

**UNIVERSITE DE KISANGANI**

**FACULTE DES SCIENCES**



**B.P. 2012  
KISANGANI**

Département d'Ecologie et Gestion  
des Ressources Végétales

**ETUDE MICROBIOLOGIQUE (CHAMPIGNONS  
MYCORHIZIENS) EN RELATION AVEC LES DIVERSES  
SITUATIONS D'EXTENSION/REGRESSION DANS LES  
PEUPELEMENTS A *Gilbertiodendron dewevrei* (De Wild.) J.  
Léonard DANS LA RESERVE FORESTIERE DE YOKO  
(Kisangani, R.D.C)**



**Par**

***Muyisa* PALUKU MUVATSI**

Mémoire Présenté et défendu en vue de l'obtention de  
Diplôme d'Etude Approfondies (D.E.A) en Gestion  
de la Biodiversité et Aménagement forestier durable  
**Promoteurs : Prof. Ord. *Benoît* DHED'A DJAILO**  
**Co-Promoteur : Prof *émérite* Henri MARAITE**  
(UCL, Belgique)

**ANNEE ACADEMIQUE : 2008 - 2009**

**DEDICACE.**

Je dédie ce travail à toute ma Famille MULUME ATIMWA,

A mon épouse KAVIRA SIVYAGHENDERA Evelyne ;

Et à mon fils aîné Trésor David PALUKU

Qui n'ont cessé de soutenir la promotion que nous visons.

**REMERCIEMENTS**

Je tiens tout d'abord à adresser toute ma gratitude au Professeur Benoît DHED'A DJAILO Promoteur de ce travail pour nous la réalisation de cette étude. Ses qualités scientifiques nous sont restées une source d'inspiration.

Notre profonde reconnaissance s'adresse tout particulièrement au Co-promoteur de ce travail, le Professeur Emérite Henri MARAITE de l'Université Catholique de Louvain (Louvain-la-neuve) pour les corrections et remarques qu'il ne cessait de nous apporter depuis le protocole jusqu'à la version finale de ce travail.

Nous remercions également le Chef de travaux ONAUTSHU pour avoir accepté l'encadrement de ce travail.

Je ne pourrais oublier à remercier toute l'équipe des professeurs visiteurs qui a contribué à notre formation scientifique.

La présente étude n'aurait pu être réalisée sans le concours financier et matériel du CIFOR (Centre International pour la Recherche Forestière) dont je remercie grandement l'équipe dirigeante.

Mes remerciements s'adressent également à la coordination locale du REAFOR pour avoir fait tout les nécessaires pour que la formation aboutisse à son terme.

Nous remercions aussi toutes les autorités de la Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani et tous les professeurs de l'Université de Kisangani qui ont contribué à notre formation. Que les Professeurs René Oleko, Ulyel, Dudu, Upoki, Honorine Ntahobavuka, Mbuyi, Kakonda, Juakaly, Mulotwa, Katwala, Shimba trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude

Tous mes remerciements aux collègues de Master pour l'endurance et l'esprit d'équipe qui n'a cessé de nous animer pendant les deux ans passée ensemble.

### III

Que notre épouse Kavira Sivyaghendera Evelyne ainsi notre fils David Paluku Muvatsi et que toute ma famille trouvent ici l'expression de notre franche gratitude pour les sacrifices consentis.

Nous remercions toute l'équipe du Laboratoire de Génétique, Biotechnologie et Amélioration des Plantes pour son soutien,

Que tous ceux qui ont contribué, d'une manière ou d'une autre au façonnement de cet œuvre, ne se sentent pas oublier.

A vous tous, nous disons « Merci ».

## RESUME

Le présent travail a concerné l'étude microbiologique (champignons mycorhiziens) en relation avec les diverses situations d'extension et régression observées dans différents peuplements de *Gilbertiodendron dewevrei*. L'objectif principal était de vérifier l'hypothèse selon laquelle, les associations mycorhiziennes jouent un rôle dans l'extension ou la régression du peuplement dominant de *G. dewevrei* dans la réserve de Yoko.

Pour cette étude, trois peuplements ont été choisis dans le bloc Nord de cette réserve (forêt dominante en *G. dewevrei*, forêt semi-caducifoliée et la zone de contact entre les deux forêts). Les méthodes utilisées ont concerné : la récolte des racines de *G. dewevrei*, les analyses au laboratoire et le suivi de jeunes plantules sur le terrain. Au laboratoire, les ectomycorhizes ont été observées au microscope à partir des coupes transversales montées entre lame et lamelle et caractérisées anatomiquement et morphologiquement suivant les critères établis par Agerer et Ingelby (1987-1995; 1990). Les champignons responsables de la maladie chez les jeunes plantules de *G. dewevrei*, ont été isolés à partir de la technique de décharge d'ascospore sur milieu HA et la mise culture d'ascospore sur PDA.

A l'issue de ces méthodes, il ressort des analyses que :

- le *G. dewevrei* est ectomycorhizien et non endomycorhizien avec un pourcentage d'individus non ectomycorhizés de 11,7% pour les parcelles en peuplement pur, 20,0 % pour les interfaces et 35,0% pour les peuplements
- Le manteau de ces quatre types d'ectomycorhizes présente une stratification très nette mais de coloration différente,
- Un lien a été établi entre les racines de *G. dewevrei* avec trois espèces de champignons prélevées sous forme de carpophore à s'avoir : *Cantharellus sp.*, *Cantharellus cyanescens* et *Russula cellulata*.
- La proportion d'individus présentant une maladie, a été de 7,77% dans le peuplement pur, de 18,33% à l'interface et de 25,55% dans le peuplement mixte.
- Le suivi de jeunes plantules a révélé la disparition par maladie des plantules non mycorhizées.

Ceci confirme au moins partiellement l'hypothèse de travail. Il est par ailleurs possible que d'autres espèces de champignons, sans fructifications durant la période d'observation, forment des ectomycorhizes avec *G. dewevrei*.

## SUMMARY

The present work has concerned the microbiology studying (mycorrhizian mushroom) in relationship with varied situations of stretching and regression observed in different crowds of *Gilbertiodendron dewevrei*. The main aim was to identify and insulate microorganisms (mushroom) responsible of stretching and regression of the dominant crowd of *G. dewevrei* in Yoko preserve.

For this studying, three crowds have been chosen in the north bloc of this preserve: the pure crowd (forest dominated by *G. dewevrei*), the mixed crowd (semi-obsolete forest) and the interface (contact zone between the forest dominated by *G. dewevrei* and the semi-obsolete forest). Methods used concerned roots gathering of *G. dewevrei* of adult plants and young for observation and characterisation of mycorrhizas according to criteria made out by Agerer and Ingelley (1987-1995; 1990). Mushrooms sick were insulated by using the ascospore rubbish tip technical on HA and cultivate them on PDA and youngest plants were followed the ground by counting them each two months.

At the close of these methods analysis show that:

- *G. dewevrei* is ectomycorrhizian and not endomycorrhizian with 11,66 % of non ectomycorrhizian individuals for the pure crowd's scarp; 20,0 % for the interface and 35,0 % for mixed crowd,
- The forehead of these four ectomycorrhizian types presents a stratification very clear and various colours,
- A link was made out between *G. dewevrei* roots with three mushroom species taken as carpophore : *Cantharellus sp*, *Cantharellus cyanescens* et *Russula cellulata*,
- For sick individuals, the pure crowd presented 7,8 %, the interface 18,3 % and the mixed 25,6 %,
- Studying of youth plant succeeded up to the disappearance of plants, the sick is not mycorrhizian.

It's probable that other species of mushroom haven't been harvested as they were not at the fruit period.

## LISTE DES FIGURES

N° Figure	Titre de la Figure	N° page
<b>Figure 1 :</b>	Cycle de développement du Zygomycète <i>Rhizopus stolonifer</i> .....	7
<b>Figure 2 :</b>	Cycle de développement d'un Ascomycète .....	8
<b>Figure 3 :</b>	Cycle de développement d'un Basidiomycète .....	9
<b>Figure 4 :</b>	Ectomycorhize .....	14
<b>Figure 5 :</b>	: A gauche un endomycorhize et à droite un éctomycorhize .....	14
<b>Figure 6 :</b>	Endomycorhize .....	15
<b>Figure 7 :</b>	Glomale à l'intérieur d'une cellule végétale .....	15
<b>Figure 8 :</b>	Les carpophores du pourridié agaric observés au pied des arbres ...	21
<b>Figure 9 :</b>	Rhizomorphes (faisceaux d'hyphes) du pourridié agaric sur une racine .....	21
<b>Figure 10</b>	Carte de la RD Congo, Ville de Kisangani et localisation de la Réserve forestière de Yoko (en petit cercle jaune) .....	26
<b>Figure 11 :</b>	Carte de la Reserve Forestière de Yoko .....	26
<b>Figure 12 :</b>	Forêt en <i>G. dewevrei</i> .....	28
<b>Figure 13 :</b>	Différents âge d'individu <i>G. dewevrei</i> .....	28
<b>Figure 14 :</b>	Dispositif expérimental .....	28
<b>Figure 15 :</b>	Racine rattachées au collet .....	30
<b>Figure 16 :</b>	Racines prélevées avec de la litière et de la terre .....	30
<b>Figure 17 :</b>	Laboratoire de Biotechnologie de la Faculté des Sciences .....	31
<b>Figure 18 :</b>	Microscope à objectif à inversion de phase. ....	31
<b>Figure 19 :</b>	Schéma de la coupe transversale d'une racine ectomycorhisée .....	32
<b>Figure 20 :</b>	Schéma de la coupe transversale d'une racine non ectomycorhisée	32
<b>Figure 21 :</b>	Plantule de <i>G. dewevrei</i> attaquée .....	34
<b>Figure 22 :</b>	Feuille de <i>G. dewevrei</i> attaquée .....	34
<b>Figure 23 :</b>	Boîte de Pétri avec agar et un morceau de feuille de <i>G. dewevrei</i> pour la décharge des ascospores .....	35
<b>Figure 24 :</b>	Observation des cultures après décharge des ascospores .....	35
<b>Figure 25 :</b>	Caractéristique du peuplement de chaque parcelle, à partir de la surface terrière occupée par le <i>G. dewevrei</i> .....	37

<b>Figure 26 :</b>	Nombre d'individus Adultes et Jeunes obtenus pour chaque peuplement .....	37
<b>Figure 27 :</b>	Nombre d'individus mycorhizés dans chaque peuplement .....	39
<b>Figure 28 :</b>	Nombre d'individus Malade et Malade - non mycorhizés pour chaque physionomie .....	43
<b>Figure 29 :</b>	Feuille de <i>G. dewevrei</i> attaquée	44
<b>Figure 30 :</b>	Ascospore avec croissance des mycéliums	44
<b>Figure 31 :</b>	Isolement sur milieu PDA après 2 jours d'incubation	44
<b>Figure 32 :</b>	Isolement sur PDA après 14 jours d'incubation .....	44
<b>Figure 33 :</b>	Comparaison des peuplements en nombre d'individus non mycorhizés, individus malades et individus non mycorhizé-malades .....	46
<b>Figure 34 :</b>	Comparaison des peuplements en pourcentage d'individus non mycorhizés, individus malades et individus non mycorhizé-malades après l'analyse statistiques .....	46
<b>Figure 35 :</b>	Nombre d'individus dénombré chaque deux mois dans la parcelle 4 (zone de contact ou interface .....	47

#### LISTE DES TABLEAUX

N° Tableau	Titre du tableau	N° Page
<b>Tableau 1 :</b>	Nombre d'individus sélectionnés dans chaque parcelle pour les observations des mycorhizes .....	27
<b>Tableau 2 :</b>	caractérisation des 4 types d'ectomycorhizes observés .....	40
<b>Tableau 3 :</b>	Identification et Caractéristiques morphologiques des champignons éctomycorhiziens prélevés sous forme de capophores .....	41

## TABLE DES MATIERES

<b>DEDICACE</b> .....	<b>I</b>
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>II</b>
<b>RESUME</b> .....	<b>IV</b>
<b>SAMARY</b> .....	<b>V</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>VI</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>VII</b>
<b>TABLE DES MATIERES</b> .....	<b>VIII</b>
<b>0. INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
0. 1. PROBLEMATIQUE .....	1
0.2. OBJECTIFS ET INTERET .....	2
0.2.1. OBJECTIF GENERAL .....	2
0.2.2. OBJECTITS SPECIFIQUES .....	3
0.3. INTERET .....	3
0.4. HYPOTHESES .....	4
0.6. DIVISION DU TRAVAIL .....	4
 <b>CHAPITRE PREMIER : APERCU GENERAL SUR LES CHAMPIGNONS OU LES EUMYCETES</b> .....	 <b>5</b>
 <b>1.1. DEFINITION D'EUMYCETE</b> .....	 <b>5</b>
<b>1.2. MODE DE VIE DES CHAMPIGNONS</b> .....	<b>5</b>
<b>1.3. LA DIVERSITE DES CHAMPIG NONS</b> .....	<b>6</b>
1.3.1. Embranchement des Zygomycètes .....	6
1.3.2. Embranchement des Ascomycètes .....	7
1.3.3. Embranchement des Basidiomycètes .....	8
<b>1.4. LES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS</b> .....	<b>9</b>
1.4.1. TAXONOMIE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS .....	10
1.4.2. HISTORIQUE SUR LA SYMBIOSE MYCHORIZIENE .....	10
1.4.3. IMPORTANCE DE LA SYMBIOSE MYCORHIZIENNE .....	11
1.4.4. TYPE DES MYCHORIZES .....	12
1.4.4.1. ECTOMYCORHIZES .....	13
1.4.4.2. ENDOMYCORHIZES .....	14

1.4.5. AUTRES EFFETS BENEFIQUES DES ENDOMYCORHIZES .....	16
1.4.5. 1. RESISTANCE AUX STRESS HYDRIQUES .....	16
1.4.5.2. MEILLEURE ABSORPTION DU PHOSPHORE .....	16
1.4.5.3. MEILLEURE ABSORPTION DE CERTAINS AUTRES ELEMENTS .....	16
1.4.6. EFFETS PROTECTEURS CONTRE LES AGENTS PATHOGENES .....	16
1.4.7. UTILISATION DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS EN REBOISEMENT .....	17
1.4.8. LES CONDITIONS ET TECHNIQUES CULTURALES FAVORISANT LA MYCORHIZATION DES PLANTS EN PEPINIERES .....	18
1.4.8.1. Le Ph .....	18
1.4.8. 2. L'activité microbiologique .....	19
1.4.8. 3. Les pesticides .....	19
1.4.8. 4. La fertilité du substrat et les calendriers de fertilisation .....	20
1.4.9. LES AUTRES ASPECTS DE LA MYCORHIZATION .....	20
1.4.10. CHAMPIGNONS PATHOGENES (POURRIDIERES) .....	21
1.2.11. LES DOMAINES D'UTILISATION DES MYCORHIZES .....	21
<b>CHAPITRE DEUXIEME : MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>23</b>
<b>2.1. MILIEU D'ETUDE .....</b>	<b>23</b>
2.1.1. SITUATION GÉOGRAPHIQUE .....	23
2.1.2. CARACTERISTIQUES CLIMATIQUES .....	23
2.1.3. TEMPERATURES .....	23
2.1.4. HUMIDITE .....	24
2.1.5. INSOLATION .....	24
2.1.6. SOL DE LA RESERVE DE YOKO .....	24
2.1.7. FACTEURS BIOTIQUES .....	25
2.1.7.1. CHOROLOGIE .....	25
2.1.7.2. VEGETATION .....	25
2.1.7.3. ACTION ANTHROPIQUE .....	25
<b>2. 2. MATERIEL VEGETAL .....</b>	<b>26</b>
<b>2.3. METHODES .....</b>	<b>27</b>

2.3.1. LE SITE EXPERIMENTAL .....	27
2.3.2. LE DISPOSITIF EXPRIMENTAL .....	28
2.3.3. COLLECTE DES RACINES .....	29
2.3.4. PRELEVEMENT DES MYCORHIZES SOUS CARPOPHORES .....	30
2.3.5. ANALYSE AU LABORATOIRE .....	30
2.3.5.1. OBSERVATION DES ECTOMYCORHIZES .....	31
2.3.5.2. OBSERVATION DES ENDOMYCORHIZES .....	32
2.3.5.3. CARACTERISATION DES MYCORHIZES .....	33
2.3.5.4. IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS .....	33
2.3.5.5. ISOLEMENTS DES CHAMPIGNONS DES PLANTES MALADES .....	33
2.3.5.5.1. LA MISE A DECHARGE .....	34
2.3.5.5.2. LA MISE A CULTURE DES ASCOSPORES .....	35
2.3.5.5.3. LA CARACTERISATION DES ISOLATS .....	35
<b>2.3.6. SUIVI D'UNE JEUNE POPULATION DE <i>G. dewevrei</i> .....</b>	<b>36</b>
<b>2.3.7. TRAITEMENT STATISTIQUE .....</b>	<b>36</b>
2.3.7.1. Le pourcentage de plants mycorhizés .....	36
2.3.7.2. Comparaison des Parcelles .....	36
 <b>CHAPITRE TROISIEME : RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>37</b>
 <b>3.1 RESULTATS .....</b>	<b>37</b>
3.1.1. CARACTERISATION DES PEUPELEMENTS DES PARCELLES ...	37
3.1.2. OBSREVATION DES ETOMYCORHIZES SUR LES RACINES ...	38
3.1.3. ASPECTS MORPHOLOGIQUES ET ANATOMIQUE DES ECTOMYCORHIZES DES <i>G. dewevrei</i> .....	39
3.1.4. PRELEVEMENT DES MYCORHIZES SOUS LES CARPOPHORES .....	40
3.1.5. ANALYSE DES PLANTES PRESUMEES MALADES .....	43
3.1.6. SUIVI DE JEUNES PLANTULES .....	46
<b>3.2. DISCUSSION .....</b>	<b>47</b>
3.2.1. CARACTERISATION DES PHYSIONOMIES DES PEUPELEMENTS .....	47
3.2.2. OBSERVATION DES ECTOMYCORHIZES .....	48

3.2.3. CARACTERISATION ANATOMIQUE ET MORPHOLOGIQUE DES ECTOMYCORHIZES .....	49
3.2.2. CHAMPIGNONS PRELEVES SOUS FORME DES CARPOPHORES ...	50
3.2.4. PLANTES MALADES .....	51
3.2.4. SUIVI DE JEUNES PLANTULES .....	52
<b>CONCLUSION ET SUGGESTIONS .....</b>	<b>54</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>56</b>
<b>ANNEXES</b>	

## 0. INTRODUCTION

### 0. 1. PROBLEMATIQUE

Le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes terrestres sont principalement assujettis à la richesse spécifique des végétaux et leur composition (Hooper et Vitousek, 1997). Différents processus biologiques permettent de réguler et de maintenir une telle biodiversité végétale, à savoir : la compétition entre plantes voisines (Arsen, 1990 ; Hart *et al.*, 2003), la répartition spatiale et temporelle des ressources nutritives (Tilman, 1982), les perturbations édaphiques créant ainsi des nouvelles zones pour la colonisation par les plantes (Huston, 1977), les interactions avec les autres organismes constituant les écosystèmes (Bever *et al.*, 1997) et les associations symbiotiques végétaux-champignons ou végétaux-bactéries.

Il existe peu d'informations, non seulement, sur les principaux processus écologiques qui maintiennent la fertilité des sols forestiers comme la décomposition de la matière organique, l'humification, la minéralisation, et les activités mycorhiziennes, mais aussi sur les pathogènes à l'origine des maladies d'essences forestières. Les connaissances sur les associations mycorhiziennes des forêts tropicales humides restent donc fragmentaires, tant sur les aspects quantitatifs de la distribution de différents types mycorhiziens, que sur les différentes espèces des champignons mycorhiziens ainsi que sur leur contribution dans le fonctionnement des écosystèmes forestiers tropicaux. Plus récemment, il a été suggéré que la dynamique de la flore épigée était liée au développement des organismes vivant dans le sol (Sanon, 2005).

Les études portant sur l'origine des êtres vivants nous laissent supposer que, depuis les premières formes de vie, l'évolution et la sélection naturelle ont toujours favorisé les associations symbiotiques. L'union intime de deux ou plusieurs organismes permet une meilleure adaptation aux conditions environnementales ainsi qu'une plus grande compétition envers d'autres êtres vivants. Il y a 400 millions d'années, l'invasion de la terre ferme par les végétaux a été un succès grâce à l'association symbiotique entre les plantes terrestres et des champignons (Kendrick, 1992).

Très peu d'études ont été jusqu'à présent consacrées aux ectomycorhizes naturels des essences forestières autochtones en milieu tropical. Deux raisons majeures

expliquent cet état de chose : la faible fréquence de ce type d'association qui concerne quelques espèces appartenant à la famille des Caesalpinaceae, des Dipterocarpaceae et des Euphorbiaceae ainsi que peu d'information sur l'identité des champignons indigènes associés.

Des inventaires sur le statut mycorhizien d'espèces végétales ont été conduits en zone intertropicale (Garbaya, 1984, 1988, 1990 ; Bereau et Garbaya, 1994 ; Lodge, 1987) et en Afrique (Redhead, 1968 ; Newbery *et al.* 1988). Mais le statut mycorhizien des bois tropicaux couramment exploités ainsi que leur distribution restent mal connus en forêt humide du Bassin du Congo.

Néanmoins, les travaux préliminaires menés en République Démocratique du Congo, ont rapporté la présence de certaines essences mycorhizées (Fassi et Fontana, 1961 ; 1962 ; Fassi, 1963 ; Thoen, 1974 ; Kasha, 1984) et l'espèce *G. dewevrei* a déjà été identifiée comme mycorhizée par Kasha *et al.* en 1989 et par Onguene et Kuyeper en 2004.

Par ailleurs, les causes de certaines pathologies pouvant occasionner des dégâts importants ou conduisant à de fortes mortalités des essences forestières ne sont pas connues chez la plupart des essences : dans le cas de *G. dewevrei*, il est important de mettre en évidence les microorganismes en cause.

Dans le sol, les facteurs biotiques et les facteurs abiotiques se conjuguent mutuellement. Il s'avère utile de les étudier dans un milieu forestier, c'est-à-dire, de savoir leur importance et leurs conséquences sur les essences forestière. Il faudra identifier les microorganismes qui sont à la base de l'extension et/ou de la régression de certaines essences forestières comme le *G. dewevrei* et préciser le rôle des mychorizes dans ces processus.

## 0.2. HYPOTHESES

La présente étude se base sur les hypothèses selon les quelles :

- l'extension de peuplements à prédominance de *Gilbertiodendron dewevrei* serait liée à la présence de microorganismes symbiotiques (champignons) qui protègent les plantules contre des microorganismes pathogènes adaptées à *G. dewevrei*.

- En absence de ces organismes symbiotiques, les bactéries, champignons ou tout autre organisme pathogène induiraient une régression dans le peuplement de *G. dewevrei* et une diversification des peuplements.

### **0.3. OBJECTIFS ET INTERET**

#### **0.3.1. OBJECTIF GENERAL**

La réserve forestière de Yoko appartenant au Ministère de l'Environnement en République Démocratique du Congo présente le statut d'aire protégée. Cette réserve, constitue une étendue intéressante pour les recherches sur la dynamique des essences forestières exploitables.

La présente étude est menée dans l'objectif d'identifier et d'isoler les microorganismes (champignons) responsables de diverses situations d'extension ou de régression du peuplement dominant de *Gilbertiodendron dewevrei* dans cette réserve forestière.

#### **0.3.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES**

L'étude menée a comme objectifs spécifiques de:

- vérifier la présence des mycorhizes sur les racines de *G. dewevrei*, en vue de les isoler et d'identifier les champignons en cause ;
- déterminer les divers types des mycorhizes dans le peuplement à *G. dewevrei* dans la forêt de YOKO (RD Congo) ;
- identifier les communautés fongiques pathogènes de *G. dewevrei*, notamment à l'origine des maladies chez ce dernier.

### **0.4. INTERET**

L'intérêt de ce travail réside dans sa contribution aux nouvelles connaissances sur les champignons en association avec les racines des Caesalpinioideae (Fabaceae : *G. dewevrei*) et les pathogènes fongiques de *G. dewevrei* dans la réserve forestière de Yoko. Il permettra ainsi de donner une idée sur les microorganismes qui sont à la base de l'extension

et/ou de la régression du peuplement de *G. dewevrei* dégagées, pour une meilleure gestion d'un tel peuplement.

L'intérêt pratique de ce travail, est que, les ectomycorhizes des *G. dewevrei* étant connus et isolés, peuvent servir en reboisement. Une inoculation naturelle peut être réalisée par les spores libérées des fructifications de champignons ectomycorhiziens de jeunes plantules de *G. dewevrei* en pépinière.

#### **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 un aperçu général sur les champignons. Le deuxième chapitre expose le milieu d'étude, le matériel et les méthodes utilisées tant pour récolter les données que pour les analyser au laboratoire et le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus, leur analyse et la discussion de ces résultats obtenus en donnant une l'interprétation écologique sur la dynamique et le maintien des forêts à *G. dewevrei*. Il se termine par une brève conclusion générale avec quelques perspectives de recherches.

---

## **CHAPITRE PREMIER : APERCU GENERAL SUR LES CHAMPIGNONS OU LES EUMYCETES**

### **1.1. DEFINITION D'EUMYCETE**

Les Eumycètes sont des organismes eucaryotes. Ils sont presque tous unicellulaires. Bien qu'ils aient autrefois été classés parmi les végétaux, se sont des organismes uniques en leur genre qui diffèrent des autres eucaryotes sur les plans de la structure, du mode de nutrition, de la croissance et de la reproduction (Campbell et Reece, 2004).

### **1.2. MODE DE VIE DES CHAMPIGNONS**

En raison de leur mode de nutrition, les champignons ou Eumycètes se divisent en trois groupes : les symbiotiques (ils vivent en symbiose avec des plantes vivantes, ce sont par exemple, les champignons mycorhiziens ou les champignons lichéniques), les saprophytes (ils décomposent la matière organique) et les parasites (ils vivent au dépens d'organismes vivants) (Raven et Johnson, 2002 ; Egli et Ivano, 2002).

Les saprophytes constituent la majorité des espèces qui se nourrissent de matières organiques mortes et sont donc d'une importance primordiale pour le maintien de la planète en permettant la dégradation et la décomposition de cette énorme masse des feuilles mortes et de bois mort qui arrive chaque année au sol.

Les parasites se développent au dépend d'un autre être vivant, lequel finira par mourir. Ces champignons attaquent différents organes de la plante, notamment : les racines, les troncs, les feuilles, l'inflorescence, etc. (Egli et Ivano, 2002).

Les symbiotes dépendent également d'autres être vivants, mais la relation est basée sur des bénéfices réciproques. Les champignons symbiotes ont une grande importance, car la majorité est associée parfois d'une manière très sélective à des plantes (mycorhizes) ou à des insectes.

### 1.3. LA DIVERSITE DES CHAMPIGNONS

Plus de 100.000 espèces d'Eumycètes ont été répertoriées à ce jour et les mycologues estiment leur nombre à plus de 1,5 million. Se basant sur les structures reproductives, la taxonomie utilise trois embranchements : Zygomycètes, Ascomycètes et Basidiomycètes (Campbell et Reece, 2004, Raven et Johnson, 2002).

Les Chytridiomycètes renseignent sur l'origine des Eumycètes. Ils sont surtout aquatiques, certains sont saprophytes et d'autres parasitent des végétaux et des animaux. Il semble que les chytridiomycètes parasites soient responsables du déclin de la population des amphibiens (Campbell et Reece, 2004).

#### 1.3.1. Embranchement des Zygomycètes

Les mycologues ont décrit environ 600 espèces de Zygomycètes. La plupart vivent en milieu terrestre, dans le sol ou sur les matières végétales et animales en décomposition. Un groupe des Zygomycètes s'associe par mutualisme aux racines de certaines plantes, formant ainsi les mycorhizes (endomycorhizes). La figure 1, présente le cycle de développement du zygomycète *Rhizopus stolonifer*.

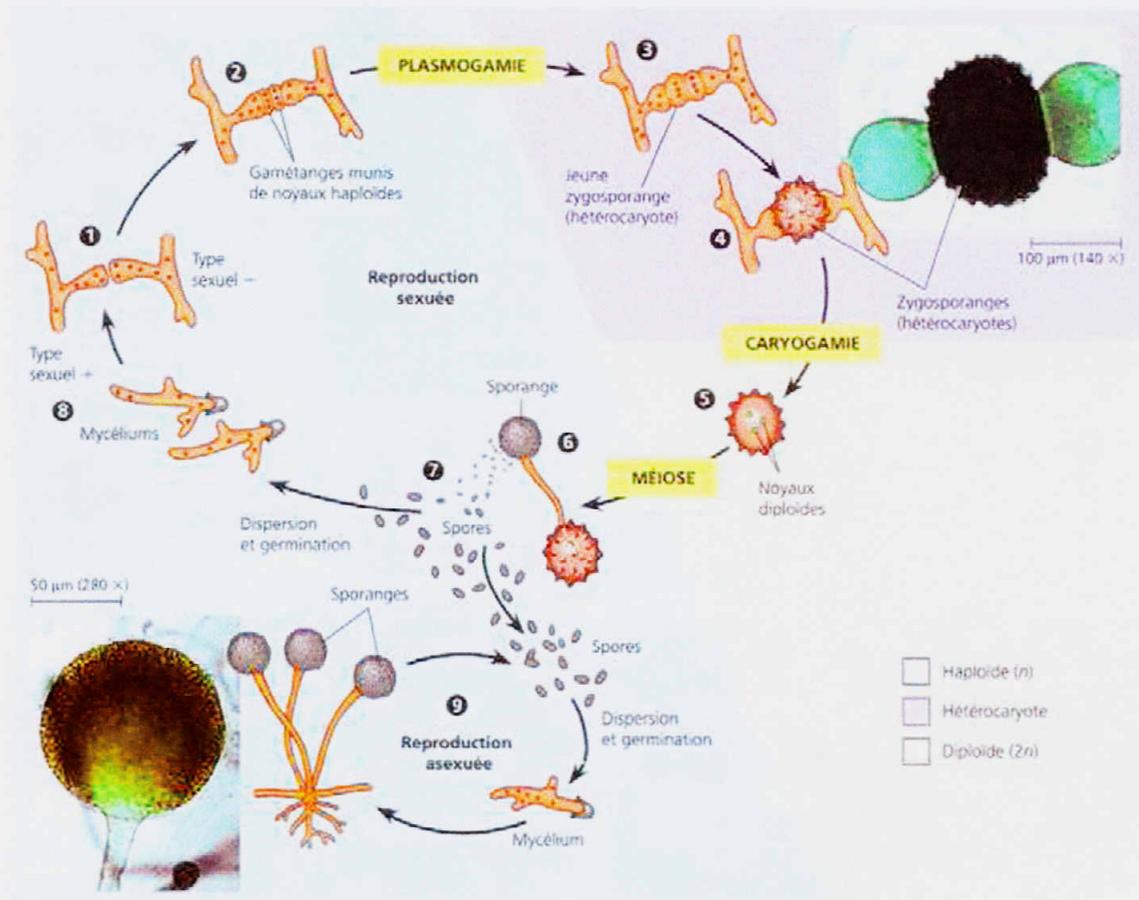


Figure 1 : Cycle de développement du zygomycète *Rhizopus stolonifer* (Campbell et Reece, 2004).

### 1.3.2. Embranchement des Ascomycètes

Il existe plus de 60 000 espèces d'Ascomycètes, qui vivent dans l'eau de mer, l'eau douce et les milieux terrestres. Leur taille et leur complexité varient grandement, depuis la levure unicellulaire et les minuscules Eumycètes responsables de la tavelure des feuilles jusqu'aux Eumycètes complexes comme les Discomycètes et les Morilles. L'embranchement des Ascomycètes comprend les agents pathogènes les plus dévastateurs pour les végétaux, mais aussi un grand nombre des saprophytes, qui métabolisent surtout des débris des matières végétaux.

Par ailleurs, près de la moitié des espèces d'Ascomycètes s'associent par symbiose à des algues pour former les lichens. Certains Ascomycètes forment des mycorhizes avec les racines de certaines plantes. D'autres vivent entre les cellules du mésophylle de

certaines plantes, et libèrent des produits toxiques qui pourraient protéger les tissus de la plantes contre certains insectes (Campbell et Reece, 2004). La figure 2, présente le déroulement du cycle de développement d'un Ascomycète.

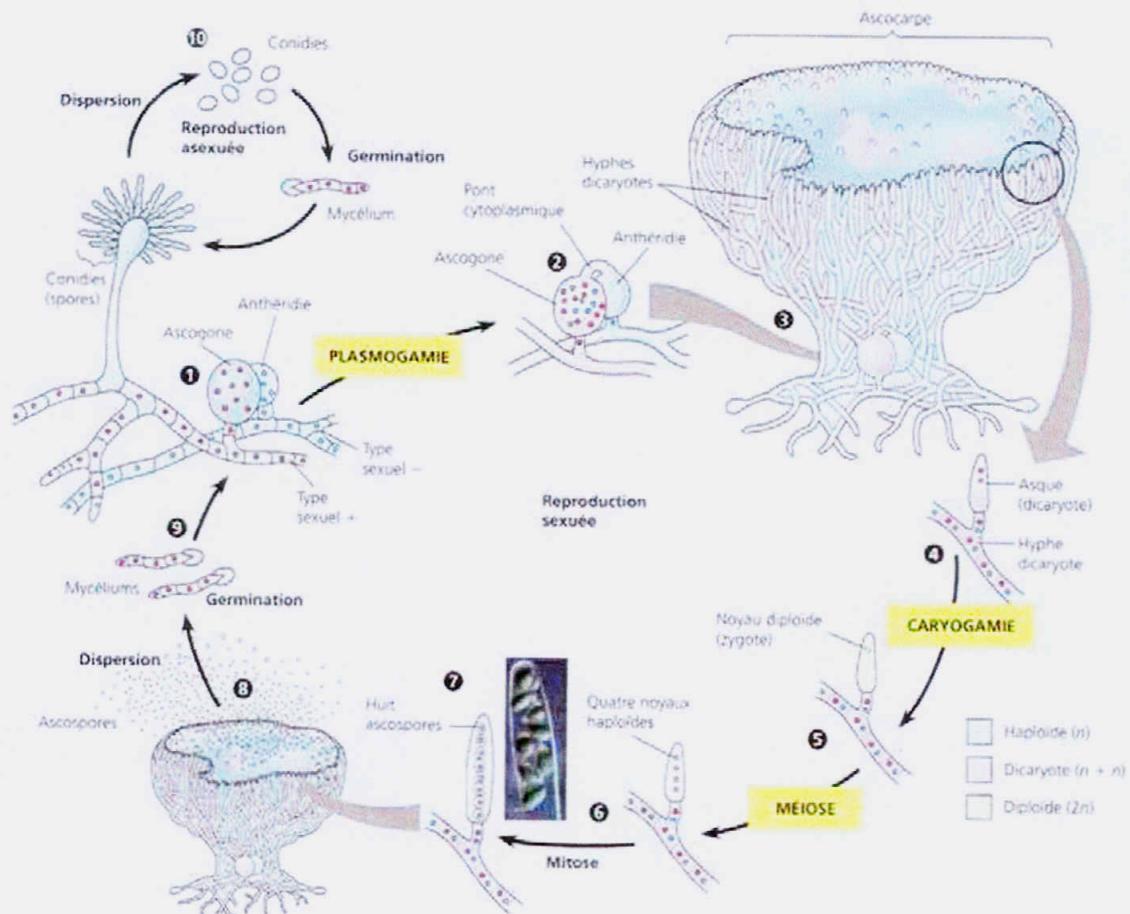


Figure 2 : Cycle de développement d'un Ascomycète (Campbell et Reece, 2004).

### 1.3.3. Embranchement des Basidiomycètes

Il comprend environ 25 000 espèces, dont les polypores, les vesses-de-loup, certaines Rouilles et les champignons à carpophores volumineux. Leur nom vient de la structure en forme de massue qui apparaît pendant le stade diploïde transitoire de leur cycle de développement : la baside. Les Basidiomycètes sont d'importants décomposeurs du bois et d'autres matières végétales. On compte également dans cet embranchement des organismes mutualistes formant des mycorhizes (ectomycorhizes), de même que des parasites de plantes.

Parmi les Eumycètes, les Basidiomycètes sont les décomposeurs les plus efficaces de la lignine, polymère complexe qui abonde dans le bois. Un grand nombre des polypores vivent en parasite sur les bois des arbres qui sont en mauvaise santé ou qui sont endommagés. Ils y vivent ensuite en saprophyte lorsque les arbres en question meurent. Deux groupes des Basidiomycètes, le Rouilles et les Charbons, sont des parasites particulièrement destructeurs (Campbell et Reece, 2004). La figure 3, illustre le cycle de développement d'un Basidiomycète.

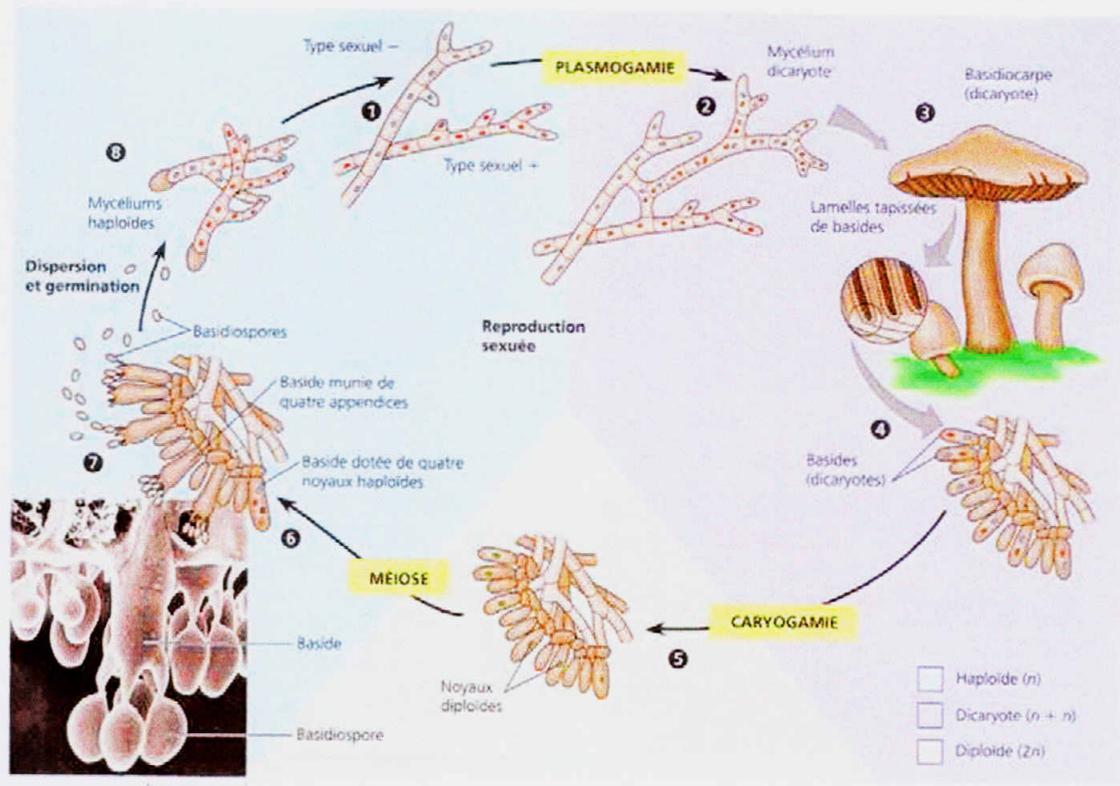


Figure 3 : Cycle de développement d'un Basidiomycète (Campbell et Reece, 2004).

#### 1.4. LES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS

Les mycorhizes sont issues d'une association mutualiste entre un Eumycète et les racines de certains végétaux. Le terme « mycorhize » vient des mots grecs mukès et ridza qui signifient respectivement « champignon » et « racine ». Il fait référence aux structures formées par les cellules végétales et les hyphes de l'Eumycète associé. L'anatomie de cet organisme symbiotique varie selon le type d'Eumycète associé. Les mycorhizes (ectomycorhizes) proviennent autant des Basidiomycètes et des Ascomycètes que des Zygomycètes (Campbell et Reece, 2004).

La symbiose champignon-plante repose sur le fait que les deux partenaires retirent des avantages de cette association. Le champignon retire des sucres de la plante alors que la plante reçoit des minéraux et de l'eau du champignon. D'ailleurs, sans cette association, le champignon mycorhizien ne peut compléter son cycle vital.

Par ailleurs, tous les champignons ne sont pas mycorhiziens. Cependant près d'un tiers des macromycètes (fructifications de champignon visibles à l'œil nu) des forêts sont des champignons mycorhiziens (Simon Egli et Ivano Brunner, 2007). Les carpophores qui poussent aux pieds des arbres dans l'écosystème forestier, témoignent en surface de la symbiose qui existe sous terre (Campbell et Reece, 2004).

#### **1.4.1. TAXONOMIE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS**

Les champignons endomycorhiziens appartiennent à une catégorie très ancienne des champignons, les Zygomycètes et ont été regroupés récemment en un ordre, les Glomales (Moton et Benny, 1990) qui comprend toutes les espèces capables de vivre en symbiose avec les plantes. L'essentiel des espèces connues appartient à la famille des Glomacées (Pirozynski et Dalpé, 1989) formée des genres *Glomus* et *Sclerocystis*. L'ensemble des Champignons Mycorhiziens à Arbuscules (CMA) compte actuellement environ 160 espèces distribuées en trois familles et 6 genres, avec une distribution mondiale. La plus grande difficulté vient de ce que toute la taxonomie de ces organismes repose actuellement sur les caractères morphologiques des spores (Dalpé, 2000).

Les ectomycorhizes eux sont des champignons de l'embranchement des Basidiomycètes et d'Ascomycètes.

#### **1.4.2. HISTORIQUE SUR LA SYMBIOSE MYCORHIZIENE**

Il y a de cela environ 400 millions d'années, les premières plantes quittaient les milieux aquatiques pour venir coloniser la terre ferme. Toutefois, ce changement ne s'est pas fait d'un seul coup et sans aide. Au contraire, les plantes ont eu besoin d'alliés pour réussir ce tour de force et parmi ceux-ci, il y a eu des champignons. C'est grâce à leur association avec certains champignons que les plantes ont réussi à survivre dans des milieux offrant peu d'humidité et de nutriments. Cette association, ou symbiose, se nomme mycorhize.

L'étroite relation qu'ont beaucoup de champignons avec certaines plantes supérieures a été démontrée pour la première fois par Giuseppe Gibelli (1879, 1882, 1883) de l'Institut Botanique de l'Université de Turin. Il a décrit et représenté avec de nombreux détails l'ensemble structurel formé par les hyphes des champignons et les apex racinaires du châtaignier. En 1885, l'allemand Frank a démontré que certains champignons sont étroitement liés aux racines des arbres, par des formations auxquelles il donna le nom de mycorhizes. Depuis lors, surtout à l'Institut Botanique de Turin d'abord et au Centro di Studio sulla Micologia del Terreno du C.N.R., créée en 1951, on a poursuivi les études sur l'anatomie, la morphologie, la physiologie, l'écologie et l'application pratique des mycorhizes.

Depuis fin 1800 et jusqu'en 1932, Oreste Mattiolo, élève de Gibelli, s'est occupé en particulier des champignons hypogés, en mettant en relief les relations mycorhiziennes, en particulier entre les Tubéracées et les plantes supérieures, avec d'intéressantes observations d'anatomie et de biologie. Son herbier mycologique, le plus grand du monde, se trouve encore à Turin dans les locaux du Département de Biologie Végétale de l'université. En 1894 Dangeard, ami de Mattiolo, a décrit avec une caractérisation morphologique les mycorhizes de *Tuber melanosporum*, avec *Quercus pubescens*.

Ailleurs en Afrique, on connaît déjà un nombre important de genres et espèces ectomycorhiziens surtout chez les Caesalpinioïdées et les Euphorbiacées. Ces espèces croissent principalement dans les forêts claires soudano-zambéziennes et dans les forêts denses sempervirentes et semi-décidues (Thoen et Ducousson, 1989).

#### **1.4.3. 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. 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).

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) notamment la sécheresse (Subramania et al, 1995), le froid (Charest et al, 1993 ; Paradis et al, 1995), la salinité élevée (Davis et Young, 1985) et la pollution (Leyval et al, 1994 ; Shetty et al, 1995). De plus, la symbiose tend à réduire l'incidence des maladies radicaires et minimise l'effet nocif de certains agents pathogènes (Dehne, 1982 ; St-Arnaud et al, 1995). Globalement, les plantes mycorhizées voient leur croissance et leur santé améliorées et acquièrent du coup une protection accrue contre les différentes conditions environnementales défavorables à leur survie ( Duñabeitia et al. 2004; Diédhiou et al. 2005; Nara 2006a).

Les champignons ectomycorhiziens sont des organismes hétérotrophes. Ils ne peuvent donc synthétiser leurs hydrates de carbone comme le font les plantes vertes chlorophylliennes. De plus, ils ne peuvent, à la manière des saprophytes les mobiliser directement à partir de la litière. Par conséquent, leur association avec les plantes autotrophes leur est plus que favorable puisqu'en leur procurant les sucres qu'elles photosynthétisent, les plantes leur permettent de survivre et de boucler leur cycle vital (Egli et Ivano, 2002).

#### **1.4.4. TYPE DES MYCORHIZES**

Les associations symbiotiques entre les champignons du sol et les racines des végétaux sont très répandues dans la nature. On sait que chaque plante est associée spécifiquement à un groupe de champignons. En conditions naturelles, on retrouve plusieurs types d'associations mycorhiziennes variant selon les espèces végétales et les écosystèmes.

C'est le cas, entre autres des ectomycorhizes, les ectoendomycorhizes, des endomycorhizes éricoïdes, des mycorhizes des orchidées et des endomycorhizes à vésicules et à arbuscules. Sur des bases morphologiques et cytologiques on sépare les mycorhizes en deux groupes : les ectomycorhizes et les endomycorhizes (Boullard, 1982).

#### 1.4.4.1. 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.

Les ectomycorhizes, sont des racines courtes entourées d'un manchon mycélien (manteau) et pourvues d'un réseau d'hyphes intercellulaires (réseau de Hartig). Les champignons sont des zygomycètes (endogone), des ascomycètes (truffe) et des basidiomycètes (bolets, lactaires, pisolithe et paxilles) infectant des angiospermes aussi bien que des gymnospermes particulièrement les résineux (chêne, hêtre, eucalyptus, pin ...).

Les hyphes s'infiltrent 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).

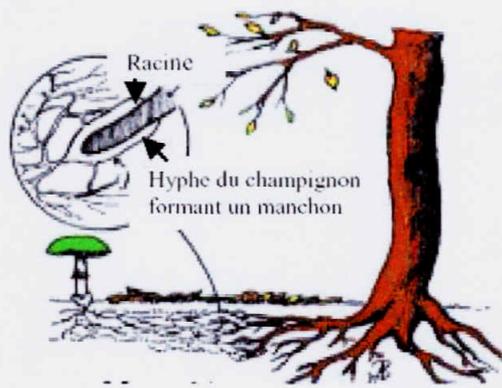


Figure 4 : Ectomycorhize (Nadia et Lyne, 2002)

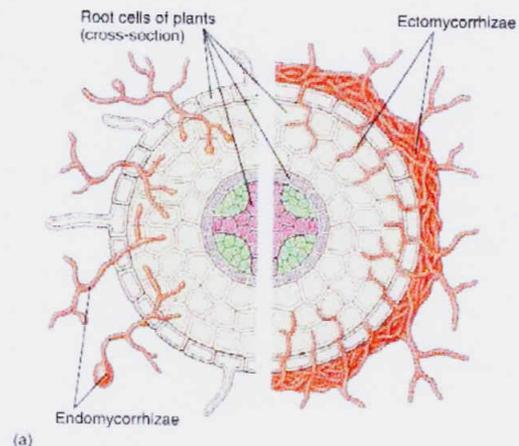


Figure 5 : A gauche un endomycorhize et à droite un éctomycorhize (Raven et Johnson, 2002)

#### 1.4.4.2. ENDOMYCORHIZES

L'endomycorhize, lui supporte des poils absorbants et un certain nombre de filaments mycéliens qui s'irradient dans le sol sans former autour d'elle de manchon fongique. 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).

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 (Fig. 7). 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).

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. 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, oeillet, 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.



Figure 6 : Endomycorhize

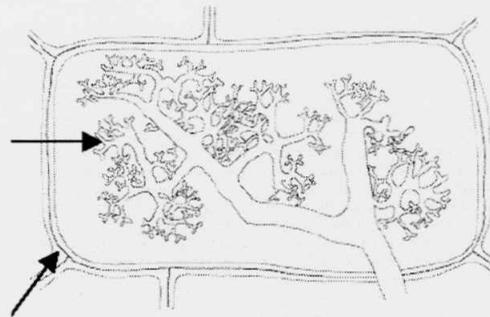


Figure 7 : Glomale à l'intérieur d'une cellule végétale (Nadia et Lyne, 2002)

#### 1.4.5. AUTRES EFFETS BENEFTQUES DES ENDOMYCORHIZES

Il a été évalué que les hyphes des endomycorhizes peuvent atteindre une longueur totale de 125 km pour un volume d'un mètre cube de substrat, lorsqu'ils sont associés à une plante hôte (Premier, 1997). Puisque ces hyphes sont directement branchés sur le système racinaire de la plante, on peut les considérer comme une extension de ce système racinaire. Grâce à cet allié, la plante retirera de nombreux effets bénéfiques, tels que la résistance aux stress hydriques, la meilleure absorption du phosphore et la meilleure absorption des autres éléments comme le fer, le zinc et le cuivre.

#### **1.4.5. 1. RESISTANCE AUX STRESS HYDRIQUES**

Les champignons endomycorhiziens entraînent une augmentation de la résistance de la plante au manque d'eau (Sylvia *et al.*, 1993). Le mycélium du champignon d'une plante mycorhizée explore un volume de sol beaucoup plus important qu'une plante normale. Les fins hyphes du champignon peuvent aller chercher l'eau à des endroits inaccessibles par les grosses racines de la plante.

#### **1.4.5.2. MEILLEURE ABSORPTION DU PHOSPHORE**

Le champignon mycorhizien est capable d'absorber plus efficacement certaines formes de phosphore et de les transférer vers la plante (Werner, 1992). A l'instar des microorganismes solubilisateurs de phosphore présents dans la rhizosphère tels des *Pseudomonas sp.*, *d'Enterobacter sp.* ou de *Rhizopus sp.* (Chabot *et al.*, 1993), les champignons endomycorhiziens à vésicules et à arbuscules peuvent solubiliser le phosphore présent dans le sol par l'émission de divers composés (Jakobsen, 1992) et peut ensuite être absorbé soit par le champignon, soit directement par la plante. S'il est absorbé par le champignon, il sera par la suite transféré vers la plante.

#### **1.4.5.3. MEILLEURE ABSORPTION DE CERTAINS AUTRES ELEMENTS**

Outre le phosphore, la symbiose mycorhizienne peut faciliter l'absorption de divers autres éléments minéraux. Le cuivre (Li *et al.*, 1991 ; Sylvia *et al.*, 1993), le zinc (Xinshu et Runjin, 1990) et le fer (Runjin et Xinshu, 1990) sont quelques-uns des éléments mineurs souvent présents en plus fortes concentrations dans les plantes mycorhizes que dans les plantes non-mycorhizées. L'absorption de ces éléments souvent difficilement assimilables par la plante est améliorée par l'association mycorhizienne. Cependant, la présence de mycorhize diminue l'interaction négative entre P et Cu et rend le cuivre beaucoup plus disponible à la plante (Xhhu et Runjin, 1990).

#### **1.4.6. EFFETS PROTECTEURS CONTRE LES AGENTS PATHOGENES**

De nombreux travaux montrent que des agents pathogènes provoquent beaucoup moins de dommages chez les plantes mycorhizées que chez les plantes non

mycorhizées. Les mycorhizes limitent notamment l'extension des maladies racinaires provoquées par les nématodes (Elsen *et al.*, 2008) et assurent ainsi une meilleure protection des racines contre les microorganismes pathogènes (Jalali, 1986 ; Onguene *et al.*, 2002).

De nombreux chercheurs ont découvert que, parfois, la présence du champignon endomycorhizien procure une meilleure résistance envers les pathogènes racinaires. En effet, une plante ayant une meilleure nutrition minérale est souvent plus résistante envers les pathogènes. De part l'absorption accrue d'éléments minéraux, les racines mycorhizées peuvent aussi compenser les pertes de racines causées par le pathogène (Linderman, 1994). Par ailleurs, comme bien souvent le champignon mycorhizien et le pathogène occupent les mêmes sites dans la racine, une compétition s'établit entre eux, autant pour l'espace que pour la nourriture (Cordier *et al.*, 1996). Ces divers mécanismes peuvent donc entraîner une meilleure résistance envers les pathogènes fongiques et bactériennes (Cordier *et al.* 1998; Pozo *et al.* 2002; Zhu and Yao 2004; Khaosaad *et al.* 2007)

Les champignons endomycorhiziens peuvent aussi jouer un rôle éliciteur important. Il faut en effet considérer que lors des premières phases de l'établissement de la symbiose, le champignon mycorhizien attaque la plante enzymatiquement afin de pénétrer jusqu'à travers la paroi primaire. Cette agression entraîne l'activation de divers mécanismes de défense chez la plante comme une augmentation de la PAL et de la chalcone isomérase (Volpin *et al.*, 1995), une accumulation de phytoalexines (Morandi, 1996), de chitinases (Dumas-Gaudot *et al.*, 1996), B-1,3-glucanases (Dumas-Gaudot *et al.*, 1996) et de peroxydases (Gianinazzi et Gianinazzi-Pearson, 1992 ; Azcon-Aguilar et Barea, 1997).

Le fait d'être mycorhizée constituerait donc une sorte de « vaccin » qui sensibiliserait la plante (Benhamou *et al.* 1994). Des dépôts de lignine (Dehne, 1982) et d'HRGPs (Balestrini *et al.* 1994) ont également été détectés. Cependant, la plupart de ces mécanismes de défense sont présents seulement au début de la colonisation. La plante semble ensuite reconnaître le champignon mycorhizien et cesse de lutter contre lui (Azcon-Aguilar et Barea, 1997).

#### **1.4.7. UTILISATION DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS EN REBOISEMENT**

Il est certain que le champignon est le plus actif dans le partenariat. Pour une jeune pousse de deux ans, le système racinaire s'étend sur une surface de quelques  $\text{dm}^2$ ; à dix ans on compte plus de  $1 \text{ m}^2$ , et bien davantage pour un arbre plus âgé. Or, l'arbre a besoin d'eau et les hyphes du champignon «prolongent» ses racines. Mais le mycélium fongique occupe un domaine bien plus vaste qui peut atteindre le millier de mètres carrés. De plus, le réseau d'hyphes est très dense et il utilise plus intensément les produits du sol : il lui est possible de prélever dans un grand rayon la totalité de l'eau et des sels minéraux et de les transporter sur de longs trajets, en raison même de sa structure «tubulaire» (Gilles Langlois, 1989).

Les expériences ont été faites dans plusieurs régions où l'on a tenté de reboiser de vastes domaines, dans des sols déforestés et par conséquent dépourvus de mycorhizes. Les gardes-forestiers ont aussi appris à accompagner de mycélium adéquat les jeunes pousses de leurs pépinières, pour provoquer la mycorhization de leurs racines. Dans les Alpes, où la forêt constitue un rideau protecteur contre les avalanches, les sols sont maigres et le secours nutritif des mycéliums à mycorhizes est un élément vital. Les reboisements devenus nécessaires après les dévastations causées par les tempêtes ne peuvent pas réussir sans les champignons (Gilles Langlois, 1989).

#### **1.4.8. LES CONDITIONS ET TECHNIQUES CULTURALES FAVORISANT LA MYCORHIZATION DES PLANTS EN PEPINIÈRES**

Les principaux facteurs qui influencent significativement la mycorhization des pépinières furent identifiés comme étant : le pH du substrat, l'activité microbiologique des sols, la toxicité de certains pesticides et la fertilité du substrat (Gilles Langlois, 1989).

##### **1.4.8.1. Le pH**

La plupart des souches de champignons ectomycorhiziens évaluées au laboratoire ont une croissance optimale entre pH 4,0 et 5,5. Conséquemment, lorsque le pH du substrat de culture en pépinières est maintenu entre ces valeurs, la variable d'acidité n'est pas un facteur limitatif pour la mycorhization des plants. Des expériences réalisées en récipients

au Québec, avec des substrats tourbeux, firent ressortir qu'il était également possible de produire des plants mycorhizés dans des conditions de pH de 3,5 (Gilles Langlois, 1989).

#### **1.4.8. 2. L'activité microbiologique**

L'activité microbiologique du substrat est un des principaux facteurs qui conditionnent la mycorhization des plants. Lorsque la flore pathogène est numériquement importante, elle entre en compétition vive avec la flore ectomycorhizienne présente et/ou introduite et inhibe significativement le développement des mycorhizes sur le système racinaire des plants. Par contre, lorsque le sol est fumigé, le champignon introduit est plus en mesure de s'associer avec un grand nombre de racines courtes en émergence et former ainsi des systèmes racinaires adéquatement mycorhizés (Gilles Langlois, 1989).

Quant à la mycorhization naturelle qui survient généralement plus tard au cours de la saison, elle sera assujettie à l'importance de la sporulation des champignons ectomycorhiziens ainsi qu'au rythme de la recolonisation du substrat par la flore pathogène. Pour les cultures en récipients, l'activité microbiologique du substrat apparaît être beaucoup moins problématique concernant l'inhibition de la formation des mycorhizes. En effet, au cours des deux dernières années, des pourcentages de mycorhizations supérieurs à 50 p. 100 furent enregistrés sur des plants qui se sont développés dans certaines des pépinières dans des substrats tourbeux fumigés et non fumigés suite à l'inoculation artificielle du substrat au moment de l'ensemencement ou en cours de production (Gilles Langlois, 1989).

#### **1.4.8. 3. Les pesticides**

L'usage des pesticides en pépinières est essentiel pour lutter contre les champignons pathogènes qui attaquent les plants, les mauvaises herbes qui se développent dans les substrats, les insectes ravageurs et les petits animaux, principalement les rongeurs. L'efficacité de ces produits est reliée au pouvoir tampon du sol, au dosage utilisé et à la sensibilité respective du champignon et de la plante en culture. Lorsqu'il est possible, il est souhaitable de fumiger le substrat pour éliminer la compétition et accroître l'efficacité de la mycorhization surtout en ce qui concerne la production à racines nues (Gilles Langlois, 1989).

#### **1.4.8. 4. La fertilité du substrat et les calendriers de fertilisation**

Dans un sol de pépinières relativement pauvre en éléments nutritifs tout particulièrement en N et en P, aucun problème d'inhibition de la mycorhization n'est à entrevoir si la fertilisation est ajustée pour subvenir aux besoins de croissance de la masse végétale en développement. Ceci parce que la densité du sol influe grandement sur l'augmentation de la concentration des éléments nutritifs ajoutés lors des fertilisations. Toutefois, si la fertilité du sol est relativement élevée principalement en phosphore, il est possible que ce dernier agisse négativement sur l'installation des mycorhizes sur le système racinaire des plants (Gilles Langlois, 1989).

Au niveau de la culture en récipients, les fertilisations élevées paraissent avoir une influence marquée sur la mycorhization des plants, même si initialement la fertilité des substrats utilisés est relativement faible pour la plupart des éléments. Les raisons qui expliquent l'effet dépressif des fortes fertilisations sur la mycorhization sont reliées au volume restreint de substrat dans chacune des cavités où se développe un système racinaire ainsi qu'à la faible densité des substrats généralement utilisés (Gilles Langlois, 1989).

#### **1.4.9. LES AUTRES ASPECTS DE LA MYCORHIZATION**

L'usage des mycorhizes en foresterie ne se résume pas seulement à la production de plants mycorhizés et à la démonstration des avantages de reboiser de tels plants en fonction des classes de sites et des associés fongiques utilisés. En effet, il n'en demeure pas moins qu'il est extrêmement important, pour la forêt de demain, de chercher à mieux connaître les diverses associations racines champignons qui alimentent nos arbres et contribuent à maintenir le niveau de fertilité des sols en participant activement au processus de la pédogénèse. Les mycorhizes sont les structures par lesquelles l'eau et les éléments nutritifs doivent cheminer avant d'être utilisés par les arbres et elles représentent un des meilleurs indicateurs biologiques de l'état de santé des forêts et des traitements sylvicoles qu'on leur fait subir (Gilles Langlois, 1989).

En effet, un certain nombre de résultats de recherche indiquent de plus en plus clairement que la dégradation des sols, provoquée en partie par les pluies acides, influe sur les systèmes racinaires et les différentes espèces de champignons ectomycorhiziens. Entre autres,

il est mentionné que certaines espèces de champignons sont plus tolérantes que d'autres et que l'effet de l'acidification immobilise de plus en plus le phosphore, un des éléments qui peut être absorbé à faible concentration par les mycorhizes des arbres. En conséquence, une attention toute particulière doit être apportée aux associations ecto- et endomycorhiziennes présentes dans les différents milieux forestiers en vue de pouvoir les utiliser plus adéquatement comme indicateurs biologiques (Gilles Langlois, 1989).

#### 1.4.10. CHAMPIGNONS PATHOGENES (POURRIDIERS)

Les agents du pourridié sont fréquents dans les cultures fruitières où ils s'attaquent à toutes nos espèces cultivées, ainsi qu'à de très nombreuses essences ligneuses horticoles et forestières. Le pourridié agaric est un pathogène primaire des arbres fruitiers, alors qu'il est un pathogène de faiblesse sur les essences forestières. Quant au pourridié morille, il est fréquent sur les arbres à noyau, mais ses attaques sont bénignes et n'affectent que les petites racines. Il s'agit notamment du pourridié agaric, du pourridié laineux et du pourridié morille.



Figure 8 : Les carpophores du pourridié agaric observés au pied des arbres (Viret et Siegfried 1998)



Figure 9 : Rhizomorphes (faisceaux d'hyphes) du pourridié agaric sur une racine. (Viret et Siegfried 1998)

#### 1.2.11. LES DOMAINES D'UTILISATION DES MYCORHIZES

Ils peuvent être utilisés dans divers domaines d'activités. Il s'agit principalement de l'introduction dans les sols ou les substrats perturbés ou désinfectés. Les résultats attendus concernent l'ensemble des paramètres s'appliquant à la qualité des produits. Dans le domaine forestier, les techniques culturales sont particulièrement favorables :

- forte dépendance mycorhizienne des espèces forestières;

- pauvreté en éléments nutritifs des sols forestiers;
- limitation de l'usage des engrais pour cause de rentabilité et protection de l'environnement;
- production des jeunes plants dans des milieux favorables à l'inoculation (substrat pour les containers, sol en place désinfecté ou substrat pour la culture hors sol).

En Europe et aux Etats-Unis, les cultures sur sols ou substrats désinfectés sont en nette progression. Les productions telles que la fraise, l'asperge, la tomate, la vigne, le muguet ou les plantes aromatiques peuvent bénéficier de l'inoculation par les champignons formant des endomycorhizes à vésicule et à arbuscule. Les gains résultant de l'application de ces techniques sont l'amélioration de la reprise, la régularité des productions, la limitation de la fertilisation, l'amélioration de l'état sanitaire, l'amélioration de la qualité des produits.

## **CHAPITRE DEUXIEME : MATERIEL ET METHODES**

### **2.1. MILIEU D'ETUDE**

#### **2.1.1. SITUATION GÉOGRAPHIQUE**

La réserve forestière de Yoko est délimitée au Nord par la ville de Kisangani et les forêts perturbées, au Sud et à l'Est par la rivière Biaro qui forme une demi-boucle en suivant cette direction, à l'Ouest par la voie ferrée et la route le long de laquelle elle se prolonge des points kilométriques 21 à 38 (Lomba & Ndjele, 1998). Elle est régie par l'ordonnance loi n° 52/104 du 28/02/1959 du Ministère de l'Environnement et Tourisme (Rapport provincial de l'Environnement, 1989).

La réserve forestière de Yoko est une propriété privée de l'Institut Congolais pour la Conservation de la Nature conformément à l'ordonnance – loi n° 75-023 de juillet 1975 portant création d'une entreprise publique de l'Etat pour le but de gérer certaines institutions publiques environnementales telle que modifiée et complétée par l'ordonnance – loi n° 78-190 du 5 mai 1988.

Elle est baignée par la rivière Yoko qui la subdivise en deux parties dont la réserve nord avec 3 370 ha et la réserve sud avec 3 605 ha (Figure 1), soit une superficie globale de 6 975 ha.

Elle a comme coordonnées géographiques : longitude Nord : 00° 29' 40,2'', latitude Est – Ouest : 25° 28' 90,6'' et altitude : 435 m.

La réserve forestière de Yoko est située dans le district de la Tshopo, dans le territoire d'Ubundu et dans la collectivité Bakumu-Mangongo.

#### **2.1.2. CARACTERISTIQUES CLIMATIQUES**

En tenant compte des irrégularités dans le prélèvement des données climatiques de la réserve et en suivant sa situation à la périphérie de Kisangani, la réserve de Yoko bénéficie globalement du climat régional de la ville de Kisangani type Af, de la classification de KÖPPEN (Ifuta, 1993).

Ce climat est caractérisé par :

- la moyenne des températures du mois le plus froid supérieure à 18° C ;
- l'amplitude thermique annuelle faible (inférieure à 5° C) ;
- la moyenne des précipitations du mois le plus sec oscillant autour de 60 mm.

Cependant, la réserve forestière de Yoko présente quelques petites variations microclimatiques dues à une couverture végétale plus importante et au réseau hydrographique très dense. Les moyennes mensuelles des températures, de l'humidité de l'air et des précipitations mensuelles s'associent aux données climatiques de Kisangani.

### **2.1.3. TEMPERATURES**

Les variations des températures de l'air oscillent entre 22,4°C à 26°C. Le mois le plus chaud a été observé en mars 1995 et le plus froid en janvier 1992 (Cfr tableau annexe 2).

### **2.1.4. HUMIDITE**

En juillet 1992, juin et juillet 1994 ainsi qu'en décembre 1996, les moyennes mensuelles de l'humidité de l'air ont été les plus élevées (90 %). La moyenne mensuelle la plus basse s'observe en février 1992 (72 %). La moyenne annuelle la plus faible (81,6 %) est celle de 1987, la plus élevée (86,8 %) est observée en 1996 (Soki, 1994).

### **2.1.5. INSOLATION**

L'insolation relative de la région oscille entre 42 et 45 % dans l'atmosphère surmontant les forêts de l'Est de la République Démocratique du Congo. Le maximum se situe en janvier – février et le minimum est observé en août (Soki, 1994).

### **2.1.6. SOL DE LA RESERVE DE YOKO**

La réserve forestière de Yoko a un sol présentant les mêmes caractéristiques reconnues aux sols de la Cuvette Centrale congolaise. Ce sol est rouge ocre, avec un faible rapport silice-sesquioxyde de la fraction argileuse, une faible capacité d'échange cationique

de la fraction minérale, une teneur en minéraux primaires faibles, une faible activité de l'argile, une faible teneur en éléments solubles et une assez bonne stabilité des agrégats.

## **2.1.7. FACTEURS BIOTIQUES**

### **2.1.7.1. CHOROLOGIE**

La réserve forestière de Yoko étudiée se trouve dans la chorologie de l'ensemble de District de la Tshopo (Ndjele, 1988) :

- District Centro-oriental de la Maïko ;
- Secteur Forestier Central de Dewildeman (1913) ;
- Domaine Congolais (White, 1979) ;
- Région Guinéo-congolaise (White, 1993).

### **2.1.7.2. VEGETATION**

Le cadre phytosociologique de cette réserve est défini comme suit :

- la végétation de la partie nord fait partie de groupe des forêts mésophiles sempervirentes à *Brachystegia laurentii*, à l'alliance *Gilbertiodendrion*, à l'ordre des *Gilbertiodendretalia dewevrei* et à la classe des *Strombosio-Parinarietea* (Lebrun et Gilbert, 1954).
- la partie sud de la réserve appartient au type des forêts mésophiles sem-caducifoliées à *Scorodophloeus zenkeri*, à l'alliance *Oxystigmo-Scorodopheion*, à l'ordre des *Piptadeniastro-Celtidetalia* et à la classe des *Strombosio-Parinarietea* (Lebrun et Gilbert, 1954).

### **2.1.7.3. ACTION ANTHROPIQUE**

La réserve forestière de Yoko est soumise à l'activité des habitants des villages situés le long de la route Kisangani – Ubundu. Cet aspect a une importance dans l'interprétation des paysages botaniques.

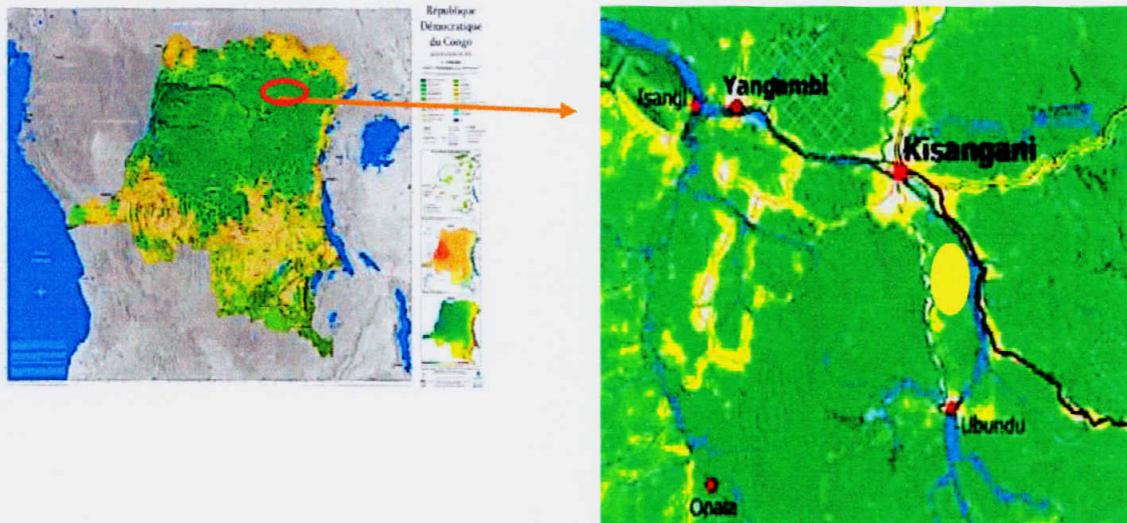


Figure 10. Carte de la RD Congo, Ville de Kisangani et localisation de la Réserve Forestière de Yoko (en petit cercle jaune). (Vancustem, 2006 ; Kumba L., 2007), Google earth))

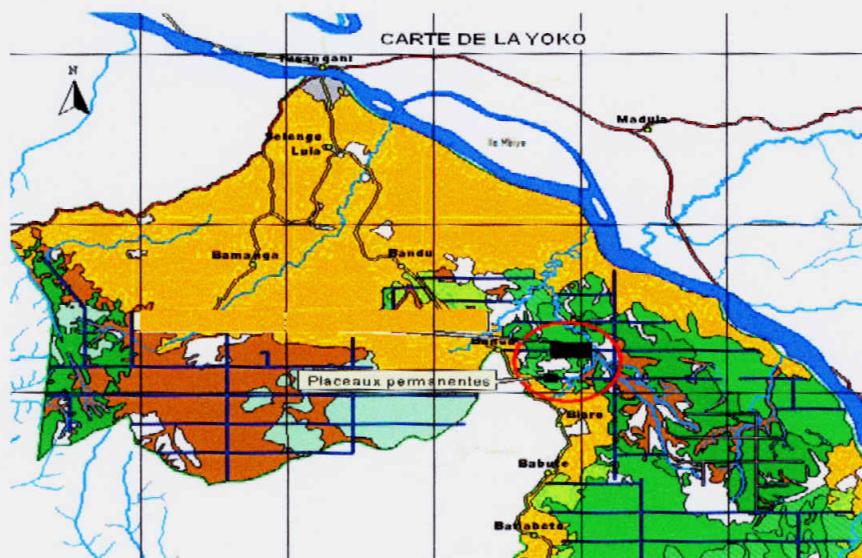


Figure 11 : Carte de la Réserve Forestière de Yoko.

## 2. 2. MATERIEL VEGETAL

Pour la présente étude, les expériences d'observation se sont focalisées sur l'espèce *G. dewevrei*. Cette espèce a été retenue, en raison de son peuplement et son extension remarquable dans la réserve forestière de la Yoko. Le *G. dewevrei* appartient au Super règne : [Eucaryote](#), Règne : [Plante](#), Division : [Magnoliophyta](#), Classe : [Magnoliopsida](#), Sous-classe :

Rosidae, Ordre : Fabales, Famille : Fabaceae, Sous-famille : Caesalpinoïdae, Tribus : Detariceae, Genre : Gilbertiodendron, Espèce : Gilbertiodendron dewevrei. Au total, deux cent quarante individus de *G. dewevrei* ont été sélectionnés dont 80 adultes et 160 jeunes plantules. Le tableau 1 présente le nombre d'individus dans chaque parcelle ainsi que la nature de l'individu. Des échantillons des racines, du sol et de la litière ont été prélevés.

Tableau 1 : Nombre d'individus sélectionnés dans chaque parcelle pour les observations des mycorrhizes

Parcelle	Caractéristique de la parcelle	% S.T de G.	Adultes	Plantules
1	Pure	60,6	10	20
2	Mixte	30,0	10	20
3	Mixte	16,0	10	20
4	Interface	39,8	10	20
5	Interface	35,7	10	20
6	Pure	58,2	10	20
7	Pure	77,3	10	20
8	Mixte	31,0	10	20
Total			80	160

Les prélèvements des racines se sont effectués sur des individus *G. dewevrei* ayant au moins 1cm de diamètre mesuré au collet. Au total 240 individus ont été pris en compte.

## 2.3. METHODES

### 2.3.1. LE SITE EXPERIMENTAL

Le site expérimental a été choisi dans le Bloc Nord de la réserve forestière de la Yoko où se trouve une forêt à *G. dewevrei*. Dans ce bloc, huit parcelles permanentes d'observation ont été mises en place. Les figures 12 et 13 illustrent quelques aspects de la forêt en *G. dewevrei*, respectivement avec individus jeunes et adultes de *G. dewevrei*.



Figure 12 : Forêt en *G. dewevrei*.



Figure 13 : Différents âges d'individus *G. dewevrei*.

### 2.3.2. LE DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Le dispositif expérimental utilisé a été installé dans le placcau de forêt en *G. dewevrei* mis en place dans le bloc nord de la réserve forestière de la Yoko. Huit parcelles d'observation de 50 m x 50 m chacune dont deux Interfaces, trois en peuplement mixte et trois en peuplement pur de *D. dewevrei* ont été choisies et considérées pour cette étude. Le dispositif expérimental est représenté par la figure 14.

2. Mixte	5. Interface	8. Mixte
1. Pure	4. Interface	7. Pure
	3. Mixte	6. Pure

Figure 14 : Dispositif expérimental.

### 2.3.3. COLLECTE DES RACINES

La collecte des racines a été effectuée pour le suivi de la dynamique du peuplement de *G. dewevrei* par des inventaires réguliers du devenir des jeunes plantules (avec un diamètre au collet de 0,9 cm mesuré à l'aide d'un pied à coulisse). Les racines fines ont été collectées à partir du collet pour les jeunes plantules et à au moins 1 m de distance pour les individus adultes. Dans chaque parcelle de 50 m x 50 m, 30 individus *G. dewevrei* ont été sélectionnés : 20 plantules avec le diamètre au collet compris entre 0,9 cm et 10 cm mesuré avec le pied à coulisse et 10 adultes avec le DBH supérieur ou égal 10 cm mesuré avec le mètre ruban.

Les racines fines, récoltées directement à partir de racines secondaires rattachées au collet, ont été scindées en échantillons ectomycorhiziens. Cette récolte des racines, a été faite dans les dix premiers centimètres du sol où se situent les racines fines superficielles des arbres forestiers. C'est à cette profondeur que le recyclage des éléments nutritifs est le plus intense et les racines sont totalement soumises à la symbiose ectomycorhiziennes (Blaise et Garbaye, 1983 ; Prévost et Pargney, 1995 ; Bakker et Coll 2000). Les racines ectomycorhiziennes (ECM) ont été collectées avec un peu de la terre et de la litière puis, enveloppées dans du papier aluminium (Figure 15 et 16). Les autres racines ont été rincées à l'eau, placées dans des sachets plastiques et conservées dans une solution à 50 % d'alcool de laboratoire à 95 % (ONGUENE, 1996).

Cette collecte de racines a été effectuée pendant la période allant d'avril à juillet 2009 sur 30 individus de *G. dewevrei* dans chaque sous-parcelle de 50 m x 50 m tel que indiqué dans le tableau 1. Ce qui fait un total de 240 échantillons pour les 2 ha sélectionnés. Ces racines ainsi récoltées avec de la terre et la litière ont servis au laboratoire pour les observations microscopiques et les analyses d'isolement pour la vérification de la présence des champignons mycorhiziens sur les racines de *G. dewevrei*.



Figure 15 : Racine rattachées au collet



Figure 16 : Racines prélevées avec de la litière et de la terre

#### 2.3.4. PRELEVEMENT DES MYCORHIZES SOUS CARPOPHORES

Pendant la saison de fructification, les prélèvements des carpophores de 3 espèces fongiques les plus fréquentes ont été réalisés. Les rhizomorphes et les cordons mycéliens ont été suivis, pour établir la relation entre carpophores et mycorhizes. Les espèces fongiques ont été alors décrites et photographiées. Plusieurs échantillons de racines ont été prélevés sous des carpophores d'une même espèce afin de pouvoir vérifier leur forme mycorhizienne.

#### 2.3.5. ANALYSE DE LABORATOIRE

Les échantillons des racines et des feuilles des plantes malades ont été amenés au laboratoire de Biotechnologie de la Faculté des Sciences (figure 17 et 18) pour les analyses. Les analyses qui ont été faites ont été notamment :

- observation des ectomycorhizes à partir des coupes transversales des racines au microscope à objectif inversé.
- observation des endomycorhizes,
- examen des feuilles de plantes présumées malades pour l'isolement des champignons pathogènes des celles-ci.



Figure 17 : Laboratoire de Biotechnologie de la Faculté des Sciences.

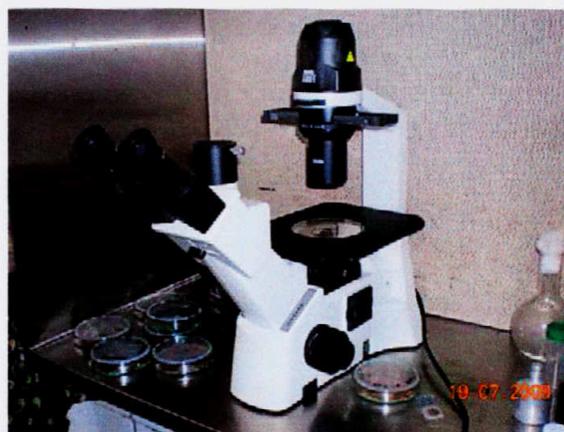


Figure 18 : Microscope à objectif à inversion de phase.

### 2.3.5.1. OBSERVATION DES ECTOMYCORHIZES

Dès la sortie sur terrain, les racines ectomycorhiziennes ont été placées dans une large boîte de Petri contenant de l'eau de robinet et ont été délicatement rincées. Moyennant une loupe, les ectomycorhizes ont été décrites à partir de la couleur du manteau et de la forme des bouts racinaires enflés. Cette description macromorphologique a été ensuite complétée par des préparations de fines coupes transversales de bouts racinaires montées entre lame et lamelle, légèrement écrasées, puis, observées sous microscope à un grossissement de 10 à 40x, afin d'étudier l'anatomie du manteau et du réseau de Hartig (AGERER, 1991).

Les racines ont été considérées comme ectomycorhizées lorsqu'elles étaient charnues, entourées d'un manteau fongique, dépourvues de poils absorbants et parfois ramifiées dichotomiquement comme le montre la figure 19. Dans les cas douteux, on a fait appel à l'observation microscopique des coupes transversales pour déceler le manteau et /ou le réseau de Hartig (Marx et Bryan, 1971 ; Harvey *et al.*, 1976).

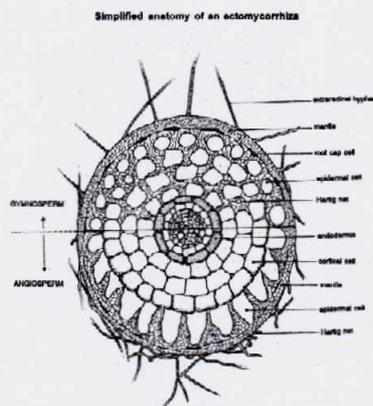


Figure 19 : Schéma de la coupe transversale d'une racine ectomycorhisée (THOEN, 2001).

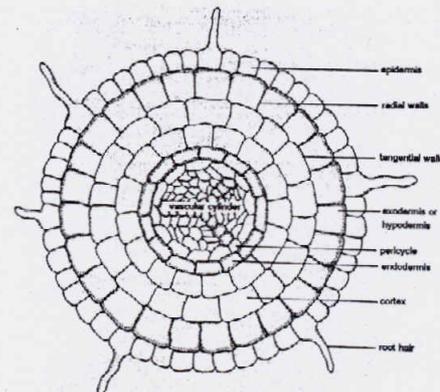


Figure 20 : Schéma de la coupe transversale d'une racine non-ectomycorhisée (THOEN, 2001)

### 2.3.5.2. OBSERVATION DES ENDOMYCORHIZES

Des échantillons des racines, environ 0,5 g de racines ont été sectionnés en fragments de 1 à 2 cm de long, avant d'être trempés dans 10% de potasse (KOH) pendant 24 heures (Philips et Hayman, 1970). Les racines de *G. deweyrei* fortement pigmentées ont été placées dans une solution de peroxyde à 10% mélangée à la soude diluée à 20% pendant une heure (Kormanik et McGraw, 1982). Les racines ainsi traitées ont été de nouveau rincées 3 fois à l'eau de robinet. Ensuite, elles ont été trempées dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 1% pendant 3 minutes. Après avoir enlevé l'acide, les racines ont été colorées dans une solution de fuchsine acide pendant 2 jours. La solution de fuchsine acide est fabriquée à partir de 1750 ml d'acide lactique, 126 ml de glycérine, 126 ml d'eau et 0,15 g de fuchsine acide. Enfin, les racines ont été décolorées pendant deux jours dans une solution d'acide lactique dépourvue de la fuchsine acide (Onguene, 1996, 2002).

L'examen qualitatif a consisté à choisir trois fois, et au hasard, 5 - 6 fragments (1 - 2 cm) de racines colorées par échantillon, à les monter entre lame et lamelle, à les écraser légèrement, puis, à les observer sous microscope à grossissements de 4 et 10 fois, et à noter les structures mycorhiziennes : arbuscules, cloisons d'hyphes, vésicules, hyphes intra- et intercellulaires, hyphes extra matricielles (Miller et Jastrow, 1992) et corps auxiliaires. Un échantillon de racine sera considéré comme portant des mycorhizes à arbuscules et vésicules (MAV) lorsque l'une au moins des structures caractéristiques suivantes est observées : points

de pénétration, arbuscules, vésicules, hyphes intra et intercellulaires, cloisons d'hyphes, corps ou vésicules auxiliaires sur les hyphes externes (caractéristiques des Gigasporineae, *Gigaspora* et *Scutellospora*)

### **2.3.5.3. CARACTERISATION DES MYCORHIZES**

La méthode de recherche dans la nature adoptée par Peyronel pour identifier les mycorhizes est encore d'actualité : les meilleures observations s'obtiennent en examinant les racines des plantes-hôtes tout près des carpophores qu'on peut trouver. Pour la description et caractérisation nous avons suivi les critères établis par Agerer et Ingelby (Agerer, 1987-1995 ; Ingelby *et al.* 1990). Les caractéristiques suivantes : la couleur des mycorhizes et le type de ramification ont été décrites. Par ailleurs, la surface du manteau fongique et la présence de rhizomorphes, leur couleur, forme et connexion au manteau, ainsi que la description des hyphes, ont été pris en considération.

### **2.3.5.4. IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS**

Pour l'identification des champignons ectomycorhiziens, des essais d'isolement ont été réalisés à partir des mycorhizes sur Potato Dextrose Agar (PDA) (Marx, 1969). Pour ce faire, des racines courtes mycorhizées ont été lavées à l'eau distillée et Tween 80 et après ont été stérilisées en surface avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 vol pendant 30 min (ABOUROUH M., 1995) ou l'eau de Javel du commerce diluée à 10% avec un contact de 1 à 2 minutes, suivi d'un autre lavage avec de l'eau stérile. Les cultures ainsi obtenues ont été comparées avec des cultures de souches fongiques obtenues à partir de carpophores (Diaz G. *et al.* 1996).

### **2.3.5.5. ISOLEMENTS DES CHAMPIGNONS DES PLANTES MALADES**

Pour l'analyse des plantes présumées malades, l'attention a été plus focalisée sur les jeunes plantules à partir de 1 cm de diamètre au collet jusqu'à 10 cm. Dans ce cas, les feuilles avec des tâches et les feuilles sans tâches ont été récoltées et amenées au laboratoire pour les analyses. Au total les échantillons des feuilles de 240 plantules ont été analysés en raison de 30 plantules par parcelle (plantules sélectionnés pour les observations des mycorhizes).

Figure 21 : Plantule de *G. dewevrei* attaquéeFigure 22 : Feuille de *G. dewevrei* attaquée.

A partir des échantillons de feuilles, l'isolement a été réalisé par la technique de décharge des ascospores sur milieu Agar, puis mis en culture des ascospores déchargées, sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (Carlier et *al.*, 2003). La technique de dépôt des feuilles directement sur le milieu de culture, ne nous a pas permis d'isoler le champignon (Paluku Z, 2008)

Les feuilles collectées ont été directement mises dans un papier enveloppe et les amener au laboratoire. La durée des feuilles de la collection à la mise à décharge ne doit pas dépasser une semaine, les feuilles ayant dépassé cette durée n'ont pas déchargées.

#### 2.3.5.5.1. LA MISE A DECHARGE.

Les morceaux de feuilles nécrosées ont été trempés dans l'eau distillée pendant 20 minutes, puis déposés sur les couvercles de boîtes de Petri inversées contenant de l'agar à 3%. Pour éviter le contact avec le milieu, les feuilles ont été découpées suivant la circonférence du couvercle de la boîte de Petri et agrafées sur du papier filtre. L'une de deux faces de la feuille doit être dirigée vers le milieu de culture. Les boîtes sont incubées à 25°C sous les UV pendant 12 heures. Les ascospores sont déchargées pendant la nuit et le matin suivant, elles sont prêtes à être repiquées.



Figure 23: Boîte de Petri avec agar et un morceau de feuille de *G. deweyrei* pour la décharge des ascospores

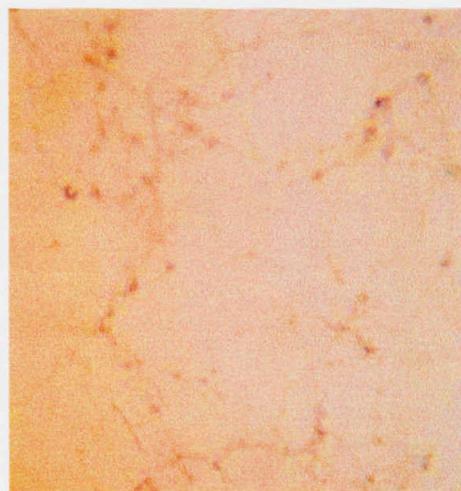


Figure 24 : Observation des cultures après décharge des ascospores

#### 2.3.5.5.2. LA MISE A CULTURE DES ASCOSPORES.

Les ascospores déchargées sur milieu gélosé ont été repiquées sur milieu PDA (39g/l) après décharge sur le milieu HA. Le repiquage se fait par l'observation sur un microscope à objectifs renversés et, à l'aide d'une aiguille de seringue, récupérer soigneusement une à une les ascospores déchargées. Trois répétitions pour chaque boîte déchargée, ont été repiquées. Les ascospores ont commencé à germer à partir du 3<sup>ème</sup> jour pour l'ensemble d'isolats après incubation à 30 °C.

#### 2.3.5.5.3. LA CARACTERISATION DES ISOLATS.

La caractérisation de différents isolats s'est faite à partir des observations macroscopiques et microscopiques. Pour la caractérisation, nous avons choisi un isolat issu du repiquage des ascospores sur PDA.

##### **La caractérisation macroscopique.**

La caractérisation macroscopique a concerné la coloration, la forme et croissance de mycélium sur milieu PDA. La coloration et la forme ont été déterminées sur une culture de 14 jours. L'évolution de la croissance a été suivie régulièrement pendant 14 jours.

### **2.3.6. SUIVI D'UNE JEUNE POPULATION DE *G. dewevrei***

Pour le suivi de la population de jeunes plantules de *G. dewevrei*, la quatrième parcelle (zone de contact) a été mise en observation. Dans cette parcelle, les plantules avec la taille comprise entre 1cm et 10 cm au collet ont été dénombrées. Leur évolution a été suivie pendant une période de 4 mois et chaque deux mois le dénombrement a été répété et les observations ont été notées. Durant cette période, l'état sanitaire (surtout les tâches foliaires) ainsi que la croissance de ces jeunes plantules ont été observés.

### **2.3.7. TRAITEMENT STATISTIQUE**

#### **2.3.7.1. Le pourcentage de plants mycorhizés**

Il correspond au rapport sur la centaine du nombre de plants pourvus de mycorhizes et du nombre total de plants observés (Maroneck *et al.*, 1982).

#### **2.3.7.2. Comparaison des parcelles**

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel R. version 2.5.0. Pour ce faire, la comparaison des parcelles entre elles par rapport au nombre d'individus mycorhizés et individus malades a été faite par le test de proportion.

## CHAPITRE TROISIEME : RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.1. RESULTATS

Dans ce chapitre, nous traitons les données obtenues sur une surface de 2 ha. Ici, sont exposés l'ensemble des résultats obtenus en 4 étapes. A savoir :

- Les résultats du dénombrement des individus jeunes et adultes des *G. dewevrei* dans chaque parcelle,
- Les résultats de la description des ectomycorhizes après observations microscopiques,
- Les résultats obtenus en faisant le prélèvement sous forme des carpophores des champignons présumés ectomycorhiziens de *G. dewevrei*,
- Les résultats obtenus après analyse des plantes malades.

#### 3.1.1. CARACTERISATION DES PEUPELEMENTS DES PARCELLES

Les parcelles dans lesquelles les observations ont été effectuées se distinguent suivant la surface terrière occupée par le *G. dewevrei* sur l'ensemble de toute la diversité végétale présente. En se référant aux résultats obtenus par Masiala (2009), les huit parcelles sélectionnées sont de trois physionomies différentes à la savoir : le peuplement pur (forêt dominante à *D. dewevrei*), l'Interface (zone de contact entre la forêt dominante et la forêt semi-caducifoliée) et le peuplement mixte (forêt semi-caducifoliée). La Figure 25, donne la physionomie correspondant à chaque parcelle concernée par cette étude.

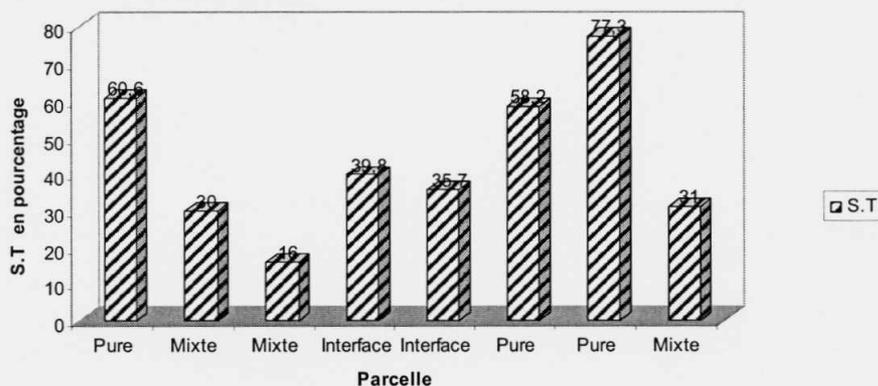


Figure 25 : Caractéristique du peuplement de chaque parcelle, à partir de la surface terrière (ST) occupée par le *G. dewevrei* (Masiala, 2009).

La figure 25 montre que le peuplement pur représente la forêt dominante à *G. dewevrei*. La ST de cette espèce représente 77,3%, 60,6% et 58,2% pour les trois parcelles. L'interface qui est la zone de contact entre la forêt dominante à *G. dewevrei* la forêt semi-caducifoliée présente une ST de 39,8% et 35,7% pour les deux parcelles. Enfin, la zone mixte qui est la forêt semi-caducifoliée représente 31%, 30% et 16% pour les trois parcelles. Le dénombrement des individus jeunes et adultes de *G. dewevrei* effectué pour chaque peuplement est présenté par la figure 26.

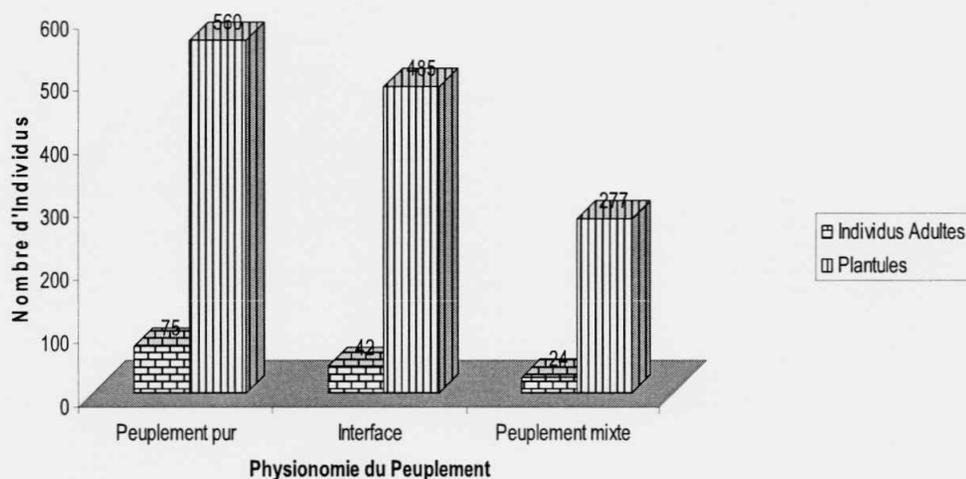


Figure 26 : Nombre d'individus adultes et jeunes de *G. dewevrei* dans les trois types de peuplement.

Il ressort de la figure 26 que le plus grand nombre d'individus adultes (75 individus) et plantules (560 individus) est observé dans le peuplement pur (forêt dominante à *G. dewevrei*, suivi de l'interface (zone de contact) (42 individus adultes et 485 plantules) et à troisième position se trouve le peuplement mixte (forêt semi-caducifoliée) avec 24 individus adultes et 277 plantules.

### 3.1.2. OBSERVATION DES ECTOMYCORHIZES SUR LES RACINES

Sur les racines de la plupart des individus sélectionnés, des structures indiquant la présence des ectomycorhizes ont été observées au microscope à l'objectif 40x et 100x inversé à partir des coupes transversales des racines montées entre lame et lamelle. Cependant, cette présence d'ectomycorhizes, n'a pas été observée chez certaines plantules. La

figure 27, donne les nombres d'individus adultes et plantules non-mycorhizés pour chaque peuplement.

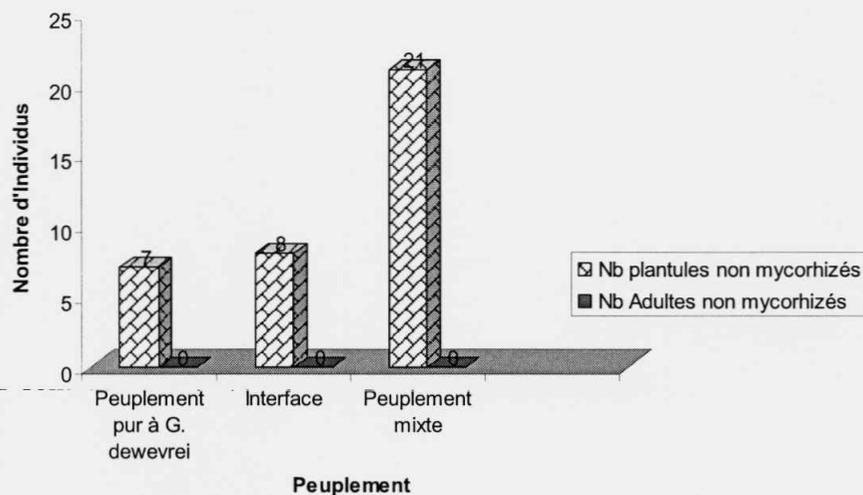


Figure 27 : Nombre d'individus non mycorhizés dans chaque Peuplement

L'analyse de la figure 27 montre que plus d'individus jeunes ectomycorhizés se retrouvent dans les parcelles en peuplement pur de *G. dewevrei* ou forêt dominante, suivi de l'interface. Alors que pour les individus adultes ou âgés, les racines étaient en totalité ectomycorhizées.

Les structures comme points de pénétration, arbuscules, vésicules, hyphes intra et intercellulaires, cloisons d'hyphes, corps ou vésicules auxiliaires sur les hyphes externes n'ont pas été observées dans les racines des individus sélectionnés. Ce qui veut dire que les racines d'individus qui ont été analysés ne portaient pas d'endomycorhizes.

### 3.1.3. ASPECTS MORPHOLOGIQUES ET ANATOMIQUE DES ECTOMYCORHIZES DES *G. dewevrei*.

Les observations en forêt suggèrent le caractère obligatoire de la symbiose mycorhizienne chez *G. dewevrei*. Dans tous les cas en coupe transversale la structure typique d'ectomycorhize : un manteau fongique et le réseau de Hartig ont été observés. Le tableau 2 présente les différents caractères d'ectomycorhizes observés.

Tableau 2 : La caractérisation des 4 types d'ectomycorhizes observés.

N°	Forme	Rhizomorphe	Réseau de Hartig	Couleur	Manteau
1	Indéfinie, sineuse	Hyphes septés sans boucle	net	Jaune	Lisse
2	Indéfinie, sineuse	Hyphes septés sans boucle	net	Jaune	Lisse
3	Indéfinie, sineuse	Hyphes septés Avec boucle	net	Brun	Cotonneux
4	Indéfinie, sineuse	Hyphes septés Avec boucle	net	Blanc	chevelu

Il ressort de ce tableau 2 que les ectomycorhizes observés présentent tous une forme indéfinie sineuse et aussi un réseau de Hartig net. Par contre, la couleur et le manteau d'une part, la forme des mycorhizes d'autre part ont apporté les premiers éléments de différence.

#### 3.1.4. PRELEVEMENT DES MYCORHIZES SOUS LES CARPOPHORES

C'est dans les peuplements dominés par des individus ectomycorhizés que les carpophores de champignons ont été observés et collectés pour description et identification. Les champignons suivants : *Cantharellus sp*, *Cantharellus cyanesnens* et *Russula cellulata* ont été prélevés, décrits et identifiés.

Tableau 3 : Identification et Caractéristiques morphologiques des champignons ectomycorhiziens prélevés sous forme de capophores d'Avril à Juillet 2009

N°	Aspect	Nombre des fois retrouvé	Lieu de prélèvement	Caractéristiques morphologiques	Identification	
					Espèces	Familles
1		6	Peuplement pur	Couleur jaune-orange du chapeau, la couleur grisâtre des lamelles.	<i>Cantharellus sp</i>	Cantharellaceae
2		3	Peuplement pur	Couleur foncée du chapeau, le stipe bleu grisâtre, le bleuissement de la chaire, la couleur crème grisâtre des lamelles.	<i>Cantharellus cyanescens</i>	Cantharellaceae

3		5	Peuplement pur	Chaire grisonnante sans rougissement ou brunissement préalable, jamais noircissant ; lamelles très serrées et fréquemment bifurquées. Chapeau gris brunâtre, palissant surtout vers la marge.	<i>Russula cellulata</i>	Russulaceae
---	---	---	----------------	---	--------------------------	-------------

Il ressort du tableau 2, que les trois espèces des champignons sont tous des Basidiomycètes et appartiennent à la famille de Russulaceae et Cantharellaceae. Ces trois espèces de champignons prélevées sous forme des carpophores ont toutes été prélevées dans les parcelles en peuplement dominant à *G. dewevrei*.

### 3.1.5. ANALYSE DES PLANTES PRESUMÉES MALADES

Lors de la décharge des ascospores à partir des feuilles de plantules de *G. deweyrei*, les résultats ont différés suivant chaque plantule. Les unes n'ont pas présenté la présence des champignons sur les feuilles alors que d'autres ont manifesté cette présence. La figure 28, illustre le nombre des plantes malades, présentant les taches foliaires et des perforations dans chaque peuplement.

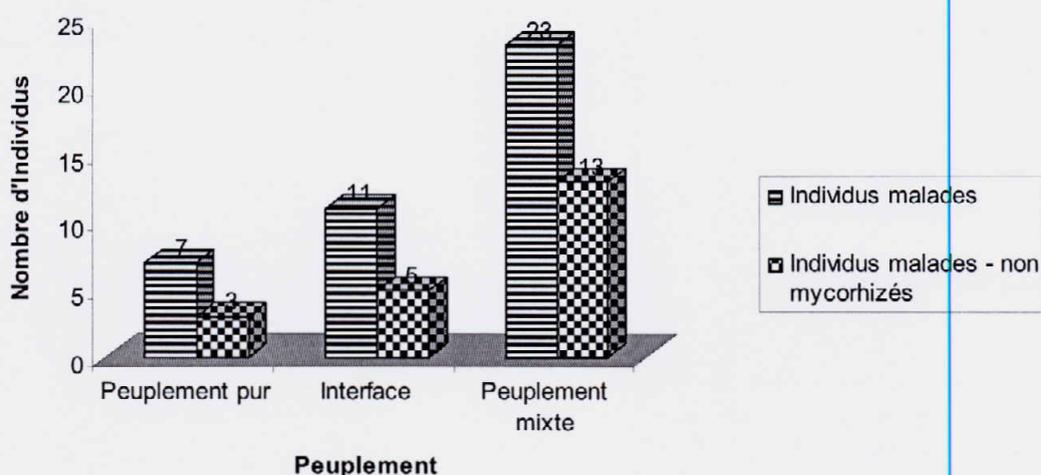


Figure 28 : Nombre d'individus Malade et non mycorhizés et présentant la maladie pour chaque physionomie

La figure 38, montre que le peuplement mixte présente le nombre le plus élevé d'individus malades (23 individus), suivi de l'Interface avec 11 individus malades. On remarque sur cette figure 28, que plus il existe d'individus non-mycorrhizés, plus il en existe également ceux qui sont malades. En effet, le peuplement mixte qui présente le nombre le plus élevés d'individus malades présente aussi le nombre le plus élevé d'individus non-mycorrhizés (13 individus) suivi de l'Interface.

Lors des essais d'ensemencement des feuilles des plantes sur le milieu HA et isolement et culture des ascospores sur le milieu PDA, les champignons présentés par les figures 29 et 32 ont été observés.



Figure 29 : Feuille de *G. dewevrei* attaquée.

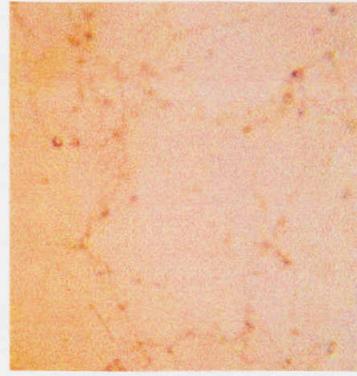


Figure 30 : Ascospores avec croissance du mycélium

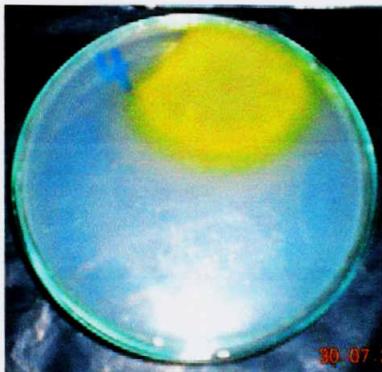


Figure 31 : Isolement sur milieu PDA après 2 jours d'incubation.

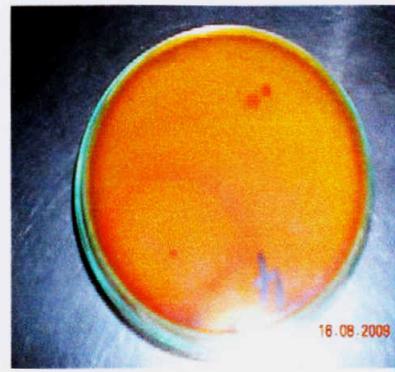


Figure 32 : Isolement sur PDA après 14 jours d'incubation.

Les champignons observés sur les feuilles des plantules de *G. dewevrei* présentant ou ne présentant pas des signes de mycorhizes n'ont pas encore été identifiés. La couleur de l'isolat évolue dès le deuxième jour d'incubation du jaunâtre au jaune à orange sur milieu PDA. Ces champignons n'ont pas été observés sur les individus sains. La figure 33, présente la comparaison des peuplements en nombre d'individus non-mycorhizés, individus malades et individus non-mycorhizés présentant des signes de la maladie.

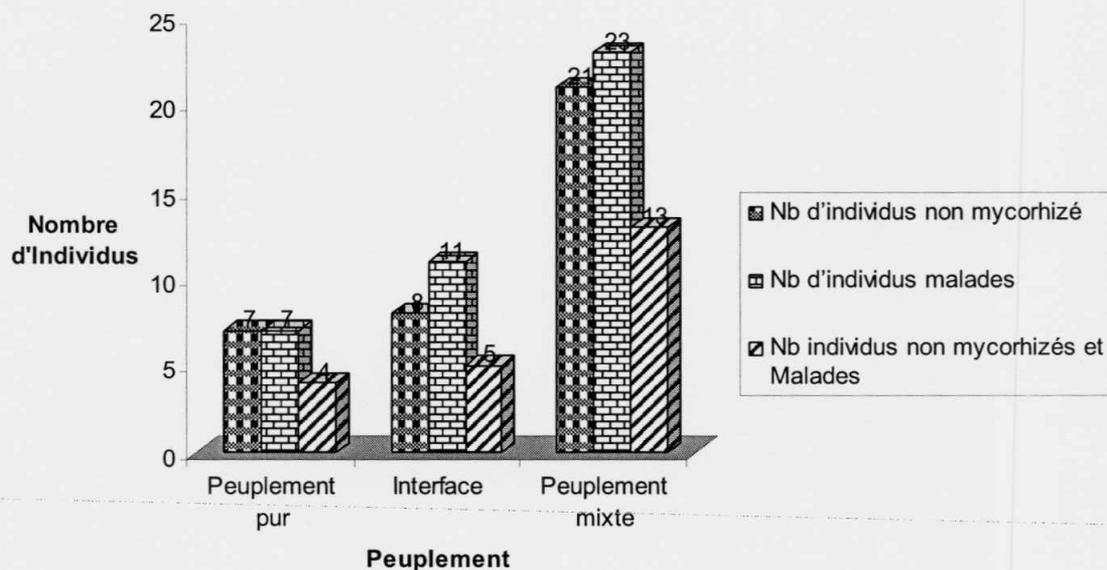


Figure 33 : Comparaison des peuplements en nombre d'individus non mycorhizés, individus malades et individus non-mycorhizé présentant la maladie.

Il ressort de la figure 33, que lorsque tous les trois physionomies des peuplements sont mises ensemble, le Peuplement mixte est le plus touché par le nombre d'individus malades, individus non mycorhizés et individus non-mycorhizés présentant la maladie (23, 21 et 13 individus) suivis de l'Interface (11, 8 et 5 individus) et en dernier lieu vient le Peuplement pur à *G. deweyrei* (7, 7 et 4). Après le test de proportion, les pourcentages d'individus non-mycorhizés, malades et non-mycorhizés-malades dans chaque peuplement sont illustrés par la figure 34.

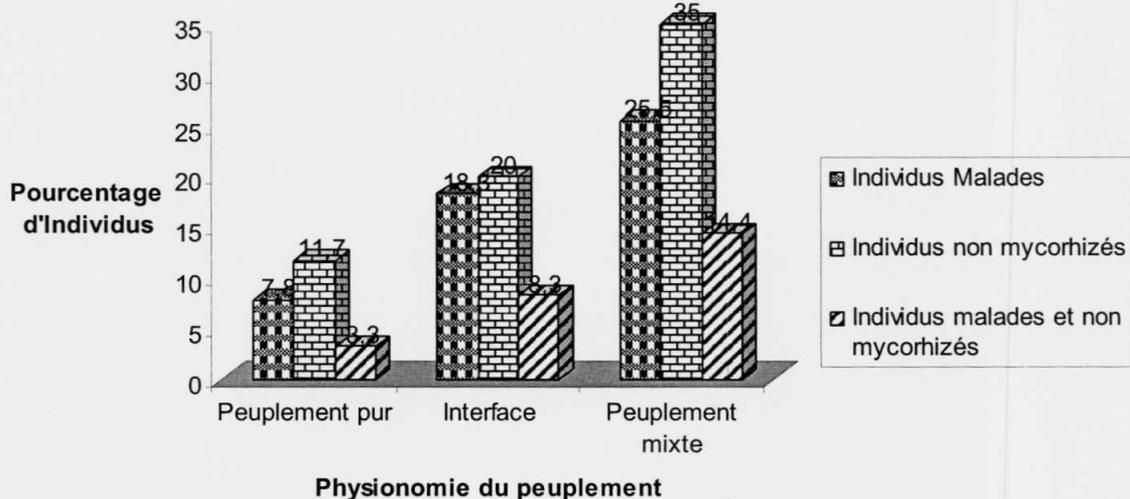


Figure 34 : Comparaison des peuplements en pourcentage d'individus non mycorhizés, individus malades et individus non-mycorhizé-malades après l'analyse statistique.

Il ressort de cette figure 34 que le peuplement mixte est plus a moins d'individus mycorhizés, plus d'individus malades et plus d'individus non-mycorhizés présentant la maladie par rapport aux deux autres peuplements. La zone d'interface vient à deuxième position. On remarque que plus il y a un nombre élevé d'individus mycorhizés, moins il y a d'individus malades et moins il y a d'individus non-mycorhizés présentant la maladie.

Lorsque les physionomies de peuplements sont comparées entre elles par le test de proportion, il en découle que les parcelles à Peuplement pur de *G. dewevrei* sont significativement différent (p-value 5%) des parcelles à peuplement mixte et de l'Interface. Il en est de même de l'Interface et des parcelles à Peuplement mixte.

### 3.1.6. SUIVI DE JEUNES PLANTULES

Les résultats obtenus après trois comptages des individus jeunes dans la quatrième parcelle qui est une zone de contact entre le peuplement dominante et le peuplement mixte sont présentés par la figure 35.

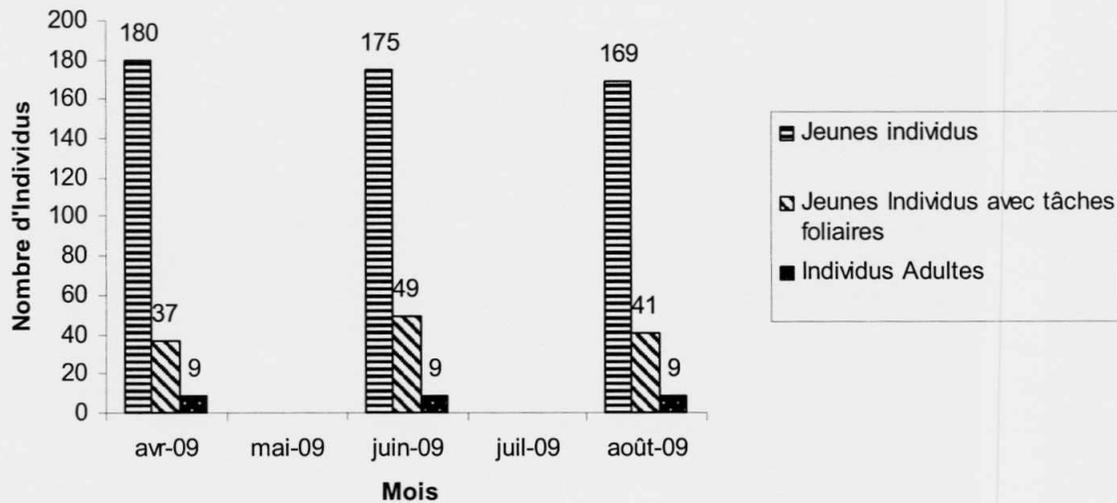


Figure 35 : Nombre d'individus de *G. dewevrei* dénombré chaque deux mois dans la parcelle interface

Cette figure 35 montre que le nombre de jeunes plantules ont évolué d'une manière décroissante pendant les 4 mois d'observation. Le nombre d'individus avec des taches foliaires a d'abord augmenté du mois d'avril 09 au mois de juin 09 pour décroître au mois d'août 09. Alors que le nombre d'individus adultes est resté constant, aucune perte n'avait été mise en évidence.

## 3.2. DISCUSSION

### 3.2.1. CARACTERISATION DES PHYSIONOMIES DES PEUPELEMENTS

La surface terrière occupée par l'espèce *G. dewevrei* par rapport à l'ensemble de la végétation disponible dans chaque parcelle considérée a permis de définir la physionomie du peuplement. A côté de cette surface terrière, la couverture de la canopée l'espèce peut aussi donner une idée sur la physionomie.

La physionomie d'un peuplement est déterminée à partir de la surface terrière occupée par une espèce suivant qu'elle est dominante ou non. En partant de la surface terrière occupée par une telle espèce végétale, un peuplement est dit dominant de cette espèce, si sa surface terrière représente au moins 60% de l'ensemble de la végétation. On parle de

l'interface ou zone de contact entre la forêt dominante et le forêt semi-caducifoliée si sa surface terrière est comprise entre 31% et 59%. En dessous de 30% de surface terrière, le peuplement est dit mixte ou forêt semi-caducifoliée.

### 3.2.2. OBSERVATION DES ECTOMYCORHIZES

Les résultats ont montré l'existence d'une dynamique complexe dans les différents peuplements à *G. dewevrei*, dû à l'action symbiotique entre les racines de ce dernier et les champignons. Cette symbiose est du type ectomycorhizien. Carbaya (1988), montre que pour de telles plantes, toutes les racines courtes absorbantes sont occupées par les champignons.

L'espèce *G. dewevrei*, est ectomycorhizé et non endomycorhizé. Cette présence de mycorhizes (surtout les ectomycorhizes) chez le *G. dewevrei* a été aussi observée par Onguene (1996 et 2004) dans la forêt tropicale humide du sud du Cameroun et par Kasha et ses collaborateurs (1989) lorsqu'ils ont étudié la symbiose racinaire chez quelques essences forestières importantes au Zaïre. Thoen (1989) aborde dans le même sens et Bâ et collaborateurs en 2000 tirent les mêmes conclusions dans la forêt guinéenne.

Cependant, en travaillant dans le peuplement à *G. dewevrei* et le *G. devevrei* étant l'unique espèce qui a été prise en compte, les endomycorhizes n'ont pas été observés chez celle ci. Or, d'après les résultats obtenus Onguene en 1999, lorsque il étudie l'abondance et la distribution des associations mycorhiziennes en forêt tropicale humide du sud Cameroun, remarquent que les écosystèmes forestiers des zones tropicales sont normalement dominés par des associations mycorhiziennes à arbuscules et vésicules (MAV). Ceci serait dû peut-être à la non-spécificité des champignons MAV pour leurs hôtes et à leur faible diversité comparativement aux champignons ectomycorhiziens.

Cette présence d'ectomycorhizes a été observée tant chez les individus adultes que chez les jeunes plantules. D'après De Kessel (2002), l'action des champignons ectomycorhiziens est absolument essentielle pour la survie des jeunes plantules, la régénération de la forêt et par conséquent l'équilibre de l'écosystème forestier. Dans le peuplement pur à *G. dewevrei*, le nombre d'individus adultes et jeunes étant élevé, il a été montré en suffisance que les mycorhizes sont à la base de la diversité floristique et permettent

ainsi le maintien de l'écosystème forestier par une meilleure adaptation aux conditions environnementales. Kendrick (1992) a fait le même constat lorsqu'il a étudié la symbiose mutualiste champignon-plante.

Dans la réserve forestière de la Yoko, en plus du caractère plus ou moins fermé du couvert forestier, il est probable que l'âge des arbres hôtes n'intervient pas dans la diversité des mycorhizes et dans la spécificité des champignons mycorhiziens non plus. Les quatre types d'ectomycorhizes qui ont été décrits (tableau 2) contribueraient ainsi au maintien et à l'extension du peuplement à *G. dewevrei*

Les trois peuplements étudiés sont significativement différents entre eux avec comme proportion d'individus non mycorhizés de 11,7 % pour le peuplement pur à *G. dewevrei*, 20,0 % pour l'Interface et 35,0 % pour le peuplement mixte. Dans tous les peuplements, le pourcentage des individus non mycorhizés a dépassé 40 %. Ceci confirme la mycorhization chez l'espèce *G. dewevrei* dans la réserve forestière de Yoko. Les figures 26, 27 et 28, montrent que plus il y a d'individus mycorhizés, moins il y a d'individu malades et plus il y a plus le maintien et extension du peuplement à *G. dewevrei* expliqué par un nombre d'individus adultes et jeunes élevé. Ce qui confirme notre première hypothèse qui dit que : l'extension de peuplements à prédominance de *Gilbertiodendron dewevrei* serait liée à la présence de microorganismes symbiotiques (champignons) qui protègent les plantules contre des microorganismes pathogènes adaptées à *G. dewevrei*.

### 3.2.3. CARACTERISATION ANATOMIQUE ET MORPHOLOGIQUE DES ECTOMYCORHIZES

La caractérisation anatomique et morphologique d'ectomycorhizes, a conduit à l'observation d'un manteau et un réseau de Hartig bien développé, qui prouve la présence d'ectomycorhizes typiques. Or, on sait que les manteaux des mycorhizes possèdent d'importantes capacités de stockage en particulier pour le phosphore. C'est dans le manteau épais capacité de stockage du phosphore est plus importante (Thoen et Ducouso, 1989).

Le manteau de ces ectomycorhizes présente une stratification très nette et coloration différentielle, le même cas a été observé chez *Uapaca chevalieri* dans le Foutan Djalou (Thoen et Deccouso, 1989). Ce manteau était associé avec des cordons mycéliens ou

des rhizomorphes, structures qui jouent un rôle important dans le transfert de l'eau et des nutriments du sol vers les racines (Duddridge et al, 1980).

Les différents ectomycorizes peuvent présenter de structures semblables, ou différentes. Le climat et sol sont parmi les facteurs qui influencent la structure morphologique et anatomique d'un ectomycorize. Thoen et Ducouso (1983) ont trouvé dans le Fouta Djalo les mycorhizes qui sont renflés et développés au niveau des racines courtes, leur morphologie et anatomie sont donc très proches de celles des ectomycorhizes de régions tempérées.

### 3.2.2. CHAMPIGNONS PRELEVES SOUS FORME DES CARPOPHORES

Comme présenté dans le tableau 3, trois espèces de champignons ont été prélevées sous forme de carpophores et ont été confirmées comme ectomycorhiziens de *G. dewevrei*. Ces espèces sont *Cantharellus sp.*, *Cantharellus cyanesnens* et *Russula cellulata*. Bien qu'il soit difficile de le constater sur le terrain, il ya déjà des recherches qui ont catégorisé certains genres de champignons qui contiennent en majorité des espèces ectomycorhiziennes. Les russules, les lactaires, la plupart des bolets et des amanites, les inocybes pour n'en citer que quelques-uns, appartiennent à cette catégorie (Thoen et Deccouso, 1989).

En Afrique tropicale les principaux genres ectomycorhiziens sont *Amanita*, *Russula*, *Lactarius*, *Cantharellus* et la majorité des Boletales (Verbeken et Buyck, 2001, Guidot et al. 2003) ainsi que des ascomycètes (truffes...) (Smith, 1997). La même observation est faite par Onguene (2000) au Cameroun. De ce qui précède, les résultats obtenus dans le présent travail, ne se sont pas écartés de ces genres. Ils n'ont fait qu'appuyer cette thèse. Les carpophores récoltés appartiennent au genre *Russula* et *Cantharellus* appartenant respectivement à la famille de Cantharellaceae et Russulaceae.

Ces deux familles de champignons ont déjà été reconnues comme renfermant des ectomycorhiziens. La liaison ectomycorhizienne des Caesalpiaceae avec les basidiomycètes a été mentionnée par Pyronel et Fassi (1957), Redhead (1969), Högberg et Nylun (1981), Alexander (1985), Högberg et Pearce (1986), Theon et Ba (1987), Buyck (1994a), Verbeken et Buyck (2001) et Onguene (2000).

Aussi, le *G. dewevrei* appartient à la famille de Caesalpiniaceae, famille réputé pour former des symbioses ectomycorhiziennes avec les champignons supérieurs (les Basidiomycètes). Dans le même angle, Codjia (2002) souligne que la microflore est donc d'une façon ou d'une autre influencée par la présence ou non et la proportion dans la flore des espèces de Caesalpiniaceae.

La seule espèce de *G. dewevrei*, dans les conditions de la réserve forestière de Yoko, est en association avec trois espèces de champignons. Le système racinaire de chaque arbre forestier est généralement associé à plusieurs espèces de champignons symbiotiques. Sur le même système racinaire, une seule espèce de champignon peut être représentée par plusieurs individus. Inversement, un même champignon peut vivre en symbiose avec plusieurs arbres voisins. Les associations symbiotiques sont indispensables à tous les écosystèmes forestiers, qu'ils soient tropicaux, tempérés ou boréaux (Alban, 2004).

Les considérations morphologiques et anatomiques d'une part et le nombre de carpophores récoltés au voisinage de *G. dewevrei* d'autre part, confirment la mycorhization de *G. dewevrei* par trois champignons d'espèces différentes. Ces trois espèces ont été récoltées durant la période allant d'avril à juillet 2009, période où ils ont été trouvés en phase de fructification.

Par ailleurs, plusieurs dizaines d'espèces fongiques peuvent cohabiter sur le système racinaire d'une même plante (Guidot et al, 2003). Deux grandes tendances émergent de l'ensemble des études récentes portant sur l'organisation des communautés d'espèces fongiques ectomycorhiziennes. D'une part, il est possible de distinguer au sein des communautés une minorité d'espèces « dominantes » uniformément réparties formant une large proportion des mycorhizes et une majorité d'espèces « peu fréquentes » aux distributions très fragmentées. D'autre part, il apparaît que les espèces dominantes sur les systèmes racinaires peuvent être sous-représentées voire absentes des inventaires de fructifications épigées qui surestiment souvent l'abondance de certaines espèces formant peu de mycorhizes.

#### **3.2.4. PLANTES MALADES**

Beaucoup des travaux montrent que les pathogènes provoquent moins de dommages chez les plantes mycorhizées que chez les plantes non-mycorhizées. Les plantes mycorhizées acquièrent une résistance contre les pathogènes. Dans la réserve forestière de

Yoko, la forêt semi-caducifoliée comptant plus d'individus non-mycorhizés avait aussi plus d'individus malades. Elsen et ses collaborateurs (2008) montrent que les mycorhizes limitent notamment l'extension des maladies racinaires provoquées par les nématodes. Khaosaad et collaborateurs (2007), Zhu et Yao (2004) abordent aussi dans le même sens et précisent que les mycorhizes entraînent une meilleure résistance envers pathogènes fongiques et bactériennes.

Dans les peuplements qui ont été mis en observation, il a été constaté que statistiquement, il y a une différence significative entre les peuplements. Selon qu'il y a plus d'individus non-mycorhizés, plus les nombres d'individus malades et le nombre d'individus malades non-mycorhizés est élevé. Cette maladie, conduit en définitive à la mort des plantules et induit ainsi une régression dans le peuplement, ce qui confirme la deuxième hypothèse selon laquelle : à l'absence des organismes symbiotiques, les bactéries, champignons ou tout autre organisme pathogène induiraient une régression dans le peuplement de *G. dewevrei* et une diversification des peuplements. Cette diversification du peuplement est documentée par la diminution de la surface terrière des espèces végétales dans un peuplement mixte ou une forêt semi-caducifoliée.

Le test de proportion appliqué aux individus malades montre une différence significative entre les peuplements. Le peuplement pur à *G. dewevrei* a présenté un pourcentage de 7,8, l'Interface de 18,3% et le peuplement mixte de 25,5%. Le même test appliqué aux individus non mycorhizés-malades montre aussi une différence significative entre ces différentes physionomies de peuplement. Le peuplement pur à *G. dewevrei* avec 3,3% d'individus malades non-mycorhizés. L'Interface avec 8,3% et le peuplement mixte avec 14,4%.

### **3.2.4. SUIVI DE JEUNES PLANTULES**

Au cours de quatre mois d'observation, une disparition de jeunes plantules malades a été remarquée. Il en est de même des individus malades non-mycorhizés. Cette maladie était due à la présence des champignons représentés par la figure 30 à 32. La plante non-mycorhizes est exposée à plusieurs agents pathogènes. En cas d'absence des mycorhizes, le système racinaire peut être attaqué et perturbe ainsi le système de la photosynthèse. Par

conséquent, cette perturbation se manifeste aussi au niveau des feuilles et conduit à la mort de la plante.

Dans la réserve forestière de la Yoko, précisément dans la forêt semi-caducifoliée, le cas de la disparition des plantes non mycorhizées et présentant des taches foliaires a été observé. En ramenant le nombre d'individus qui ont disparus pendant deux mois (8 plantules) en une année, le nombre sera considérable (48 plantules). Cette absence de la symbiose mycorhizienne, conduit à une régression dans le peuplement à *G. dewevrei*.

## CONCLUSION ET SUGGESTIONS

Le présent travail a porté sur l'étude microbiologique (champignons mycorhyziens) en relation avec les diverses situations d'extension/regression observées dans différents peuplements à *Gilbertiodendron dewevrei*. L'objectif principal poursuivi par cette étude était d'identifier et d'isoler les microorganismes (champignons) responsables de l'extension ou de la régression du peuplement dominant de *G. dewevrei* dans la réserve de Yoko.

Outre la méthode d'installation du dispositif expérimental de 50m x 50m, les racines de *G. dewevrei* ont été prélevées à partir du collet ou à une distance de 1 m de la plante. Les ectomycorhizes ont été observés au microscope à partir des coupes transversales montée entre lame et lamelle, et caractérisés anatomiquement et morphologiquement suivant les critères établis par Agerer et Ingelby (1987-1995 ; 1990). Par ailleurs, l'isolement des champignons responsables d'attaques foliaires chez les jeunes plantules de *G. dewevrei*, a été réalisé à partir de la technique de décharge d'ascospore sur milieu HA et la mise culture d'ascospore sur PDA. Pour l'analyse statistique, le test de proportion a été utilisé moyennant le logiciel R.

L'étude a porté sur trois aspects principaux, à savoir : caractérisation physiologique des peuplements à *G. dewevrei*, l'observation et caractérisation des ectomycorhizes, l'analyse des plantes malades et le suivi de jeune plantules de *G. dewevrei*.

De huit parcelles considérées, trois étaient des peuplements purs à *G. dewevrei* comptant 75 individus adultes et 560 plantules. Ensuite, trois étaient des peuplements mixtes représentant une forêt semi-caducifoliée avec 42 plantes adultes et 485 plantules et en deux interfaces représentant le zone de contact en les le peuplement pur et le peuplement mixte avec 24 adultes et 277 plantules.

Trois espèces de champignons récoltées sous forme des carpophores, ont été confirmées être en symbiose avec les racines de *G. dewevrei*. Les individus malades ont été observés partout avec un nombre élevé dans les peuplements mixtes suivi de l'interface. Après quatre mois d'observation d'une population de plantules de *G. dewevrei*, les nombres des plantules a baissé. Le test de proportion appliqué aux nombre d'individus mycorhizés,

nombre malades et le nombre d'individus non-mycorhizes malades a montré une différence significative entre les trois physionomies des peuplements.

Il ressort de différents résultats obtenus que :

- les huit parcelles représentaient trois physionomie différents à savoir : la forêt dominante à *G. dewevrei* (Peuplement pur), la zone de contact (Interface) et la forêt semi caducifoliée (Peuplement mixte).
- Le *G. dewevrei* est ectomycorhizé et non-endomycorhizé,
- Dans les conditions de la réserve forestière de la Yoko, le *G. dewevrei* est en symbiose avec quatre types d'ectomycorhize dont les espèces *Cantharellus sp.*, *Cantharellus cyanesnens* et *Russula cellulata* récoltés sous forme des carpophores,
- La diminution du nombre d'individus dans un peuplement est due à la maladie et absences des mycorhizes.

Ces observations nous ont permis de pousser la conclusion selon laquelle : les ectomycorhizes contribuent à l'extension du peuplement à *G. dewevrei*. Par contre, en cas d'absence d'ectomycorhizes il y a apparition d'organismes pathogènes qui, à la longue conduisent à une régression dans le peuplement.

La réserve forestière de la Yoko, constitue un réservoir de champignons ectomycorhiziens. Suite aux sols pauvres dominant la forêt tropicale, les ectomycorhizes jouent un rôle important dans la nutrition des arbres et, en particulier, dans l'approvisionnement en phosphore. A l'issue de cette étude, il serait souhaitable dans l'avenir, d'étudier l'abondance et la distribution des espèces ectomycorhizées en fonction des types des sols et de leur richesse en phosphore assimilable dans cette réserve.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abourouh, M., 1995, Les évaluations quantitatives des mycorhizes en pépinière et sur le terrain. Centre national de la recherche forestière Agdal, Rabat, Maroc, 13 p.
- Agerer, K., 1991. Characterisation of ectomycorrhiza. *Methods in Microbiology*. 23: 25-73.
- Agerer, K. 1987-1995, Colour atlas of ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag, Munich. Marx, G.C. et Kozłowski, T.T. (éds) 1993 *Ectomycorrhizae. Their Ecology and Physiology*. Academic Press, New York.
- Agerer, K., 1995, Anatomical characteristics of identified ectomycorrhizas : An attempt towards a natural classification. Dans : *Mycorrhiza : Structure, function, molecular biology and biotechnology*, Varma, A. et Hock, B. (éds). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 685-734.
- Alexander, M., 1967. Introduction to soil microbiology. John Willey and sons, Inc, New York, London. Sydney, 217 P.
- Arsen, W.L, 1990. Ecological combining ability and competitive combining in plants: toward a general evolutionary theory of coexistence in systems of competition. *American Naturalist*, 122, 707-731.
- Bereau, M., Garbaye J., 1994. First observations on the root morphology and symbioses of 21 major tree species in the primary tropical rainforest of French Guyana. *Ann. Sci. For.* 51:407-416.
- Bever, J.D, Westover KM et Antonovics J., 1997 Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of a feed back approach. *Journal of Ecology*, 85 561-571.
- Boullard, B. 1982. Brève réponse à une question : que recouvre la notion de mycorhize ? Dans : Gianinazzi, S., et V. Gianinazzi-Pearson. Les mycorhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation. INRA, Paris. Pages 15-21.
- Buyck, B., 1994. Ubwoba : les champignons comestibles de l'ouest du Burundi. Bruxelles, Belgique, AGCD, Publication agricole n° 34, 123 p.
- Campbell, N.A et Reece, J.B, 2004, Biologie, Adaptation et révision scientifique de Richard Mathieu, Deuxième édition, Bibliothèque Royale Albert premier, Bruxelles : 2004/0074/07, 1364 : 669-687.

- Carbaye, J, 1988. Les plantations forestières tropicales : un champ d'application privilégié pour la mycorhization contrôlée, INERA, Centre de Recherche Forestières de Nancy, Champenoux, 54280 Seichamps.
- Carriconde. F., Dispersion et colonisation chez le champignon ectomycorhizien *Tricholoma scalpturatum*, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, bât IVR3 b2, 31062, Toulouse cedex, 14P.
- Charest, C. Dalpé, Y et Brown, A. 1993. The vesicular-arbuscular mycorrhizae and chilling on two hybrids of *Zea mays* L. Mycorrhizae 4: 89-92.
- Charles-Gilles L. M., 1990, Les ectomycorhizes : biologie et utilisation, Service de l'amélioration des arbres, Direction de la recherche et du développement, Ministère de l'Énergie et des Ressources, 15P.
- Dalpé Y , 2000, Biodiversité des champignons mycorhiziens, Centre de Recherches de l'Est sur les céréales et les Oléagineux (CRECO), Direction Générale de la recherche, agriculture et agroalimentaire Canada, KIA OC6, 13p.
- Dehne, H.W. 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. Phytopathology 72: 1115-1119.
- 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 pages.
- Diaz, G M., Honrubia, G. Garcia et A. Gutierrez, 1998, Caractérisation des mycorhizes dans des bois de pin d'Alep sur le Sistema Ibérico (Espagne) Résultats préliminaires, DPTO. BIOLOGIA VEGETAL, FACULTAD DE BIOLOGIA, UNIVERSIDAD DE MURCIA, 301 00, MURCIA, Espagne, 42-50.
- Diédhiou, A.G, Guèye O, Diabaté M, Prin Y, Duponnois R, Dreyfus B, Bâ AM (2005) Contrasting responses to ectomycorrhizal inoculation in seedlings of six tropical African tree species. Mycorrhiza 16:11–17 doi :10.1007/s00572-005-0007-8
- Duñabeitia, M.K., Hormilla, S, Garcia-Plazaola JI, TxarterinaK, Arteché U, Becerril JM (2004) Differential responses of three fungal species to environmental factors and their role in the mycorrhization of *Pinus radiata* D. Don. Mycorrhiza 14:11–18 doi:10.1007/s00572-003- 0270-5.
- 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

- Elsen, A., Gervacio D., Swennen R. et De Waele D., 2008, AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect, Springer-Verlag 2008: 251-256
- Fassi, B. et Fontana A., 1961, le mycorhize de *Julbernardia seretti*, Caesalpiniaceae del Congo. *Allionia*, 7, 131-151 ; in KASSHA et al 1989, Symbioses racinaires chez quelques essences forestières importantes au Zaïre, Contribution n°382, Station de recherches, Agriculture Canada, Sainte-foy, Quebec, pp : 27-33.
- Fassi, B. et Fontana A., 1962, les micorrhize ectotrofiche di *Brachystegia laurentii*, e di alcune altre Caesalpiniaceae minori del Congo. *Allionia*, 8, 123-131 ; in KASSHA et al 1989, Symbioses racinaires chez quelques essences forestières importantes au Zaïre, Contribution n°382, Station de recherches, Agriculture Canada, Sainte-Foy, Quebec, pp : 27-33.
- Fassi, B., 1963, Die verteilung der ektotrophen mykorrhizen in der streu und in der oberen Bodenschicht der *Gilbertiodendron dewevrei* (Caesalpiniaceae) walder in : KASSHA et al 1989, Symbioses racinaires chez quelques essences forestières importantes au Zaïre, Contribution n°382, Station de recherches, Agriculture Canada, Sainte-foy, Quebec, pp : 27-33.
- Fondation Internationale pour la Science (FIS), 1992, Interactions plantes microorganismes. Compte rendu du séminaire régional organisé par la FIS et l'ORSTOM. Dakar, Sénégal.
- Garbaye, J. (1990). Pourquoi et comment observer l'état mycorhizien des plants forestiers. *Revue Forestière Française*, 17(1) : 35-47.
- Garbaye, J. (1984). Compétitivité des champignons ectomycorhiziens. Premiers résultats et application à la sélection de souches pour la mycorhization contrôlée du hêtre et du chêne rouvre dans le nord-est de la France. *Revue Forestière Française*, 36 (1) : 33-43.
- Garbaye, J., 1988, Les plantations forestières tropicale : un champ d'application privilégié pour la mychorization contrôlée, *Revue bois et forêt des tropique*, n° 216, 2<sup>ème</sup> trimestre. 13p.
- Garbaye, J. (1990). Pourquoi et comment observer l'état mycorhizien des plants forestiers. *Revue Forestière Française*, 17(1) : 35-47.
- Garbaye et Guehl, 1997 : Les mycorhizes, Une fascinante biocénose en forêt\*
- Gilber, G., 2002, Evolutionary ecology of plant diseases in natural ecosystems, University of California, environnement Studies Departement, 32P.

- Guidot., Debaud J.C et Marmeisse R., 2003, Nouvelles approches pour l'étude des populations de champignons ectomycorhiziens : typage génétique des mycorrhizes et analyse de l'ADN du sol Laboratoire d'Écologie Microbienne, UMR CNRS - Université Lyon 1, 69622 Villeurbanne Cedex, France, 479-489.
- Hart, M.M, Reader, R.J et Klironomos JN 2003 Plant coexistence mediated by arbuscular mycorrhizal fungi. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 18, 418-423.
- Harvey, A.E., Larsen, M.J. et Jurgensen, M.F. (1976). Distribution of ectomycorrhizae in a mature Douglas-fir/Larch forest soil in western Montana. *For. Sci.*, 22 : 393-398. In Meotto :
- Hooper, D.U et Vitousek PM 1997 The effects of plant composition and diversity on ecosystem processes. *Science*, 277, 1302-1305.
- Horton, T.R., Bruns T. D. 2001, The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology : peeking into the black-box, *Mol. Ecol.* 10 : 1855-1871.
- Huston, M.A., 1977, General hypothesis of species diversity. *American Naturalist*, 113, 81-101. Janos DP 1980 Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica*, 12, 56-64.
- Ingelby, K., Mason, P.A., Last, F.T. et Fleming, L.V. (1990). *Identification of ectomycorrhizas*. Institute of Terrestrial Ecology, publication No. 5, London.
- IRD, 2002, Forêt perturbée : Champignons et Bactérie au secours de la forêt, les dossiers Sciences au Sud, Octobre 2002, Journal IRD, 4P.
- Jalali, B.L, 1986, Vesicular-arbuscular mycorrhiza : current statut. In : *vista in plant pathologie*. (Verma A. et Verma J.P. eds), malhotra publishing house, New Dalhi, India, 437-449.
- Kasha, P., Furla V. et Lumanda K., 1989, Symbioses racinaires chez quelques essences forestières importantes au Zaïre, Contribution n°382, Station de recherches, Agriculture Canada, Sainte-foy, Quebec, pp : 27-33.
- Khaosaad, T., Garcia-Garrido JM, Steinkellner S, Vierheilig H., 2007 Take-all disease is systemically reduced in roots of mycorrhizal barley plants. *Soil Biol Biochem* 39:727-734.
- Kendrick, B. 1992, Mycorrhizae : mutualistic plant-fungus symbioses. Dans : *The fifth kingdom*. Focus Information Group, Inc. Newburyport, MA. Pages 262-286.

- Kormanik P.P., MCGRA W., 1982. AC Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. *In* : Methods and Principles of Mycorrhizal Research. (Schenck NC, ed.) Univ. Florida Ann. Phytopathol. Soc. St Paul, Minnesota, p. 37-45.
- Kumba, L, 2007, Analyse de la structure spatiale des données ponctuelles par les méthodes des distances appliquées en écologie du paysage Cas de *Gilbertiodendron dewevrei* (De Wild.) J.Léonard, *Scorodophloeus zenkeri* Harms et *Uapaca guineensis* Mull. Arg. dominantes dans la réserve forestière de la Yoko, Kisangani, RD Congo. DEA inedit, Faculté des Sciences/UNIKIS, 73P.
- Lauriac, A., 2003, Sous les forêts, la truffe... Biologie et écologie des « diamants noirs » Centre Régional de Propriétés Forestières, Languedoc Roussillon ingénieur au CRPF Languedoc-Roussillon, 10p.
- Leyval, C. Weissenhorn, I. Glashoff, A et Berthelin, J. 1994. Influence of heavy metalson germination of arbuscular-mycorrhizal fungalspores in soils. *Acta Bot. Gallica* 141: 523-528.
- Lodge D.J., 1987. Resurvey of mycorrhizal associations in the El verde rain forest, PuertoRico. *In* : Mycorrhizal in the next decade. Sylvia D.M., Hung L.L., Graham J.H. eds. Univ.Florida, Gainesville, 127 p.
- Maronek, D.M., Hendrix, J.W. et Cornelius, P.L. (1982). Slow-release fertilizers optimize mycorrhizal development in container-grown pine seedlings inoculated with.
- Martin, T., 1998, Effets des champignons endomycorhtziens sur le bouturage et la croissance de plantes ligneuses ornementales, mémoire présenté à la faculté des études supérieures de l'Université Laval pour l'obtention du grade de maîtrise en sciences (m.sc.), Université Laval, 45p.
- Marx, D.H. et Bryan, W.C. (1 971). Influence of ectomycorrhizae on survival and growth of aseptic seedlings of loblolly pine at high temperature. *For, Sci.*, 17 : 37-41. In Meotto
- Marx, D.H., Hatch, A.B., et Mendicino, J.F. (1977). High soil fertility decreases sucrose content and susceptibility of loblolly pine roots to ectomycorrhizal infection by *Pisolithus tinctorius*. *Can. J. Bof.*, 55 : 1569-1574.
- Meotto, F., 1999, Caractérisation des mycorhizes sur le terrain, CENTRO DI STUDIO SULLA MICOLOGIA, DEL TERRENO (CNR), VIALE MATTIOLI, 25, Italie, 1 01 25 – TORINO : 33 – 41P.
- Miller, R.M. et Jastrow, J.D. (1992). Extraradical hyphal development of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a chronosequence of prairie restorations. Dans

- : Mycorrhizas *in* ecosystems, Read, D.J., Lewis, D.H., Fitter, A.H. et Alexander, I.J. (éds), CAB International, pp. 171 -176. In Meotto :
- Nadia, D. et Lyne G., 2002, Les champignons mycorrhiziens, PISTES/Université Laval, Canada, 12P.
- Nara, K., 2006a, Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytol* 169:169–178 doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01545.x
- Newbery, D.M., Alexander I.J., Thomas D.W., Gartlan J.S., 1988, Ectomycorrhizal rain forest legumes and soil phosphorus in Korup National Park, Cameroon, *New Phytol.* 109: 33-50.
- Onguene, R.A., 1996, Abondance et distribution des associations mycorrhiziennes en forêt tropicale humide du sud Cameroun, Séminaire FORAFRI de Libreville, Programme Tropenbos Cameroun, 13P.
- Onguene, N.A., Tsimi J.P.M et Balla M.J.E., 2002, Statut mycorrhizien de l'okoumé (*Aucoumea klaineana* Pierre) en régénération artificielle au sud Cameroun, *TROPICULTURA* 20, 3, 104-108.
- Onguene, N.A. et Kuyper T.W., 2004, Se nourrir de champignons en forêts camerounaise, IRAD, Yaoundé, 24.
- Paradis, R., Dalpé, Y et Charest, C. 1995. The combined effect of arbuscular mycorrhizas and short-term cold exposure on wheat. *New Phytol.* 129: 637-642.
- Philips J.M., Hayman D.S., 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society.* 55 : 158-160.
- Pisolithus, T. J., Cordier C, Pozo M.J, Barea JM, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V., 1998 Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Mol Plant Microbe In* 11:1017–1028
- Pozo, MJ, Cordier C, Dumas-Gaudot E, Gianinazzi S, Barea JM, Azcon- Aguilar C (2002) Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defense responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *J Exp Bot* 53:525–534
- REDHEAD J.F., 1968, Mycorrhizal associations in some Nigerian trees. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 51: 377-387.
- Raven, P.H. et Johnson, G.B, 2002, *Biology*, library of congress cataloguing-in-publication data, sixth edition, the international edition ISBN 0-07-112261-3, 238 : 719-734.

- SANON, A.A, 2005. Rôle des champignons mycorhiziens à arbuscules dans les mécanismes régissant la coexistence entre espèces végétales, Mémoire en vue d'obtenir le D.E.A. National de SCIENCE DU SOL, UNIVERSITE HENRI POINCARÉ – NANCY. 28P.
- Shetty, K.G., Herick, B.A.D et Schwab, A.P. 1995. Effects of mycorrhizae fertilizer amendments on zinc tolerance of plants. *Environmental pollution* 88: 307-314.
- Zhu, H.H, Yao Q (2004) Localized and systemic increase of phenols in tomato roots induced by *Glomus versiforme* inhibit *Ralstonia solanacearum*. *J Phytopathol* 152:537–542
- Smith, S. E., Read, D.J. 1997, *Mycorrhizal Symbiosis*, 2nd Ed. Academic Press, San Diego, 605 p.
- SOKI, K. 1994. Biologie et écologie des termites (Isoptère) des forêts ombrophiles du Nord
- Subramania, K.S., Charest, C. Dwyer, L.M et Hamilton, R.I. 1995. Arbuscular mycorrhiza sand water relations in maize under drought stresses at tesseling. *New Phytol.* 129: 643-650.
- Sylvia, D.M ; Williams, S.E. ; 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environment stress. In *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. G.J. Bethlenfalvay et R.G. Linderman Eds ASA Special Publication Number 54, Madison Wisconsin 101-124.
- Takahide, A. Ishida ; Nara K., ; Shurong M.A. ; Takano, T. et Shenkui, L, 2008, *Ectomycorrhizal fungal community in alkaline-saline soil in northeastern China*, Springer-Verlag 2008 : 339-336
- Thoen D., 1974, Premières indications sur les mycorhizes et les champignons mycorhiziens des plantations d'exotiques du haut-Shaba (République du Zaïre), *Bulletin de la recherche Agronomique, Gembloux*, 9, 215-227.
- Tilman, D. 1982, Resource competition and community structure - *Monographs in Population Biology. Princeton University Press, Princeton, 128 pp.*
- Van der Heijden ,E.W, Kuyper, T.W., 2001, Laboratory experiments imply the conditionality of mycorrhizal benefits for *Salix repens*: role of pH and nitrogen to phosphorus ratios. *Plant Soil* 228:275– 290 doi:10.1023/A:1004850423794, pp 315–322.
- Vancustem, C., Pekel, J.-F, Evrard, C, Malaisse, F. et Defourny, 2006, *Carte de l'occupation du sol de la République Démocratique du Congo au 1: 3 000 000*. Notice explicative. Presse universitaire de Louvain, 31 p.