Mycologie, Faculté de Gestion des ressources naturelles renouvelables, inédites.
- Kakuni, 2012. Notes de cours de Biologie du sol, Faculté de Gestion de ressources naturelles renouvelables, Université de Kisangani, inedites.
- Kelley, A. P., 1950. Mycotrophy in plants. Waltham, Mass., *Chronica Botanica*. 56p.
- Köppen W., 1936. In: Köppen W. & Geiger R. (Eds). *Das geographische system der klimete. Handbuch der klimatologie*, Berlin.
- Moango, A., 2011. Notes de cours de Pédologie générale, Faculté de Gestion de ressources naturelles renouvelables. Université de Kisangani, inedites.
- Moser, M. 1967. Die ekotrophe Ernährungsweise ander waldgrenze. *Mitt. Forst, Wien*, 75:357-380.

- Onguene, R.A., 1996. Abondance et distribution des associations mycorhiziennes en forêt tropicale humide du sud Cameroun, Séminaire FORAFRI de Libreville, Programme Tropenbos Cameroun, 13p.
- Paluku. M., 2009 l'étude microbiologique (champignons mycorhiziens) en relation avec les diverses situations d'extension et régression observées dans différents peuplements de *Gilbertiodendron dewevrei* à yoko. DES/DEA/ MASTER ,Fac Sc.UNIKIS.62p
- Peyronel, B. & Fassi, B. 1957. Micorrize ectotrofiche in una cesalpiniea del Congo Belga. Atti della Accademia delle Scienze Torino, 9p.
- Singer, R., 1963a. Der Ektotroph, seine Definition, geographische Verbreitung und Bedeutung in der Forstökologie. Mykorrhiza, Intern. Mykorrhizasymposium, Weimar, 12-14.
- Smith, S.E et Read, D. J. 1997. Mycorrhizal symbiosis, 2ed. Academic, London, 45p.
- Sylvia, D. M ; Williams, S. E., 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizea and environnement stress. In Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. G.J. Bethlenfalvay et R.G. Linderrman Eds ASA Special Publication Number 54, Madison Wisconsin, 101-124.
- Trappe, J. M., 1962. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. Bot. Rev., 28: 528-606
- Helgason, T. J., Daniell, R., Husband, A. H., Fitter & Young, J. P. W. 1998. *Ploughing up the wood-wide web ?*, Nature, Scientific Correspondence Nature 394, 431 (30 July 1998) ; Doi:10.1038/28764 (Résumé ([http:// www. nature. com/ nature/ journal/ v394/ n6692/ abs/ 394431a0. html](http://www.nature.com/nature/journal/v394/n6692/abs/394431a0.html))).
- Van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T.A., Wiemken, A., and Sanders, I.R., 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69–72.
- Zhu, T et Salmeron J., 2007. High-definition genome profiling for genetic marker discovery. Trends Plant Sci 12:196–202

Sommaire

Dédicace	
Remerciement	
Résumé	
Summary	
0. INTRODUCTION.....	1
0.1. PROBLEMATIQUE	1
0.2. OBJECTIFS	3
0.2.1. Objectif général.....	3
0.2.2. Objectifs spécifiques	3
0.3. HYPOTHESES	3
0.4. INTERET	3
0.5. DIVISION DU TRAVAIL.....	4
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE SUR LES MYCORHIZES	5
1.1. Mycorhize	5
1.2. Type des mycorhizes.....	5
1.2.1. ECTOMYCORHIZES	6
1.2.2. ENDOMYCORHIZES.....	8
1.3. IMPORTANCE DE LA SYMBIOSE MYCORHIZIENNE.....	15
1.4. Importance écologique	15
1.5. Importance bio mycologique.....	17
1.6. Importance géo mycologie	18
1.7. Les travaux antérieurs	20
CHAPITRE 2. MATERIELS ET METHODES	21
2.1. MILEU D'ETUDE	21
2.2.MATERIELS	22
A. Matériels Biologiques.....	22
B. Matériels Non Biologiques	23
C. Les produits à utiliser :	25
II. 2. MÉTHODE.....	25
II.3. METHODOLOGIE DU TRAVAIL.....	26
A. Techniques de coloration des racines	26
B. Technique d'isolement des spores	27
Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION	29
3.1. RESULTATS	29

3.1.1. DETECTION DES MYCORHIZES	29
3.1.2. DENOMBREMENT DES SPORES	30
3.1.2.1. Répartition des spores selon les couleurs	30
3.1.3. Répartition des spores selon les sous parcelles	31
3.1.4. Effet des Mycorhizes sur les cultures de Manioc	33
3.1.5. Effet des Mycorhizes sur la production des Gousses d'Arachides.	34
3.2. CONCLUSION ET DISCUSSION	35
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	37
Sommaire	39

