

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

*Union - Discipline – Travail*

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



Institut National Polytechnique

Félix HOUPHOUËT-BOIGNY



UMRI : SCIENCES AGRONOMIQUES ET GENIE RURAL

Année universitaire 2016-2017

N° d'ordre : 004/2017

**THESE**

Pour l'obtention du titre de

**DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE FÉLIX HOUPHOUËT-  
BOIGNY DE YAMOOUSSOUKRO EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

Spécialité

**Agroécologie et Microbiologie des sols**

**THEME :**

**AMÉLIORATION DE LA PRODUCTIVITÉ DE  
VIVOPLANTS DE BANANIER PLANTAIN PAR  
INGÉNIERIE BIOLOGIQUE**

Présenté et soutenu publiquement le 06 Mars 2017, par

**AMOA Amoa Jésus**

**JURY :**

<b>M. YAO Kouassi Benjamin</b>	Professeur Titulaire	INP-HB	Président
<b>M. ZEZE Adolphe</b>	Professeur Titulaire	INP-HB	Directeur
<b>M. ZOZOU Michel</b>	Professeur Titulaire	UFHB	Rapporteur
<b>M. KOUAKOU Tanoh Hilaire</b>	Professeur Titulaire	UNA	Rapporteur
<b>M. ZAKRA Assolou Nicodème</b>	Directeur de Recherches	CNRA	Examineur

# DÉDICACE

*A*

*La famille AMOË,*

*Aliza ASSALE,*

*cette thèse est dédiée !!!*

---

# REMERCIEMENTS

---

Ce mémoire de thèse est le fruit d'un travail de recherche mené dans le cadre du projet IVO-RHIZE au sein du Laboratoire de Biotechnologies Végétales Microbiennes (LBVM) de l'Unité Mixte de Recherche et d'Innovation (UMRI) en Sciences Agronomiques et Génie Rural de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB). Il a été réalisé grâce au concours et au soutien de plusieurs personnes physiques et morales à qui je voudrais exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude.

## **Aux bailleurs de fonds**

J'aimerais tout d'abord remercier la Banque Mondiale et le FIRCA pour le financement de mon projet de thèse dans le cadre du Programme de Productivité Agricole en Afrique de l'Ouest (PPAAO/WAAPP).

## **A mon directeur de thèse**

Je remercie le Professeur **ZEZE Adolphe** qui a dirigé ces travaux pendant ces quatre années passées dans une ambiance de travail stimulante. Pour les échanges que nous avons eu, tant au niveau professionnel que personnel. Pour l'écoute attentive de mes points de vue, sa patience, sa compréhension et son soutien dans les moments difficiles de la thèse et aussi pour le long travail de correction.

## **Aux responsables administratifs**

Je souhaite remercier les directeurs de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny de Yamoussoukro (Docteur **KOFFI N'Guessan**), de l'Ecole Doctorale Polytechnique (Professeur **YAO Kouassi Benjamin**) et de l'Unité Mixte de Recherche et d'Innovation (Professeur **BROU Yao Casimir**) pour leur contribution scientifique, matérielle et financière.

## **Aux membres du jury**

Je tiens à remercier les membres du jury de thèse d'avoir accepté de prendre le temps de lire mes travaux de thèse, d'y réfléchir et de les examiner et d'avoir contribué à parfaire le présent document : Professeur **YAO Kouassi Benjamin** de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny de Yamoussoukro (Président), Professeur **KOUAKOU Tanoh Hilaire** de l'Université Nandjou Abrogoua (Rapporteur), Professeur **ZOUZOU Michel** de l'Université

Félix Houphouët-Boigny (Rapporteur), et Docteur **ZAKRA Assolou Nicodème** du Centre National de Recherche Agronomique (Examineur).

### **Aux membres des comités de suivi de thèse**

Pour leurs conseils avisés, leurs questions et leurs analyses, je voudrais remercier les membres des comités de suivi de thèse, à savoir : Professeur **ZORO Bi Irié Arsène** de l'Université Nangui Abrogoua, Professeur **ZIHIRI Guédé Noël** de l'Université Félix Houphouët Boigny, Professeur **KONÉ Mongomaké** de l'Université Nangui Abrogoua et Professeur **ABO Kouabenan** de l'INP-HB.

### **A l'équipe du Laboratoire de Biotechnologies Végétale Microbienne**

Merci à toute l'équipe du Laboratoire de Biotechnologies Végétale Microbienne de m'avoir accompagné dans mon travail. Merci au personnel du Département d'Agriculture et Ressources Animales. Pour les échanges scientifiques fructueux, merci aux Docteurs **VOKO Bi Rosin Don Rodrigue** et **NANDJUI Jacob**. Pour leur soutien, leur disponibilité et leur convivialité tout au long de cette aventure universitaire de plus de neuf ans, merci à mes collègues et amis **KOUADIO Aka Niangoran Marie-Stéphanie** et **SERY Jean Marc**. Pour leur aide à l'expérimentation, merci aux membres de l'équipe « Banane plantain » : **GBONGUÉ Louis Raymond**, **KAFROUMA Konin Aristide** et Docteur **FOTSO Beaulys**.

### **À ma famille et à mes proches**

Je remercie ma famille pour leurs encouragements, leur écoute, leur inquiétude, leur patience ; pour leur soutien moral et financier infaillible. Merci à mon père **AMOA Kouakou René**, par ailleurs mon maître de CP 1, pour la curiosité scientifique et le courage de faire de longues études qu'il m'a inculqués. Merci à ma mère **N'DA Ahoba** pour son amour et ses prières. Merci à mes 6 frères et sœurs qui ont toujours su me motiver en entretenant une saine émulation au sein de la fratrie.

Merci à **ASSALE Aliza** pour sa disponibilité, sa compréhension et son soutien moral et affectif.

# RÉSUMÉ

Le bananier plantain, culture de grande consommation en Côte d'Ivoire, est confronté aux difficultés d'accès au matériel végétal, d'utilisation de variétés non améliorées et de techniques agricoles peu performantes. Pour pallier ces insuffisances, la technique de « Plants issus de fragments de tiges » a été développée et constitue, la méthode clé pour la production de plantules de bananier plantain en Côte d'Ivoire. La présente étude est menée afin de mettre au point une ingénierie biologique à base de champignons endophytes pour améliorer cette technique. Dans un premier temps, la structure des communautés des champignons mycorhiziens arbusculaires indigènes de trois zones agroécologiques - Abengourou, Azaguié et Bouaflé - a été étudiée en utilisant la technique Illumina Miseq. Cette étude a montré que les champs de bananier plantain contiennent une communauté diversifiée de champignons mycorhiziens. Les genres *Acaulospora* et *Rhizophagus* ont été les plus abondants et les plus ubiquitaires. Quatre souches indigènes - *Glomus clavisporum*, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora sp* - ont été isolées et leur efficacité sur l'amélioration de la qualité de deux cultivars de plantain, Orishele et FHIA 21, a été évaluée. La mycorhization a permis d'accroître l'activité photosynthétique et la croissance des vivoplants issus du PIF. Les vivoplants inoculés avec *Rhizophagus proliferum* ont le taux de mycorhization le plus élevé. Une dépendance relative à la mycorhization de 79,81 % pour le cultivar Orishele et de 42,55 % pour le cultivar FHIA 21 a été observée. Les souches *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum* ont été les plus performantes. Ces souches ont donc un potentiel de production de plants endomycorhizés de plantain. Par la suite, l'effet de ces deux souches locales sur la croissance et le rendement de vivoplants de bananier plantain en champ a été comparé à l'inoculum commercial Myke Pro ®. Les inoculants mycorhiziens ont amélioré la croissance du bananier plantain ainsi que le rendement de 20,86 - 40,17 % à Yamoussoukro et de 11,45 - 54,29 % à Bouaflé. Globalement, les souches indigènes, plus adaptées aux conditions environnementales, ont eu le meilleur effet sur la croissance et le rendement de plantain. Ces souches présentent donc un grand potentiel pour la formulation d'inoculum commercial à base de mycorhizes locaux. Les endophytes *Neosartorya laciniosa* et *Talaromyces assiutensis* ainsi que trois souches de *Fusarium solani* ont été isolés des tissus de bananier provenant de la zone d'Azaguié. La souche *Neosartorya laciniosa* a l'effet de biocontrôle le plus efficace ( $CI_{50} = 0,8$  g/L et  $CI_{90} = 7,6$  g/L) sur les souches de *Fusarium solani*.

**Mots-clés** : Champignons mycorhiziens à arbuscules, Côte d'Ivoire, Endophytes, Ingénierie biologique, Plantain, Souches locales, Vivoplants.

# ABSTRACT

Plantain, an important staple crop in Côte d'Ivoire, is facing issues such as lack of planting material, varieties and inefficient agricultural techniques. To overcome these issues, the technique of "Stem fragments" has been developed and is the key method for the production of plantain seedlings in Côte d'Ivoire. The present study is conducted to develop biological engineering based on endophytic fungi to improve this technique. First, the community structure of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi from three agroecological zones - Abengourou, Azaguié and Bouaflé - was studied using Illumina Next Generation Sequencing. This study showed that plantain fields contain an important community of mycorrhiza. The genera *Acaulospora* and *Rhizophagus* were most abundant and broad. Four indigenous strains - *Glomus clavisporum*, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus proliferum* and *Acaulospora* sp - was isolated and their efficiency on improving the quality of two cultivars of plantain, Orishele and FHIA 21, was assessed. This study was conducted for twelve weeks in a greenhouse. Root colonization, growth, physiological and biomass parameters were assessed. Mycorrhization enhanced photosynthetic activity and growth of the macropropagated seedlings. Seedlings inoculated with *Rhizophagus proliferum* had the highest rate of mycorrhization. A relative mycorrhizal dependency of 79.81% for the Orishele cultivar and 42.55% for FHIA 21 cultivar was observed. The hierarchical cluster analysis showed that *Acaulospora colombiana* and *Rhizophagus proliferum* strains induced higher photosynthetic activity and a better growth of the seedlings. These strains have therefore a potential for mycorrhizal plantain seedlings production. Then, the effect of the indigenous mycorrhiza isolates on plantain growth and yield was compared to an exotic commercial strain of *Rhizophagus intraradices*. The mycorrhizal inoculants improved plantain growth as well as plantain yield by 20.86-40.17 % in Yamoussoukro and by 11.45 - 54.29 % in Bouaflé. Overall indigenous strains, more adapted to environmental conditions, had the best effect on plantain growth and yield. These strains showed a great potential for commercial inoculant formulation based on local mycorrhiza. The endophytic fungi *Neosartorya laciniosa* and *Talaromyces asiutensis* as well as three *Fusarium solani* strains were isolated from plantain tissue harvested in Azaguié. The strain *Neosartorya laciniosa* had the best biocontrol effect on *Fusarium solani* strains ( $IC_{50} = 0.8$  g/L et  $IC_{90} = 7.6$  g/L).

**Keyword** : Biological Engineering, Côte d'Ivoire, Endophytes, Indigenous strains, Macropropagated seedlings, Mycorrhiza, Plantain.

# TABLE DES MATIÈRES

<b>DÉDICACE</b> .....	<b>I</b>
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>II</b>
<b>RÉSUMÉ</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES</b> .....	<b>VI</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>X</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>XII</b>
<b>LISTE DES SIGLES ET ABBRÉVIATIONS</b> .....	<b>XIII</b>
<b>LISTE DES ANNEXES</b> .....	<b>XIV</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>PREMIÈRE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>4</b>
<b>CHAPITRE 1. Généralités sur le bananier plantain</b> .....	<b>5</b>
1.1. Origine et biologie .....	5
1.1.1. Taxonomie et systématique .....	5
1.1.2. Morphologie du bananier plantain .....	6
1.1.3. Importance et usages .....	8
1.2. Culture du bananier plantain.....	8
1.2.1. Systèmes de culture du bananier plantain en Côte d’Ivoire .....	9
1.2.2. Maladies et ravageurs du bananier plantain en Côte d’Ivoire .....	10
<b>CHAPITRE 2. Importance du matériel végétal en culture de bananier plantain</b> .....	<b>13</b>
2.1. Problématique de la disponibilité et de la qualité du matériel de plantation en culture de bananier plantain .....	13
2.1.1. Mode de reproduction .....	13
2.1.2. Micropropagation .....	13
2.1.3. Contraintes liées à la pratique de la micropropagation .....	15
2.1.4. Macropropagation .....	15
2.2. Processus de production de vivoplants par la technique du PIF.....	16
2.2.1. Choix des variétés et collecte des rejets-baïonnettes .....	17
2.2.2. Préparation des bulbes et mise en germe .....	17
2.2.3. Réactivations des bourgeons .....	18
2.2.4. Suivi du propagateur .....	18
2.2.5. Sevrage et repiquage en sachet .....	19
2.3. Limites de la technique du PIF .....	20
<b>CHAPITRE 3. Généralités sur les champignons endophytes et champignons endomycorhiziens</b> .....	<b>21</b>
3.1. Champignons endophytes.....	21
3.1.1. Définition .....	21
3.1.2. Typologie des champignons endophytes .....	21
3.1.3. Écologie des champignons endophytes .....	23

3.1.4. Biologie des champignons endophytes	23
3.1.4. Induction de la résistance des plants aux pathogènes	24
3.1.5. Champignons endophytes et biocontrôle en agriculture	25
3.1.6. Étude de la diversité des champignons endophytes	25
3.2. Champignons mycorhiziens à arbuscules.....	26
3.2.1. Taxonomie moléculaire des CMA	27
3.2.2. Biologie des CMA	32
3.2.3. Rôles des CMA dans les agrosystèmes	33
3.2.4. Champignons mycorhiziens à arbuscules et pratiques culturales	36
3.3. Outils pour l'étude de la diversité des CMA .....	38
3.4. Synthèse sur les CMA associés au bananier plantain .....	40
<b>DEUXIÈME PARTIE: MATÉRIEL ET MÉTHODES .....</b>	<b>42</b>
<b>CHAPITRE 4. Étude des caractéristiques des différentes zones d'étude .....</b>	<b>43</b>
4.1. Situation géographique des zones d'étude .....	43
4.2. Caractéristiques agro-climatiques des zones d'étude.....	45
4.2.1. Zone d'Abengourou	45
4.2.2. Zone d'Azaguié	46
4.2.3. Zone de Bouaflé	47
4.2.4. Zone de Yamoussoukro	49
4.3. Caractéristiques physico-chimiques des sols échantillonnés .....	50
4.3.1. Granulométrie	50
4.3.2. Caractéristiques chimiques	52
<b>CHAPITRE 5. Étude écologique et sélection des souches locales de CMA d'intérêt</b>	<b>54</b>
5.1. Caractérisation des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules .....	54
5.1.1. Dispositif d'échantillonnage	54
5.1.2. Caractérisation moléculaire des isolats de CMA	55
5.1.3. Indices de diversité	57
5.2. Sélection et caractérisation des souches d'intérêt.....	58
<b>CHAPITRE 6. Isolement et caractérisation de champignons endophytes du bananier plantain.....</b>	<b>60</b>
6.1. Échantillonnage et isolement des endophytes du bananier plantain.....	60
6.1.1. Prélèvement de tissus	60
6.1.2. Culture et purification des souches	60
6.2 Identification de champignons endophytes .....	61
6.2.1. Amplification de la région ITS	61
6.2.2. Séquençage et identification	61
<b>CHAPITRE 7. Évaluation de l'efficacité des souches locales de CMA .....</b>	<b>62</b>
7.1. Étude de l'effet des souches locales sur la croissance en pépinière des vivoplants de deux variétés de bananier plantain (Orishele et FHIA 21) produits par la technique du PIF.....	62

7.1.1. Matériel végétal	62
7.1.2. Inoculum mycorhizien	62
7.1.3. Substrats d'acclimatation	62
7.1.4. Conditionnement des vivoplants	63
7.1.5. Mesures agronomiques et physiologiques	64
7.1.6. Analyse des données	65
7.2. Étude de l'impact de l'endomycorhization sur le comportement de vivoplants produits par le PIF en champ.....	65
7.2.1. Matériel végétal	65
7.2.2. Inoculation et acclimatation	66
7.2.3. Mise en place et suivi des essais	66
7.2.4. Dosage des phénols totaux des racines	67
7.2.5. Estimation du taux de mortalité	68
7.2.6. Évaluation des paramètres de croissance	68
7.2.7. Évaluation du rendement	68
7.2.8. Analyse des données	68
<b>CHAPITRE 8. Étude de l'effet biocontrôle des endophytes sur Fusarium solani.....</b>	<b>69</b>
8.1. Confrontation directe .....	69
8.2. Effet d'antibiose.....	70
<b>TROISIÈME PARTIE: RÉSULTATS .....</b>	<b>71</b>
<b>CHAPITRE 9. Écologie moléculaire des CMA associés au bananier plantain en Côte d'Ivoire et sélection de souches d'intérêt.....</b>	<b>72</b>
9.1. Structuration des communautés des CMA associés au bananier plantain dans les zones d'étude .....	72
9.1.1. Mise en évidence de souches d'intérêt	75
9.1.2. Communauté des CMA selon la typologie des sols	80
9.1.3. Indices de richesse et de diversité des sites d'étude en CMA	84
9.2. Isolement et purification des souches de CMA d'intérêt .....	86
<b>CHAPITRE 10. Évaluation de l'ingénierie endomycorhizienne sur la productivité du bananier plantain .....</b>	<b>89</b>
10.1. Impact de l'endomycorhization sur la qualité de vivoplants de Orishele et FHIA 21 obtenus par la technique du PIF .....	89
10.1.1. Colonisation racinaire	89
10.1.2. Effet de la mycorhization sur la croissance végétative des plantules de bananier plantain	90
10.1.3. Effet de la mycorhization sur la physiologie et la biomasse des plantules de bananier plantain	90
10.1.4. Classification hiérarchique des souches indigènes	93
10.2. Évaluation en champ de vivoplants produits par la technique du PIF et endomycorhizés .....	94
10.2.1 Croissance et performance des vivoplants inoculés avec des inocula mycorhiziens en serre	94
10.2.2. Teneurs en phénols totaux	96
10.2.3. Taux de mortalité	96

10.2.4. Croissance et performance des vivoplants en champ	99
10.2.5. Biomasse sèche totale des plants de bananier plantain	104
10.2.6. Rendement en régimes frais sur des vivoplants	105
<b>CHAPITRE 11. Identification par approche moléculaire des champignons endophytes isolés du bananier plantain .....</b>	<b>108</b>
11.1. Isolement des morphotypes d'endophytes.....	108
11.2. Mise en évidence de souches de <i>Fusarium solani</i> .....	108
11.3. Mise en évidence d'endophytes de biocontrôle chez le bananier plantain.....	111
11.3.1. Identification d'une souche de <i>Neosartorya laciniosa</i>	111
11.3.2. Identification d'une souche de <i>Talaromyces assiutensis</i>	112
<b>CHAPITRE 12. Évaluation in vitro de l'effet de <i>Neosartorya laciniosa</i> et de <i>Talaromyces assiutensis</i> sur <i>Fusarium solani</i> .....</b>	<b>114</b>
12.1. Antagonisme en confrontation directe	114
12.2. Mise en évidence de l'effet d'antibiose	115
<b>QUATRIÈME PARTIE : DISCUSSION.....</b>	<b>117</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>125</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>127</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>149</b>
<b>RÉSUMÉ .....</b>	<b>158</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>158</b>

---

# LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Schéma de la classification des cultivars de bananiers à fruits parthénocarpiques	6
Figure 1.2 : Pied de bananier plantain	7
Figure 1.3 : Coupe schématique dans une souche de bananier	7
Figure 1.4: Evolution du rendement et de la production de banane plantain en Côte d'Ivoire par rapport au rendement mondial de 2004 à 2014	9
Figure 2.1: Fruit et graines de bananier sauvage	13
Figure 2.2: Rejets-baïonnettes de bananier plantain	17
Figure 2.3: Bulbe paré et décortiqué	18
Figure 2.4: Mise de bulbe en germoir	18
Figure 2.5: Emission de jeunes pousses en germoir	19
Figure 2.6 : Sevrage des vivoplants et acclimatation sous ombrière	20
Figure 3.1: Diagrammes représentant l'ADN ribosomique des organismes eucaryotes et la position des amorces	28
Figure 3.2 : Système de classification des champignons mycorhiziens à arbuscules	31
Figure 3.3: Schéma de la symbiose endomycorhizienne	33
Figure 4.1: Situation des zones d'étude en Côte d'Ivoire	44
Figure 4.2: Diagramme ombrothermique du département d'Abengourou	45
Figure 4.3: Diagramme ombrothermique du département d'Azaguié	47
Figure 4.4: Diagramme ombrothermique du département de Bouaflé	48
Figure 4.5: Diagramme ombrothermique du département de Yamoussoukro	49
Figure 4.6: Composition granulométrique des sols des différents sites d'études	51
Figure 5.1. Schéma de prélèvement des échantillons élémentaires de sol	54
Figure 6.1: Isolats de champignons endophytes sur milieu culture	60
Figure 7.1: Dispositif expérimental en randomisation totale en serre	63
Figure 7.2 : Echelle d'évaluation de la colonisation mycorhizienne des racines	64
Figure 7.3 : Schéma du dispositif expérimental	67
Figure 8.1: Exemples de confrontation directe entre un endophyte et un antagoniste fongique	69
Figure 9.1 : Arbre phylogénétique des unités taxonomiques opérationnelles majoritaires	74
Figure 9.2: Arbre phylogénétique présentant les espèces dominantes	74
Figure 9.3: Répartition des Unités Taxonomiques Opérationnelles par zone d'étude	76
Figure 9.4: Abondance relative des espèces de CMA dans les sols de la zone d'Abengourou	77

Figure 9.5: Abondance relative des espèces de CMA dans les sols de la zone d'Azaguié .....	78
Figure 9.6 : Abondance relative des espèces de CMA dans les sols de la zone de Bouaflé ....	79
Figure 9.7: Abondance relative des genres de CMA en fonction du pH <sub>eau</sub> des sols .....	80
Figure 9.8: Abondance relative des genres de CMA en fonction de la concentration de phosphore assimilable des sols.....	81
Figure 9.9: Abondance relative des genres de CMA en fonction du niveau de minéralisation de la matière organique des sols.....	82
Figure 9.10: Abondance relative des genres de CMA en fonction de la concentration de la capacité d'échange cationique (CEC) des sols .....	83
Figure 9.11: Analyse en composantes principales présentant les relations entre les caractéristiques physico-chimiques des sites et leur diversité en CMA.....	85
Figure 9.12: Spores de CMA sélectionnées, colorées dans le réactif de Melzer .....	87
Figure 9.13: Structures mycorhiziennes développées par les souches d'intérêt.....	87
Figure 10.1 : Classification hiérarchique des traitements basée sur les différents paramètres étudiés .....	93
Figure 10.2: Teneurs en phénols totaux des plants de bananier plantain trois mois après plantation .....	97
Figure 10.3: Taux de mortalité des plants de bananier plantain trois mois après plantation....	98
Figure 10.4: Hauteur des plants de bananier plantain neuf mois après plantation.....	100
Figure 10.5: Diamètre au collet des plants de bananier plantain neuf mois après plantation.	101
Figure 10.6: Nombre de feuilles des plants de bananier plantain neuf mois après plantation	102
Figure 10.7: Surface foliaire des plants de bananier plantain neuf mois après plantation .....	103
Figure 10.8: Rendements en régimes frais des vivoplants de bananier plantain. ....	106
Figure 11.1: Cultures des souches d'endophytes isolées .....	108
Figure 11.2: Arbre présentant la position phylogénétique des souches LBVM Ba.0002, LBVM Ba.0003 et LBVM Ba.0005. ....	110
Figure 11.3 : Arbre présentant la position phylogénétique de la souche LBVM Ba.0001 .....	112
Figure 11.4 : Arbre présentant la position phylogénétique de la souche LBVM Ba.0006.....	113
Figure 12.1: Confrontation directe entre une souche de biocontrôle (Bc) et la souche de <i>Fusarium</i> (Fu) .....	115
Figure 12.2 : Courbe de l'inhibition de la croissance de <i>Fusarium solani</i> par les souches de <i>Neosartorya laciniosa</i> et <i>Talaromyces assiutensis</i> après sept jours de culture. ....	115

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1: Caractérisation des champignons endophytes en fonction du mode de symbiose .....	22
Tableau 3.2. Phylogénie des Glomérormycètes .....	30
Tableau 4.1: Sites d'échantillonnage et d'essais .....	43
Tableau 4.2: Caractéristiques physico-chimiques des sols des zones d'étude .....	53
Tableau 5.1: Ensemble de programmes, scripts et bases de données utilisés lors de l'analyse des séquences .....	56
Tableau 7.1: Composition physico-chimique des substrats d'acclimatation.....	63
Tableau 7.2 : Caractéristiques initiales du sol des sites de Yamoussoukro et de Bouaflé .....	65
Tableau 9.1: Abondance relative des espèces en fonction des séquences des échantillons collectés .....	73
Tableau 9.2: Diversité des champignons mycorhiziens par zone d'étude .....	75
Tableau 9.3 : Répartition des séquences en fonction des genres par zone d'étude .....	76
Tableau 9.4: Richesse spécifique et indices de diversité de Shannon et Simpson des sites d'étude.....	84
Tableau 9.5: Caractéristiques des souches locales isolées.....	86
Tableau 10.1: Fréquence de mycorhization, huit semaines après inoculation.....	89
Tableau 10.2: Paramètres de croissance des vivoplants cv ORISHELE et FHIA 21, huit semaines après inoculation avec des champignons mycorhiziens .....	91
Tableau 10.3: Biomasse des vivoplants cv ORISHELE et FHIA 21, huit semaines après inoculation avec des champignons mycorhiziens .....	92
Tableau 10.4: Paramètres de croissance des vivoplants de bananier plantain à la fin de l'acclimatation.....	95
Tableau 10.5 : Biomasse sèche des plants de bananier plantain sur les sites de Yamoussoukro et de Bouaflé .....	104
Tableau 12.1: Valeurs de la colonisation des souches <i>Neosartorya laciniosa</i> et <i>Talaromyces assiutensis</i> lors de la confrontation directe .....	114

# LISTE DES SIGLES ET ABBRÉVIATIONS

- **ACP** : Analyse en Composantes Principales
- **ADNr** : Acide DésoxyRibonucléique ribosomique
- **ARNr** : Acide RiboNucléique ribosomique
- **BNETD** : Bureau National d'Etudes Techniques et de Développement
- **CEC** : Capacité d'Echange Cationique
- **CMA** : Champignons Mycorhiziens à Arbuscules
- **CNRA** : Centre National de Recherche Agronomique
- **DFR-ARA** : Département de Formation et de Recherche – Agriculture et Ressources Animales
- **FAO** : *Food and Agriculture Organisation* pour Organisation de Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
- **GLM** : *Generalized Linear Model* (Modèle linéaire général)
- **INP-HB** : Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny
- **INVAM** : *INternational Culture Collection of Arbuscular and Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi* pour Collection internationale de culture des champignons mycorhiziens à vésicules et à arbuscules
- **ITS** : *Internal Transcribed Sequence* pour
- **LBVM** : Laboratoire de Biotechnologies Végétale et Microbienne
- **OTU** : *Operational Taxonomic Unit* pour Unités Taxonomiques Opérationnelles
- **PCR** : *Polymerase Chain Reaction* pour Réaction de polymérase en chaîne
- **PDA** : *Potato Dextrose Agar* (Gélose dextrosée à la pomme de terre)
- **PIF** : Plants Issus de Fragments de tiges
- **PPAAO/WAAPP** : Programme de Productivité Agricole en Afrique de l'Ouest / *West African Agricultural Productivity Program*
- **ppm** : partie par million

---

## **LISTE DES ANNEXES**

---

Annexe 1: Coordonnées géographiques des sites d'étude.....	150
Annexe 2 : Article publié (Potentialities of native arbuscular mycorrhizal fungi strains to improve the quality of macropropagated seedlings of plantain cv Orishele and FHIA 21) ...	151

---

# INTRODUCTION

---

Le bananier plantain est une importante culture vivrière en Côte d'Ivoire. Avec une production annuelle de 1,7 millions de tonnes sur les dix dernières années (FAO, 2016) et une consommation par habitant estimée à 70 kg/ an, il constitue la troisième culture alimentaire de base des ivoiriens.

Malgré son importance, la culture du bananier plantain est confrontée à plusieurs contraintes en Côte d'Ivoire où le système de production demeure très traditionnel. Ces contraintes sont liées, entre autres, au manque de matériel de plantation, à la recrudescence des attaques parasitaires dont les agents fongiques et les nématodes, à l'utilisation des variétés traditionnelles peu performantes et plus sensibles aux maladies, à l'utilisation de techniques culturales peu productives et à la baisse de la fertilité des sols liée à leur mode de gestion (Traoré *et al.*, 2009).

Face aux contraintes liées à la culture de banane plantain, la technique de « Plants issus de fragments de tige » (PIF) a été développée pour fournir du matériel végétal de qualité. Cette technique permet d'obtenir du matériel végétal en grande quantité à partir de fragments de tiges de variétés performantes (Kwa, 2003; Sodom *et al.*, 2010) et est vulgarisée et utilisée par les producteurs. Elle est devenue la technique par excellence de production de matériel végétal en Côte d'Ivoire au point où le métier de pépiniériste de plantain est devenu prépondérant. Toutefois, les vivoplants produits présentent une sensibilité aux attaques de parasites et ravageurs (Tomekpe *et al.*, 2011); ce qui peut entraîner d'importants taux de morbidité et de mortalité suite au transfert en plantation (Deloné, 2014).

Le recours aux intrants chimiques est une solution pour améliorer la production de matériel végétal produit par cette technologie. Mais de telles pratiques peuvent constituer un danger aussi bien pour le producteur, le pépiniériste que pour l'environnement. Il est donc nécessaire et urgent de développer des stratégies de biofertilisation et de bioprotection en vue d'améliorer les capacités de production de matériel végétal de qualité en quantité. A cet effet, l'utilisation de champignons endophytes parmi lesquels on compte les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) pourrait être une solution alternative pour une bonne croissance et une meilleure protection des vivoplants de bananiers plantains produits par la technique du PIF. En effet, l'utilisation de champignons mycorhiziens à arbuscules en

inoculation *in vivo* de bananiers plantains a permis d'améliorer la croissance et la nutrition des plantes et une protection face à des pathogènes du sol (Willis *et al.*, 2013).

Outre les champignons mycorhiziens à arbuscules, il existe d'autres types de champignons endophytes qui complètent entièrement leur cycle à l'intérieur des tissus des plantes et sporulent lors de la sénescence du tissu-hôte (Stone *et al.*, 2004). Une étude récente a permis de caractériser des endophytes chez *Musa acuminata* en Malaisie (Latiffah *et al.*, 2016). De tels endophytes restent des sources importantes de plusieurs substances pharmaceutiques et de composés bioactifs et peuvent être utilisés comme agents de biocontrôle de pathogènes de plantes (Mejia *et al.*, 2008).

Il est important de constater le manque d'étude sur la communauté d'endophytes associée au bananier plantain en Côte d'Ivoire, en vue d'isoler un agent de biocontrôle de maladie. L'obtention d'endophytes d'intérêt permettrait de les utiliser comme inoculum pour améliorer la qualité des vivoplants produits par la technique du PIF.

Les connaissances sur les endophytes tels que les CMA dans les systèmes de culture de bananier plantain en Afrique sont limitées mais présentent un intérêt croissant. Principalement menée en Afrique de l'Est et du Centre, la recherche sur la mycorhization du bananier plantain a montré que les champignons mycorhiziens à arbuscules apparaissent comme une alternative viable dans la lutte contre la baisse de la fertilité du sol, les maladies et les ravageurs. La plupart des études sur l'effet des CMA sur la croissance des plantules de bananier plantain a porté sur les plants produits *in vitro* et a été mené en serre (Tsané *et al.*, 2005; Jefwa *et al.*, 2010; Nwaga *et al.*, 2011) et dans une moindre mesure en champ (Kavoo-mwangi *et al.*, 2014).

Il est donc nécessaire de mener une étude sur l'utilisation d'inoculants à base d'endophytes, dont les CMA, dans le processus de production de vivoplants de bananier plantain par la technique du PIF en vue d'améliorer leur productivité aussi bien en acclimatation qu'en champ.

Ce travail de thèse vise à mettre au point une ingénierie biologique à base d'endophytes du bananier plantain en vue d'améliorer sa productivité en Côte d'Ivoire. Il entre donc dans le cadre de la sécurité alimentaire et de la lutte contre la pauvreté. Pour atteindre cet objectif général de l'étude, quatre hypothèses ont été posées :

- **Hypothèse 1.** Les zones de culture de bananier plantain présentent une grande diversité de souches de CMA, et ont en commun des souches capables de se multiplier rapidement et aisément.
- **Hypothèse 2.** L'inoculation utilisant des souches locales de CMA améliore la qualité et la vigueur des vivopants de bananier plantain pendant l'acclimatation.
- **Hypothèse 3.** Les vivopants inoculés avec des souches locales en phase d'enracinement ont une meilleure vigueur, et une meilleure productivité en champ comparativement à une souche commerciale exotique.
- **Hypothèse 4.** Il existe des souches locales d'endophytes autre que les CMA associés au bananier plantain capables d'exercer un effet de biocontrôle potentiel contre les pathogènes du bananier plantain.

De ces hypothèses découlent les objectifs spécifiques suivants :

- **Objectif spécifique 1.** Mettre en évidence des souches d'intérêt de champignons mycorhiziens associés au bananier plantain en Côte d'Ivoire ;
- **Objectif spécifique 2.** Étudier l'impact de souches locales de champignons mycorhiziens à arbuscules sur la qualité du matériel végétal produits par la technique du PIF ;
- **Objectif spécifique 3.** Étudier le comportement du matériel végétal produit par la technique du PIF et endomycorhizé en milieu paysan ;
- **Objectif spécifique 4.** Isoler des champignons endophytes et évaluer leur effet de biocontrôle.

Le présent mémoire est scindé en quatre grandes parties. La première partie est une revue bibliographique qui comporte les chapitres 1, 2 et 3 dans lesquels sont présentés successivement les généralités sur la banane plantain, la technique du PIF de production de vivopants et sur les endophytes et les CMA. Dans la deuxième partie, la description des milieux d'étude (chapitre 4) ainsi que l'approche méthodologique (chapitres 5, 6, 7 et 8) sont présentées. Les principaux résultats sont analysés dans la troisième partie qui comporte quatre chapitres. Enfin les résultats obtenus sont discutés dans la quatrième partie.

---

**PREMIÈRE PARTIE : REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

---

# CHAPITRE 1. Généralités sur le bananier plantain

## 1.1. Origine et biologie

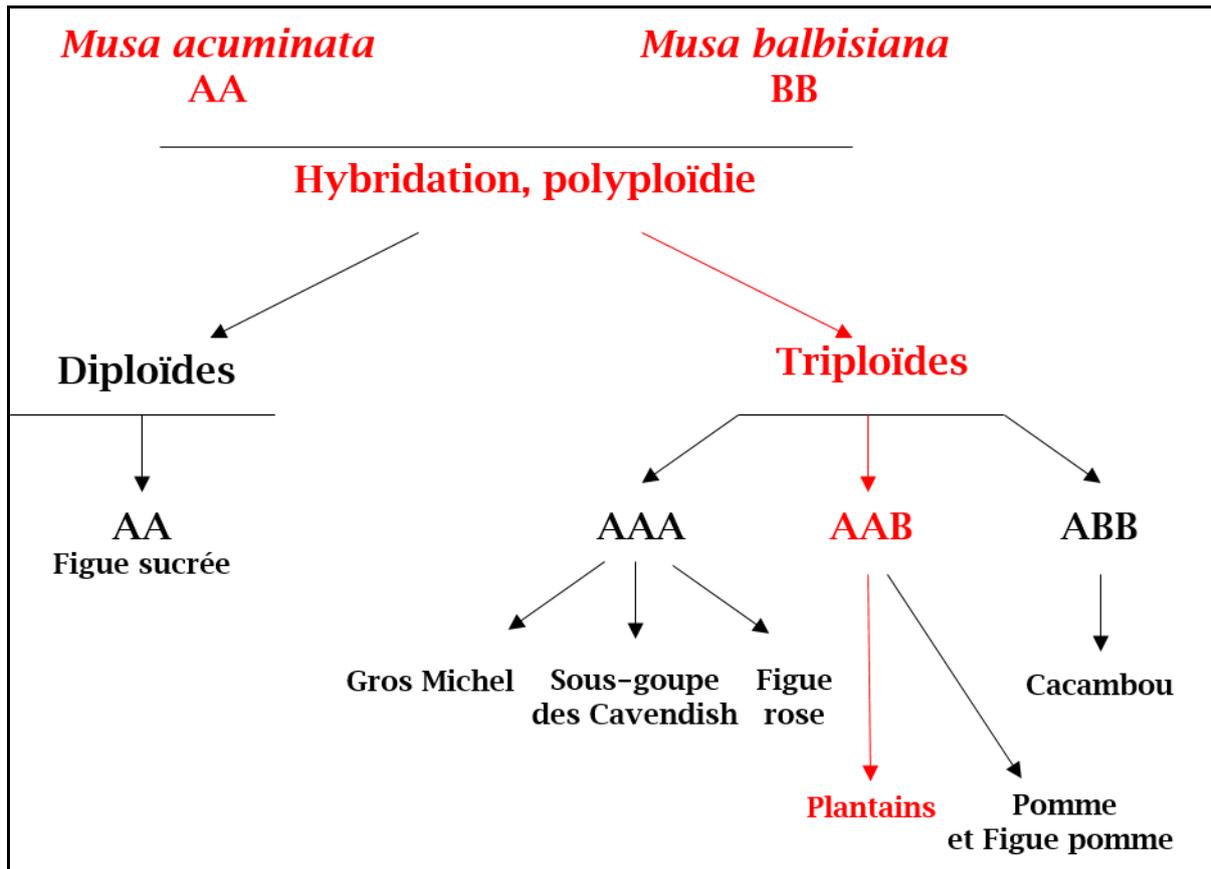
Le bananier est originaire de l'Asie du Sud-est où se retrouvent les espèces sauvages *Musa acuminata* et *Musa balbisiana*. Cette origine a été mise en évidence suite à plusieurs travaux menés au XIX<sup>ème</sup> siècle (Lassoudière, 2010). Depuis son lieu d'origine, le bananier fut dispersé par des voyageurs vers l'Afrique, le Pacifique, l'Orient et l'Amérique de sorte qu'au XVII<sup>ème</sup> siècle, il était déjà répandu dans le monde entier. En occupant de nouvelles niches, de nouveaux types de bananiers, dont les triploïdes AAB (bananier plantain), sont apparus (Lassoudière, 2010).

### 1.1.1. Taxonomie et systématique

Il existe plus de 1000 variétés de bananiers qui sont en général des clones triploïdes, parfois diploïdes ou tétraploïdes. Elles sont issues principalement de croisements entre les deux espèces sauvages diploïdes séminifères que sont *Musa acuminata* (génome A) et *Musa balbisiana* (génome B). Le bananier plantain est un hybride triploïde du groupe des *Musa* AAB. Il a été décrit par Linné en 1753 qui propose la taxonomie suivante :

- **Règne** : Plantae
- **Embranchement** : Magnoliophyta
- **Classe** : Liliopsida
- **Sous-classe** : Zingiberidae
- **Ordre** : Zingiberales
- **Famille** : Musaceae
- **Genre** : *Musa*
- **Hybride** : *Musa acuminata* × *balbisiana*

En fonction de leur mode de consommation, on distingue des bananes à cuire dont la banane plantain et des bananes de dessert, consommées crues. La Figure 1.1 montre les hybrides issus du croisement entre les souches sauvages *Musa acuminata* (génome A) et *Musa balbisiana* (génome B).



**Figure 1.1** : Schéma de la classification des cultivars de bananiers à fruits parthénocarpiques

Source : CIRAD & GRET, 2006

Le bananier plantain du groupe AAB regroupe trois principaux types : le type French (partie mâle normale) ; le type Corne (une fleur terminale, pas de fleurs intermédiaires) ; et le type Faux corne (avec fleurs hermaphrodites). Les différences morphologiques, observées au niveau de l'inflorescence, du nombre de mains et de la taille des doigts, sont facilement appréciables pour distinguer ces trois types.

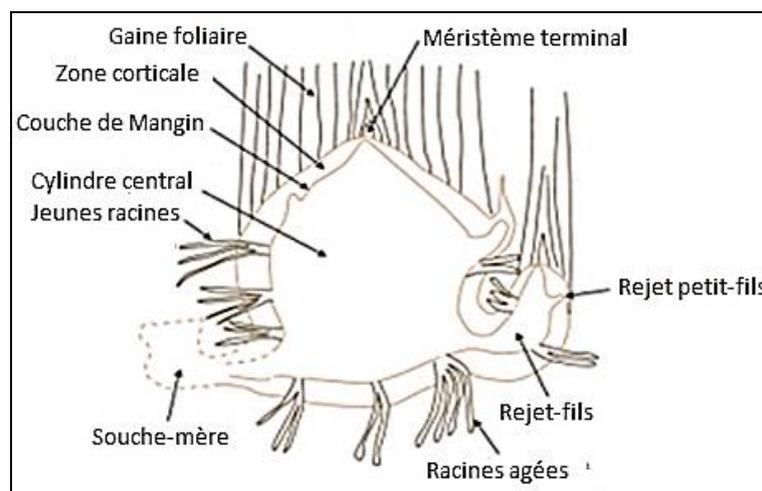
### 1.1.2. Morphologie du bananier plantain

Les bananiers cultivés sont des herbes géantes qui peuvent atteindre 3 à 10 m de haut avec de grandes feuilles de 3 m de long et de 50 cm de large. Ils se perpétuent par bourgeonnement de la souche ; les pousses se développent, fructifient puis se dessèchent et meurent tandis que de jeunes rejets se forment (Figure 1.2). L'inflorescence se forme au niveau de la tige souterraine et parcourt tout le faux-tronc avant son apparition à l'extérieur de la plante. La fleur femelle donne le régime constitué de fruits de bananes qui sont les organes consommables et commercialisables (Figure 1.2).

La tige souterraine est le centre vital de la formation des racines, des feuilles et de l'inflorescence. Le système racinaire est de type fasciculé. L'émission de racines se fait pendant toute la phase végétative de croissance. Le pseudotrunc est en fait une fausse tige qui résulte de l'imbrication des gaines foliaires les unes dans les autres (Champion, 1963). Le système foliaire est très développé et sa structure présente des particularités liées aux contraintes de l'alimentation hydrique (Figure 1.3).



**Figure 1.2 :** Pied de bananier plantain



**Figure 1.3 :** Coupe schématique dans une souche de bananier

### **1.1.3. Importance et usages**

La banane plantain est un aliment très important pour les populations du monde, surtout celles qui habitent les milieux favorables à sa culture. La production moyenne annuelle en Côte d'Ivoire, sur les dix dernières années, s'élève à 1,7 millions de tonnes soit environ 4 % de la production mondiale (FAO, 2016). La banane plantain est la troisième source d'alimentation en Côte d'Ivoire après l'igname et le manioc. L'essentiel de la production ivoirienne, à l'instar de celle de toute l'Afrique, est consommée localement. Ainsi, l'Afrique a une faible part sur le marché mondial qui est dominé par l'Amérique latine avec l'Equateur, la Colombie et le Costa Rica. La banane plantain constitue une importante source d'énergie pour des millions de personnes en Afrique, aux Caraïbes, en Amérique latine, en Asie et au Pacifique. Elle occupe une place primordiale dans l'agriculture de la plupart des pays de l'Afrique Centrale et Occidentale. Aussi constitue-t-elle un aliment de base et une des composantes majeures de la sécurité alimentaire.

La banane plantain est consommée comme légume cuit ou frit et fait l'objet de nombreuses transformations : chips, beignets, purée, ketchup, alcool, vin, bière, etc. D'autres parties sont utilisées pour la construction d'abris ou d'emballage de cuisson (Lassoudière, 2007). Aux Etats-Unis d'Amérique, un extrait naturel du pseudotrunc est commercialisable en tant que complément alimentaire et comme pilule préventive contre le cancer. Le jus de la banane mure peut être consommé frais ou fermenté pour obtenir une bière avec une faible teneur en alcool. Le bananier plantain fournit des fibres très utilisées dans la fabrication de certains papiers utilisés dans l'industrie manufacturière de sachets de thé et des billets de banque au Japon. Ces fibres ont d'autres usages notamment dans la fabrication de cordes, de ficelles et de nombreux objets artisanaux (Swennen & Vuylsteke, 2001).

## **1.2. Culture du bananier plantain**

La culture de la banane plantain prédomine sur les basses terres des tropiques humides en Afrique (71 % de la production mondiale), en Amérique latine et aux Caraïbes. Elle couvre une surface d'environ 4,5 millions d'hectares (FAO, 2016).

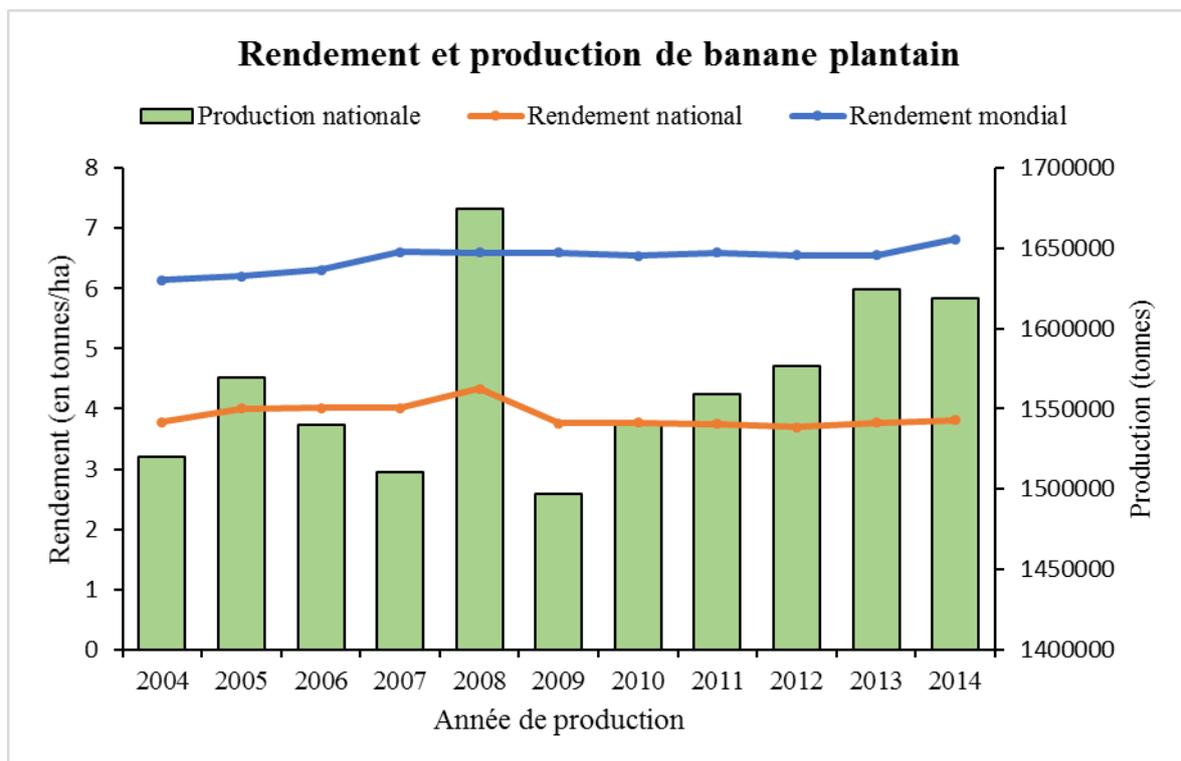
La banane plantain est cultivée principalement en Afrique depuis la zone ouest jusqu'à la région des grands lacs en Afrique centrale. Le premier producteur mondial est l'Ouganda dont la production en 2013 représente 28 % de la production mondiale. Les bananiers plantains préfèrent les altitudes entre 1200 et 1800 m au-dessus du niveau de la mer. Ils sont

généralement cultivés entre 19 °C et 33 °C. Au-delà de 38 °C, la croissance s'arrête. Les bananiers sont cultivés dans un environnement humide à hygrométrie élevée comprises entre 60 et 100 % ; ce qui correspond à une pluviosité minimale de 100 mm par mois (Swennen & Vuylsteke, 2001).

Les sols profonds, limoneux et bien drainés conviennent le mieux pour la culture du bananier plantain. Les éléments minéraux tels que l'azote, le potassium, le phosphore, le calcium et le magnésium sont indispensables pour atteindre un bon niveau de développement et une production élevée. Le pH peut varier de 4,0 à 8,0 (Swennen & Vuylsteke, 2001).

### 1.2.1. Systèmes de culture du bananier plantain en Côte d'Ivoire

La production de banane plantain en 2014 en Côte d'Ivoire s'élève à 1.619.304 tonnes, faisant de ce pays le 5<sup>ème</sup> producteur africain et le 7<sup>ème</sup> mondial (FAO, 2016). Les rendements y sont cependant relativement faibles (inférieurs à 4 tonnes/ha) par rapport au rendement moyen mondial de plus de 6 tonnes/ha (Figure 1.4).



**Figure 1.4:** Evolution du rendement et de la production de banane plantain en Côte d'Ivoire par rapport au rendement mondial de 2004 à 2014

Source : FAO, 2016

En Côte d'Ivoire, 85 % des plantations sont des propriétés familiales et dans 92 % des cas, les bananiers sont associés à des cultures vivrières et/ou industrielles ; la culture pure représente seulement 8 %. Les surfaces cultivées varient entre 0,5 et 10 ha (Traoré *et al.*, 2009).

Les unités de production incluant le bananier plantain sont des plantations de petites et moyennes surfaces. La majorité des paysans exploitent des surfaces de 1 à 5 hectares. On distingue 2 grands systèmes de culture du bananier plantain en milieu paysan : la culture pure et la culture associée avec 3 modalités. Les modalités de la culture associée comprennent l'association avec les cultures vivrières, l'association avec les cultures industrielles et l'association avec les cultures vivrières et industrielles. Le système de culture associé est le plus dominant, pratiqué par 92 % de l'ensemble des paysans interrogés. Seulement 8 % des paysans pratiquent la culture pure (Traoré *et al.*, 2009).

La durée de vie des plantations est variable en fonction des zones. Les paysans justifient le nombre réduit de cycles par le taux élevé de sables, surtout au sud à San Pédro (3 cycles) et à Aboisso (2 cycles). A Gagnoa, les bananiers plantain font 6 cycles en moyenne ; certains paysans ont affirmé supprimer les bananiers pour libérer les cacaoyers, sinon ils peuvent rester dans la plantation au-delà de 20 ans (Traoré *et al.*, 2009).

## **1.2.2. Maladies et ravageurs du bananier plantain en Côte d'Ivoire**

En Côte d'Ivoire, les principaux ennemis de la culture du bananier plantain sont les cercosporioses, les nématodes et les charançons. (Kouassi *et al.*, 2005). En outre des foyers de fusariose ont été identifiés dans la périphérie d'Abidjan (Kra *et al.*, 2011)

### **1.2.2.1. Cercosporioses**

Les cercosporioses sont dues à des champignons du genre *Mycosphaerella*. Deux formes sont présentes chez la banane plantain. Il s'agit de la cercosporiose noire qui est la plus répandue et la cercosporiose jaune, rencontrée le plus souvent en haute altitude (Kouassi *et al.*, 2005).

La cercosporiose noire, causée par le champignon *Mycosphaerella fijiensis*, est caractérisée chez le plantain par l'apparition de gros tirets (1 à 2 mm de long ; 1 mm de large) de couleur brunâtre sur la face inférieure d'une feuille de rang 4 (quatrième feuille à partir du cigare). En l'absence de contrôle, ces taches deviennent coalescentes avec apparition de plages

nécrotiques noires sur la face supérieure de la feuille. Les bords des limbes souvent les plus atteints ont tendance à se replier sur eux-mêmes. (Tezenas du Montcel, 1989).

La cercosporiose jaune, causée quant à elle par le champignon *Mycosphaerella musicola* est caractérisée chez le bananier par l'apparition sur les feuilles de rang 3 de petits tirets jaunes (1 à 2 mm de long) parallèles aux nervures secondaires des limbes. L'extrémité apicale du limbe gauche (premier déroulé) est toujours plus atteinte. Les tirets jaunes évoluent en taches nécrotiques plus ou moins arrondies et entourées d'un halo jaune. (Tezenas du Montcel, 1989).

### **1.2.2.2. Les dégâts causés par les nématodes**

Les nématodes sont des vers microscopiques dont certaines espèces sont redoutables pour le bananier. Les espèces rencontrées en Afrique de l'Ouest sont : *Pratylenchus coffeae*, *P. goodeyi*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Radopholus similis* et *Meloidogyne spp.* Cependant les plus dangereux observés sont ceux des genres *Radopholus* et *Pratylenchus*.

*Radopholus similis* est un endoparasite migrateur dont le cycle biologique se déroule dans les tissus des racines et des souches. Se faisant, il provoque des lésions très vite envahies par des micro-organismes (champignons, bactéries etc.) (Sarah *et al.*, 1996). Les conséquences d'une forte infestation de nématodes sont : un système racinaire déficient, un affaiblissement général de la plante, un retard dans la croissance et le développement et une production de petits régimes mal conformés (Tezenas du Montcel, 1989).

Les nématodes à galle *Meloidogyne incognita* et *M. javanica* sont des endoparasites sédentaires des racines des bananiers et bananiers plantain partout où ces plantes sont cultivées. Les symptômes les plus évidents sont la formation de galles et le renflement des racines primaires et secondaires. Parfois, l'extrémité des racines est envahie et la formation de galles est insignifiante, voire absente, mais l'extrémité de la racine cesse de croître et de nouvelles racines prolifèrent juste au-dessus des tissus infectés. *M. javanica* peut entraîner dans certains cas un jaunissement des parties aériennes, une diminution de la taille des feuilles, un rabougrissement des plants et une perte de production (De Waele & Davide, 1998).

### **1.1.5.3. Les maladies dues aux charançons**

Le charançon *Cosmopolites sordidus* est l'un des principaux ravageurs des bananiers plantains. Il appartient au genre *Coleoptera* de la famille des Curculionidae. L'adulte, de

couleur noire, mesure 10-15 mm. Il se déplace librement, bien qu'on le rencontre le plus souvent entre les gaines foliaires, dans le sol à la base des pieds de bananiers ou dans les débris végétaux. Leur diffusion se fait principalement par l'intermédiaire de matériel végétal infesté (Gold & Messiaen, 2000).

D'après les observations effectuées, les attaques de charançons perturbent l'émission racinaire, tuent les racines existantes, limitent l'absorption des éléments nutritifs, réduisent la vigueur des plants, retardent leur floraison et accroissent leur sensibilité aux autres ravageurs et maladies. Elles entraînent des baisses de production du fait de la perte de bananiers (plants morts, cassés à la base ou couchés sur le sol) et de la réduction du poids des régimes. La chute de plants, communément attribuée aux nématodes, a été observée dans des plantations fortement infestées de charançons, en l'absence de nématodes (Gold & Messiaen, 2000).

#### **1.2.2.4. Les maladies dues à *Fusarium* spp**

Les espèces de *Fusarium* sont parmi les champignons telluriques les plus agressifs responsables des flétrissements et des pourritures racinaires chez de nombreuses espèces végétales cultivées, notamment chez le bananier plantain (Randy, 2006).

Les souches de *Fusarium solani* ainsi que leurs télomorphes *Nectria hematococca* peuvent causer chez le bananier plantain des pourritures (Meddah *et al.*, 2011).

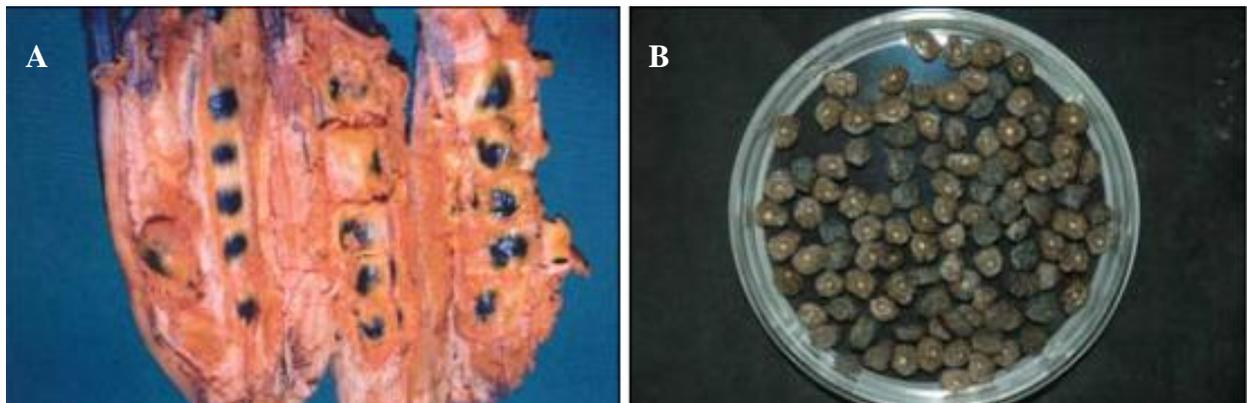
La maladie du Panama est causée par des champignons du genre *Fusarium*. Les symptômes sont, le jaunissement uniforme des feuilles âgées vers les plus jeunes, la nécrose du stipe et le brunissement des systèmes vasculaire, racinaire et du rhizome (Do *et al.*, 2001). La maladie de Panama a été décrite pour la première fois en 1876, en Australie sur le cultivar Gros Michel (Carlier *et al.*, 2003). En 2006, des symptômes caractéristiques de la fusariose ont été observés dans plusieurs bananeraies ivoiriennes, sur les cultivars Grande Naine du groupe des Cavendish (AAA) et Corne 1 du sous-groupe des plantains (AAB). Les travaux de Kra *et al.*, (2011) ont montré que les isolats de *Fusarium* provenant de bananeraies à la périphérie d'Abidjan ont des caractères macroscopiques et microscopiques similaires à ceux de *F. oxysporum* f. sp. *Cubense*, et sont capables d'induire des symptômes caractéristiques de la fusariose aux bananiers Grande Naine et Corne 1. Les incidences moyennes de la fusariose à Abidjan et à Anyama sont respectivement de 54,07 et 63,45 % sur les cultivars Grande Naine et Corne 1.

## CHAPITRE 2. Importance du matériel végétal en culture de bananier plantain

### 2.1. Problématique de la disponibilité et de la qualité du matériel de plantation en culture de bananier plantain

#### 2.1.1. Mode de reproduction

La banane plantain est une culture à double capacité de propagation, sexuelle par les semences et asexuée par les rejets. La propagation des semences est courante chez les espèces sauvages qui sont diploïdes et subissent une méiose, une fécondation et une production de graines (Singh *et al.*, 2011). La germination de la semence et sa dormance dépendent de l'espèce. Les fruits des espèces sauvages ne sont pas comestibles, car ils sont pleins de graines enveloppées dans une mince pâte mucilagineuse (Figure 2.1).



**Figure 2.1:** Fruit et graines de bananier sauvage

A : Fruit, B : Graines

Cependant, tous les cultivars de banane plantain commerciale cultivés sont triploïdes ou tétraploïdes et stériles. La propagation par les rejets reste donc le seul moyen naturel d'assurer leur dissémination. Les méthodes artificielles de propagation sont la micropropagation et la macropropagation.

#### 2.1.2. Micropropagation

La production rapide de matériel de plantation est l'une des principales préoccupations de nombreux programmes de recherche sur le bananier plantain. La micropropagation est la

pratique consistant à multiplier rapidement le matériel végétal de base pour produire un grand nombre de plants dans des conditions aseptiques en utilisant des procédés modernes de culture de tissus. Différentes techniques de multiplication végétative ont été développées *in vitro* pour produire des quantités massives de plants : micropropagation à partir de méristèmes cultivés en milieu gélosé ou liquide, embryogenèse somatique, suspensions cellulaires embryogènes, etc. (Singh *et al.*, 2011). La micropropagation présente les avantages suivants.

#### **2.1.2.1. Multiplication rapide**

Le taux de multiplication en condition naturelle du bananier plantain est limité à 5-20 rejets par plante pendant sa période de croissance, ce qui rend difficile l'obtention d'une quantité suffisante de matériel de plantation d'un cultivar donné. La micropropagation facilite la production d'un grand nombre de plantules, un tissu pouvant permettre de régénérer jusqu'à 1000 plants, contribuant ainsi à l'introduction rapide et à la diffusion de nouvelles variétés.

#### **2.1.2.2. Exigence de réserve limitée**

La technologie de micropropagation permet de s'assurer qu'un nombre limité de plantes mères sont nécessaires pour obtenir un grand nombre de plantes à la descendance. Ces plantes mères peuvent être maintenues avec les soins requis plus aisément.

#### **2.1.2.3. Uniformité du produit**

Étant une méthode de reproduction végétative, la micropropagation entraîne un haut degré d'uniformité génotypique et phénotypique des plantes à la descendance. La variation limitée observée parfois peut être surmontée en suivant une micropropagation appropriée et des tests de fécondité génétique.

#### **2.1.2.4. Production indépendante des saisons**

Dans la propagation naturelle sur le terrain, la production de rejet dépend fortement de la saison et, par conséquent, la disponibilité de matériel de plantation dans une saison donnée est souvent un facteur limitant. En utilisant la micropropagation, la production de matériel de plantation peut être réalisée en toute saison selon les besoins. Elle peut être maîtrisée.

### **2.1.3. Contraintes liées à la pratique de la micropropagation**

Malgré l'efficacité avérée des méthodes de micropropagation du bananier plantain utilisées en plantations industrielles, ces techniques *in vitro* nécessitent des équipements de pointe aux coûts prohibitifs, ainsi qu'une main d'œuvre spécialisée et chère (Kwa, 2003). Par conséquent, ces méthodes s'avèrent inaccessibles aux petits producteurs des pays africains en général et de la Côte d'Ivoire en particulier ; ceux-ci étant régulièrement confrontés au problème de la disponibilité des rejets pour créer, replanter ou étendre leurs bananeraies.

### **2.1.4. Macropropagation**

Pour pallier ces contraintes liées à la micropropagation, des méthodes de macropropagation très peu coûteuses et vulgarisables en milieu paysan ont été développées (Singh *et al.*, 2011).

#### **2.1.4.1. La méthode de multiplication traditionnelle**

Il s'agit de la méthode la plus simple pour multiplier les rejets de bananier plantain. Elle consiste à enlever les rejets de la base des plantes-mères et de les replanter ailleurs. Cette technique a été utilisée pendant des siècles et a permis la diffusion des bananiers sur tout le continent africain (Bonte *et al.*, 1995).

Cependant, les limites de cette méthode sont le taux de multiplication très faible de 5 à 10 rejets/pied/an et la forte dissémination des nuisibles et des maladies.

#### **2.1.4.2. Technique de la fausse décapitation *in situ***

Un premier pas à franchir dans la production optimale de rejets est d'éliminer complètement la production de régimes. En effet le plant de bananier plantain inhibe la croissance de leurs rejets grâce à l'auxine afin d'assurer son développement et la production de rejets. Il est donc nécessaire de supprimer cette dépendance apicale. La fausse décapitation consiste à inciser une fenêtre à la base du pseudotrunc à l'aide d'un couteau. Cette fenêtre sert à visualiser le méristème, afin de le détruire. Il est nécessaire de faire un contrôle chaque semaine pour éliminer les repousses. Cette technique permet de produire 12-20 rejets-baïllonnets/pied/an.

#### **2.1.4.3. Technique de multiplication par souche décortiquée (MSD)**

Les atouts de la technique MSD sont la grande précocité et la bonne productivité des vivo plants et le fait que les bananeraies sont plus homogènes, et les récoltes sont mieux groupées.

Le sevrage et le grossissement conditionnent la vigueur initiale des vivo plants en champ. La température et l'humidité relative sont les deux facteurs dont dépend la performance de la MSD. Une forte chaleur (température de 28-30°C) combinée avec une humidité relative élevée (80-90%) augmentent le pouvoir multiplicatif des bulbes de bananier. Elle permet de produire 60 – 100 rejets/souche en 6 mois (FAO, 2011).

Cependant la souche devant servir à la multiplication doit être arrachée au stade de préfloraison, ce qui entraîne une réticence des producteurs.

#### **2.1.4.3. Technique du PIF**

La technique des « plants issus de fragments de tige » appelée la technique du PIF a été mise au point par le Centre Africain de Recherches sur Bananiers et Plantains du Cameroun (Kwa, 2002) et est vulgarisée en Côte d'Ivoire dans le cadre du Programme de Productivité Agricole d'Afrique de l'Ouest (Perrin, 2015). La technique du PIF s'adapte facilement aux moyens des paysans sans que les rendements ne soient réduits en quantité et en qualité. En effet, à partir d'un rejet, il est possible d'obtenir jusqu'à 100 pieds de bananier plantain. Le matériel nécessaire à la production des vivoplants est fonction des objectifs de production de plants (utilisation personnelle, vente, distribution, expérimentation...).

## **2.2. Processus de production de vivoplants par la technique du PIF**

Les structures suivantes sont nécessaires à la multiplication *in vivo* des plants : un germoir et une ombrière. Le propagateur doit être placé à proximité d'une voie d'accès, d'un point de collecte d'eau et souvent des habitations. Constitués de caisses en bois, en plastique ou en ciment, les germoirs peuvent être construits en hauteur ou au sol avec des dimensions variables en fonction des objectifs de production. Le fond est isolé du sol pour éviter tout contact direct entre le substrat et la terre. Le substrat de multiplication généralement utilisé est de la sciure fine de bois blanc sur une épaisseur de 20 cm environ (Ngo-samnack, 2011). La sciure de bois blanc est une matière de bonne décomposition pour obtenir des jeunes plants vigoureux.

Le processus de production de vivoplants se déroule en plusieurs phases, de la sélection des rejets au sevrage des plants de bananier plantain.

### 2.2.1. Choix des variétés et collecte des rejets-baïonnettes

La mise en place d'une bananeraie nécessite le choix de la variété la plus adaptée à ses besoins de production. Des rejets-baïonnettes essentiellement récoltés d'un pied mère sain avec une pseudo-tige de 5 à 40 cm de hauteur. Le bulbe doit être exempt de maladie (Figure 2.2).



Figure 2.2: Rejets-baïonnettes de bananier plantain

### 2.2.2. Préparation des bulbes et mise en germe

Le parage des bulbes est effectué afin d'éliminer les racines, la croûte de terre, les galeries possibles des charançons. A la fin, le bulbe doit être entièrement blanc (Figure 2.3). Le décorticage est ensuite fait pour détacher les gaines foliaires l'une après l'autre. A la frontière du bulbe et du pseudo-tronc, se situe une ceinture plus ou moins claire selon les variétés qui relie chaque gaine foliaire au bulbe ; c'est le nœud. Le décorticage se réalise à 2 mm au-dessus du nœud. Le méristème apical est inhibé grâce à une incision en forme de croix de 3 cm de profondeur.

Les bulbes sont séchés à l'ombre. Au terme de la période de séchage, la mise en germe consiste à mettre les explants dans le germe. Il faudra les placer en lignes avec un espacement de 6-10 cm entre bulbes et 20 cm entre lignes. Le tout est recouvert avec de la sciure fine de bois blanc sur une épaisseur de 2 à 3 cm (Figure 2.4).



**Figure 2.3:** Bulbe paré et décortiqué



**Figure 2.4:** Mise de bulbe en germoir

### **2.2.3. Réactivations des bourgeons**

Après deux semaines, de nombreuses pousses peuvent être observées par explant. Dans certains cas, les plantules issues des bourgeons latéraux se développent plus rapidement. Lorsque ces dernières atteignent la taille d'un pouce, il faut procéder à une réactivation. Elle consiste à couper la jeune plantule de l'explant à 2 mm au-dessus du nœud apparent et à effectuer de nouveau une incision croisée à angle droit de la pseudo-tige de la plantule.

### **2.2.4. Suivi du propagateur**

L'arrosage du germoir doit être régulier. Un des indicateurs que le germoir fonctionne correctement normalement est la présence constante des gouttelettes d'eau sous la bâche. Il

arrive que par oubli que le substrat perde trop d'eau ou que des champignons se développent. Dès lors, il faudra éliminer les bulbes qui pourrissent (Figure 2.5).



**Figure 2.5:** Emission de jeunes pousses en germoir

A : Cinq jours ; B : Deux semaines après mise en germoir

### **2.2.5. Sevrage et repiquage en sachet**

Le sevrage survient 30 à 40 jours après l'ensemencement. Les jeunes plants ayant trois à cinq feuilles sont détachés avec précaution, avec une lame de bistouri. En fonction des variétés, on peut obtenir entre 20 et 100 plants par explant après trois mois (Tomekpe *et al.*, 2011). Il ne faut pas laisser les plants se développer exagérément dans le germoir au risque de voir épuiser les facultés de multiplication des bulbes (Figure 2.6).

Les plantules, avec toutes leurs racines, sont repiquées dans un sachet de polyéthylène noir, perforé, de dimension variable en fonction de la durée de la pépinière. Par contre, les plantules détachées sans racines sont repiquées à nouveau dans la sciure du germoir pendant 10 jours environ avant leur transfert en pot.

Le terreau de remplissage doit être riche en matière organique et permettre un bon drainage à l'intérieur du sachet. Dans certains cas, le terreau peut être mélangé au sable ou à de la parche de café. Les proportions à respecter sont fonction des caractéristiques physiques du sol et des matériaux disponibles. Pendant le repiquage, un trou est réalisé au centre du sachet à une profondeur suffisante pour ne pas faire recourber les racines. La plantule est introduite à l'intérieur du trou, et la terre est tassée légèrement sans compacter. Seul le bulbe doit être enterré. A la fin du repiquage il faut arroser abondamment les jeunes plantules. Les plants repiqués sont placés sous ombrière, qui offre une température idéale d'acclimatation de 25 – 27 °C. Les plants acclimatés sont arrosés quatre fois par semaine.



**Figure 2.6 :** Sevrage des vivoplants et acclimatation sous ombrière

A : Sevrage ; B : Acclimatation

### **2.3. Limites de la technique du PIF**

Bien qu'accessible aux paysans, cette méthode présente le risque de multiplier du matériel contaminé par des nématodes ou des maladies d'origine bactérienne ou fongique si certaines précautions ne sont pas prises telles que l'application de nématicides ou de fongicides. Cependant, ces produits phytosanitaires ont un coût élevé et sont néfastes pour l'environnement dans un contexte de développement d'une agriculture durable.

Il est donc nécessaire d'envisager des alternatives respectueuses de l'environnement afin d'assurer un système de production durable.

## **CHAPITRE 3. Généralités sur les champignons endophytes et champignons endomycorhiziens**

### **3.1. Champignons endophytes**

#### **3.1.1. Définition**

Un champignon endophyte est un champignon qui colonise les tissus de plantes vivantes sans causer de symptôme ni de dommage à celles-ci (Hirsch & Kapulnik, 1998). Les endophytes fongiques désignent également les champignons présents au sein des tissus apparemment sains et fonctionnels de la plante au moment de la collecte des échantillons (Sieber, 2002). Ce concept a été soutenu par Schulz & Boyle (2005) pour décrire les champignons qui peuvent être détectés à un instant donné dans les tissus des hôtes végétaux apparemment sains.

Bien qu'une telle définition semble trop large, la plupart des spécialistes des champignons s'accordent sur une typologie des espèces de champignons endophytes en fonction de l'hôte, des organes et tissus colonisés (Saikkonen *et al.*, 2004).

#### **3.1.2. Typologie des champignons endophytes**

Les champignons endophytes peuvent être classés en deux grands groupes, reflétant des différences dans la relation évolutive, la taxonomie, les hôtes végétaux et les fonctions écologiques (Tableau 3.1) : les endophytes Clavicipitacées qui colonisent certaines graminées; Et les endophytes non-Clavicipitacées, présents dans les tissus des plantes non vasculaires, des fougères et des alliés, des conifères et des angiospermes (Rodriguez *et al.*, 2009).

Les endophytes Clavicipitacées (Classe 1) représentent un petit nombre d'espèces phylogénétiquement apparentées qui sont limitées à certaines herbes (Bischoff & White, 2005). Ces endophytes se retrouvent dans les tiges des plantes, où ils forment des colonies intercellulaires systémiques. La transmission des endophytes de classe 1 est principalement verticale, les plantes-mères passant des champignons aux descendants par des infections de semences. Les plantes colonisées portent habituellement un isolat/génotype fongique dominant (Wille *et al.*, 1999).

Les endophytes non-Clavicipitacées sont très diversifiés, représentant un ensemble polyphylétique de champignons principalement ascomycètes avec des rôles écologiques

divers et souvent mal définis ou inconnus. Des endophytes non-Clavicipitacées ont été isolés de chaque lignée principale de plantes terrestres et de tous les écosystèmes terrestres, y compris des agroécosystèmes allant des tropiques à la toundra (Arnold & Lutzoni, 2007). L'ampleur de leur diversité, leurs rôles écologiques, leurs applications potentielles et leur capacité à basculer entre les modes de vie endophyte, libre et pathogène (Selosse *et al.*, 2008; Vasiliauskas *et al.*, 2007) deviennent de plus en plus évidents, engendrant un enthousiasme croissant de mycologues, d'écologistes, de physiologistes et de scientifiques appliqués.

Les endophytes non-Clavicipitacées peuvent être subdivisés en trois classes fonctionnelles basées sur les modèles de colonisation de l'hôte, le mécanisme de transmission entre les générations d'hôtes, les niveaux de biodiversité *in planta* et la fonction écologique (Tableau 3.1). Bien que les trois classes aient une large gamme d'hôtes, les endophytes de classe 2 peuvent se développer dans les tissus des tiges, racines et rhizomes. En revanche, les endophytes des classes 3 et 4 sont restreints aux tissus des tiges et racines, respectivement.

La colonisation des tissus hôtes diffère également : Les endophytes de classe 3 forment des colonies hautement localisées, tandis que les endophytes de classe 2 et 4 sont capables d'une colonisation tissulaire étendue. En général, la diversité des endophytes de classe 2 (Rodriguez *et al.*, 2008) dans les plantes hôtes individuelles est assez limitée, alors que la diversité des endophytes de classe 3 dans une plante ou un tissu hôte peut être extrêmement élevée (Arnold *et al.*, 2003).

**Tableau 3.1:** Caractérisation des champignons endophytes en fonction du mode de symbiose

Critères	Clavicipitacées	Non Clavicipitacées		
	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
Gamme d'hôtes	Limitée	Large	Large	Large
Tissus colonisés	Tige et rhizome	Tige, racine et rhizome	Tige	Racine
Type de colonisation	Extensive	Extensive	Limitée	extensive
Diversité	Faible	Faible	Élevée	Inconnue
Transmission	Verticale et horizontale	Verticale et horizontale	Horizontale	horizontale

### 3.1.3. Écologie des champignons endophytes

Les champignons endophytes sont polyphylétiques et appartiennent essentiellement à la famille des Ascomycètes et leurs anamorphes (Aly *et al.*, 2011). Il y a environ 300.000 espèces de plantes dans le monde et chaque plante est l'hôte d'un ou de plusieurs endophytes. La population des endophytes a été estimée environ à 1 million d'espèces différentes. D'où une grande diversité des de ces champignons (Strobel & Daisy, 2003).

Leur présence a été notée dans les tissus de presque toute les plantes telles que les algues (Hawas *et al.*, 2012), les mousses et les lichens (U'Ren *et al.*, 2010), plusieurs angiospermes et gymnospermes incluant les palmiers tropicaux, les espèces ligneuses (Arnold *et al.*, 2003), diverses herbacées annuelles et de nombreuses plantes décidues et sempervirentes, dans toutes les régions climatiques à travers le monde (Petrini *et al.*, 1992)

Plusieurs champignons décrits par des pathologistes comme endophytes ont été identifiés comme pathogènes mineurs ou secondaires. La présence de ces champignons à la fois dans les tissus sains et malades les assimile parfois à des endophytes, des pathogènes facultatifs ou latents. Ainsi les champignons pathogènes ayant dans leur cycle de développement, des phases « d'infection latente » asymptomatiques peuvent être considérés comme des endophytes (Schardl & An, 1993).

Les champignons décrits comme des endophytes présentent une période pendant laquelle leur croissance et la colonisation s'arrêtent momentanément, reprenant après un changement des conditions physiques ou de maturation au sein de l'hôte (Zuccaro *et al.*, 2014). Ce type de croissance est une caractéristique définie des endophytes, bien qu'ils soient parfois considérés, au final, comme des commensaux, des pathogènes latents ou des mutualistes protecteurs.

### 3.1.4. Biologie des champignons endophytes

La transmission des endophytes peut se faire soit de façon verticale (d'un parent à sa descendance), soit de façon horizontale (d'un individu à un autre non parenté). Les endophytes transmis verticalement sont asexués et transmis via une pénétration de l'hyphe fongique au niveau de la semence produite (*Neotyphodium*). Leur potentiel de reproduction est intimement lié à celui de la plante hôte, d'où une relation mutualiste.

Quant aux endophytes transmis horizontalement, ils sont sexués et transmis via des spores qui peuvent être disséminés par le vent ou et/ou des insectes vecteurs. Leur dissémination étant

semblable à celle des pathogènes, ces champignons sont souvent proches taxonomiquement à des pathogènes bien qu'ils ne soient pas eux-mêmes pathogènes (Selosse *et al.*, 2004).

Ces différences entre les endophytes en plus des facteurs environnementaux biotiques et abiotiques ont probablement un effet sur la diversité génotypique, le temps de génération, la distribution spatiale et temporelle de ces endophytes ainsi que l'interaction hôte-champignon.

Le temps de génération d'un endophyte transmis verticalement est relativement long et couvre parfois plusieurs générations de l'hôte. Cependant, les endophytes transmis horizontalement sont capables de se reproduire plusieurs fois pendant une saison et s'accumulent essentiellement au niveau des feuilles (Faeth & Sullivan, 2003).

La colonisation par les endophytes reste localisée et la biomasse mycélienne est relativement très faible par rapport à la biomasse de l'hôte. Les spores sont dispersées généralement à partir des feuilles caduques sénescentes, ainsi le cycle foliaire de l'hôte limite le cycle de vie de plusieurs endophytes de plantes ligneuses. Le comportement des endophytes diffère non seulement des herbacées aux arbres mais aussi des espèces sempervirentes aux espèces décidues (Arnold *et al.*, 2007).

### **3.1.4. Induction de la résistance des plants aux pathogènes**

Des études récentes ont montré que les champignons endophytes sont capables de protéger leur hôte de maladies et limiter les dégâts causés par des microorganismes pathogènes. De nombreux champignons endophytes produisent, en effet, des métabolites secondaires qui sont des composés pouvant avoir des propriétés antifongiques et antibactériennes. Ces composés peuvent inhiber significativement la croissance d'autres microorganismes dont des pathogènes des plantes (Arnold *et al.*, 2003). La réponse à l'attaque d'un pathogène par l'activation de la défense des plantes non symbiotiques est plus lente et plus faible que celle des plantes présentant une symbiose avec des endophytes. Cela implique que la communication entre l'endophyte et l'hôte accroît l'habileté de la plante à détecter le pathogène et à déclencher rapidement ses systèmes de défense. L'évolution de la relation plante-pathogène-endophyte dépend de la niche endophytique. En effet une rapide colonisation de la niche écologique par l'endophyte ne laisse pas de possibilité aux pathogènes de s'établir. Ceci pourrait expliquer essentiellement l'action de protection par les champignons endophytes (Petrini *et al.*, 1992).

### **3.1.5. Champignons endophytes et biocontrôle en agriculture**

En plus de leur intérêt scientifique, les endophytes présentent aussi un intérêt économique important. Ces microorganismes, intervenant quasiment dans toutes les interactions plante-plante, plante-pathogène et plante-herbivore (Selosse *et al.*, 2004), toute activité humaine pourrait avoir un effet sur la dynamique des populations et la structure des communautés des plantes, pathogènes et herbivores des écosystèmes terrestres. Des propriétés diverses des champignons endophytes sont exploitées. L'action de biocontrôle à travers le développement de pesticides naturels ou l'amélioration des cultivars résistants aux herbivores en associant des souches fongiques biologiquement actives aux cultivars (Tadych *et al.*, 2014). D'un autre côté, la colonisation des plantes par des champignons non pathogènes peut conduire à une résistance systémique induite au niveau de la plante-hôte. La résistance induite étant un mécanisme de biocontrôle dans lequel l'agent de biocontrôle n'a pas d'interaction physique avec le phytopathogène. Ainsi, en plus du potentiel économique, l'utilisation des endophytes pourrait diminuer les investissements dans la lutte chimique en proposant une alternative respectueuse de l'environnement et en évitant aux consommateurs, la contamination due aux résidus des pesticides chimiques (Tsai *et al.*, 1994). Les souches d'endophytes ne produisant pas de mycotoxines dangereuses pour la santé des vertébrés, mais augmentant la croissance des plantes, la production des semences, le taux de germination et la tolérance aux stress pourraient être utilisées pour accroître la productivité des plantes fourragères (Rodriguez *et al.*, 2009)

### **3.1.6. Étude de la diversité des champignons endophytes**

L'identification des champignons endophytes est principalement basée sur des méthodes morphologiques, en utilisant des caractères phénotypiques de la culture fongique, des caractères de la spore ou de la structure reproductrice si ces caractéristiques sont discernables (Carmichael *et al.*, 1980; Barnett & Hunter, 1998). La plupart des champignons endophytes appartiennent aux ascomycètes et aux champignons asexués (Huang *et al.*, 2001), mais certains isolats d'endophytes peuvent ne pas produire de structures reproductives même après plusieurs mois. Les isolats stériles sont régulièrement contrôlés en vue d'éventuelles sporulations sur une période de trois à quatre mois ; les isolats n'ayant pas sporulé appelés mycélium stérile, sont divisés en morphotypes différents en fonction des caractéristiques de la culture. Ces groupes de champignons sont très fréquents dans les études sur les endophytes

(Lacap *et al.*, 2003). Les endophytes sont divers et se développent souvent facilement sur les milieux de culture *in vitro*.

Avec les progrès technologiques récents, l'utilisation de méthodes ne nécessitant pas de culture préalable promet de découvrir une diversité toujours plus grande et d'élargir le champ de compréhension de la structure des communautés de champignons endophytes. Ces techniques pourraient permettre aux chercheurs d'optimiser les conditions de culture *in vitro*. De tels efforts sont cruciaux pour l'établissement de banques de souches de références, qui peuvent à leur tour être utilisés pour évaluer empiriquement les interactions entre espèces, comme agents pour la bioprospection ou le biocontrôle, et comme base de recherches futures en systématique ou en génomique. (Arnold, 2007).

Des proportions variables de mycélium stérile allant de 11 à 54 % ont été rapportées (Garcia & Langenheim, 1990; Guo *et al.*, 2000; Petrini *et al.*, 1982). Ainsi, le problème commun à l'identification des champignons endophytes est que certains des endophytes ne peuvent pas être identifiés au niveau de l'espèce ou du genre (Gamboa & Bayman, 2001; Promputtha, Jeewon *et al.*, 2005) et possèdent de nombreux mycéliums stériles non identifiés. D'où l'importance des techniques moléculaires modernes qui pourraient être la meilleure alternative pour identifier ces taxons.

Les approches moléculaires ont été utilisées pour résoudre des problèmes de taxonomie fongique, pour détecter et identifier directement les champignons dans les habitats naturels (Rollo *et al.*, 1995; Ma *et al.*, 1997; Ranghoo *et al.*, 1999). Une analyse de séquence d'ADN ribosomique utilisant des amorces spécifiques pour effectuer la PCR a permis de valider des morphotypes de différents groupes de mycélium stérile et de résoudre les problèmes d'identification liés aux champignons endophytes (Doss & Welty, 1995; Lacap *et al.*, 2003).

Selon Huang *et al.* (2009), l'analyse de la séquence de l'ADNr est fréquemment utilisée pour confirmer l'identification morphologique des isolats endophytes et pour étudier la phylogénie des champignons endophytes, en amplifiant les régions ITS1, 5.8S et ITS2.

### **3.2. Champignons mycorhiziens à arbuscules**

Le terme mycorhize vient des mots grecs « *mukês* » qui signifie champignon, et « *rhiza* » qui signifie racine. Il désigne l'interaction entre les racines d'une plante et un champignon du sol. On estime que plus de 90 % des familles de plantes terrestres possèdent au moins un représentant capable d'établir une symbiose mycorhizienne (Godfroy, 2008). Les mycorhizes

constituent des partenaires essentiels dans la relation sol–plantes–microorganismes. En effet, certaines espèces végétales ne peuvent croître normalement sans leur symbiote fongique dont elles sont fortement dépendantes et avec qui elles ont co-évolué (Gobat *et al.*, 2003).

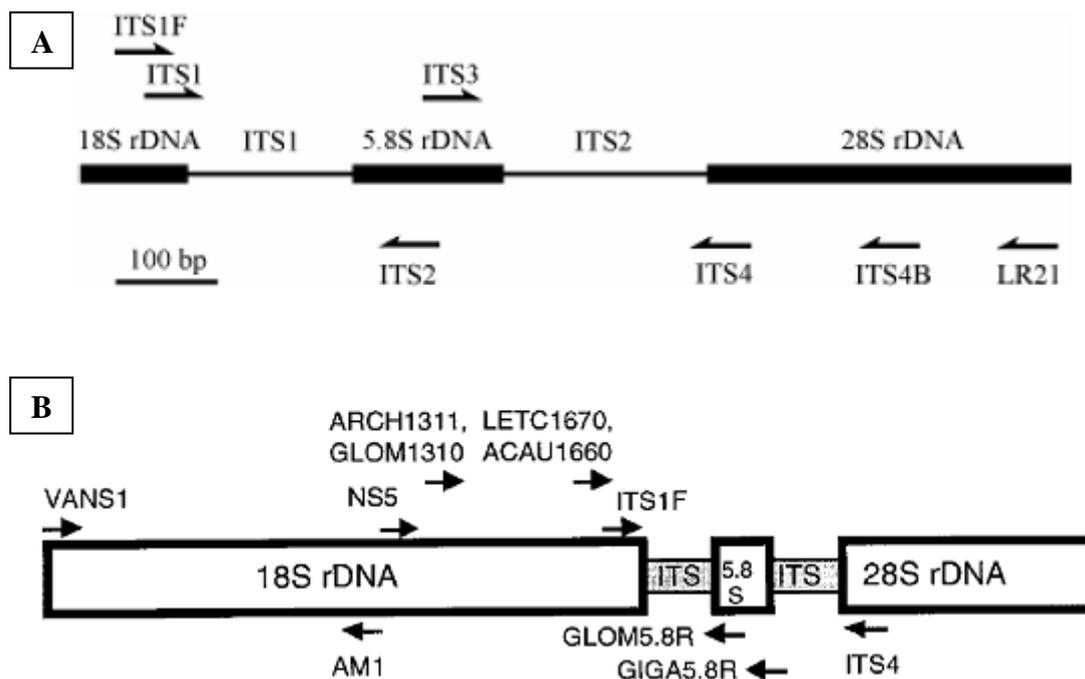
### 3.2.1. Taxonomie moléculaire des CMA

Le peu de variations morphologiques entre les spores rend difficile l'identification des espèces (Sanders *et al.*, 1995; Redecker & Raab, 2006). L'identification et la quantification des CMA sont aussi difficiles car ils n'ont pas de stade sexuel connu et ne sont pas cultivables en l'absence d'hôte (Edwards *et al.*, 1997). Il résulte de ces contraintes que la systématique traditionnelle des Glomales sensu Morton & Benny (1990) est jugée « superficielle » et doit être revue (Schüßler, 1999). Par ailleurs, le comptage des spores et leur identification ne reflètent pas suffisamment la structure des communautés réellement actives dans les racines. En effet, la production de spores n'est pas toujours corrélée avec la colonisation des racines (Clapp *et al.*, 1995; Merryweather & Fitter, 1998) car la sporulation de certains membres des Glomeromycota est assez discontinue voire absente (Schüßler *et al.*, 2001).

Diverses techniques basées sur l'emploi des anticorps spécifiques (Hahn *et al.* 1993), des izoenzymes (Rosendahl, 1989) ou des profils lipidiques (Bentivenga & Morton, 1994) ont été développées pour lever en partie ces contraintes. Les outils de biologie moléculaire seront les plus employés, notamment parce que les gènes ne sont pas affectés par des changements de caractères durant l'ontogénèse ou la différenciation des organes des champignons (Redecker *et al.*, 1997). L'amplification et le séquençage de l'ADN des champignons à partir de spores ou de racines colonisées permettent d'identifier directement les espèces de CMA et d'étudier les relations phylogénétiques entre les différents groupes de CMA (Simon *et al.*, 1992; Sanders *et al.*, 1995; Redecker *et al.*, 1997).

La technique consiste à amplifier par réaction de polymérase en chaîne (PCR) des régions de l'ADN nucléaire ribosomique (ADNr) qui codent les différents ARN ribosomiques (ARNr), 5S, 18S, 28S et 5.8S, à l'aide d'amorces nucléotidiques universelles et spécifiques des champignons (White *et al.*, 1990). L'ADN doit être extrait au préalable à partir d'une spore (Schwarzott & Schüßler, 2001) ou d'un échantillon racinaire (Edwards *et al.*, 1997). Comme la majorité de l'ADN extrait des racines colonisées provient de la plante, les amorces employées doivent être très spécifiques des Glomeromycota et la PCR doit être réalisée sous des conditions très astringentes. Les séquences de l'ADN nucléaire qui codent les ARNr sont suffisamment bien conservées. Elles sont présentes en multiples copies et sont polymorphes

d'une espèce à l'autre. Elles sont donc utilisables pour obtenir des phylogénies de bonne résolution (Simon *et al.*, 1992). Ces séquences sont séparées par des espaceurs transcrits (ITS, eux aussi variables d'une espèce à l'autre mais très rarement au sein d'une même espèce) et des espaceurs non transcrits (IGS, peu conservés à l'échelle de l'espèce). La séquence qui code l'ARNr 18S de la petite sous-unité 40S du ribosome (SSU) des champignons, peut être amplifiée à l'aide des amorces spécifiques aux Glomeromycota VANS1 (Simon *et al.*, 1992) ou AM1 (Helgason *et al.*, 1998). En fait, seule une partie de la séquence est amplifiée, soit 550 paires de bases (pb) sur 1900 pb. La séquence qui code l'ARNr 5.8S de la grande sous-unité 60S du ribosome (LSU) peut être amplifiée à l'aide des amorces ITS1-ITS4 (White *et al.*, 1990; Sanders *et al.*, 1995; Redecker *et al.*, 1997; Redecker *et al.*, 1999). La séquence qui code l'ARNr 28S de la grande sous-unité peut aussi être utilisée, ainsi que les séquences codant les ITS1 et ITS2 (Van Tuinen *et al.*, 1998; Redecker, 2000). Des amorces ont été développées spécifiquement pour une espèce de CMA donnée (Lanfranco *et al.*, 1995; Zézé *et al.*, 1996; Van Tuinen *et al.*, 1998; Millner *et al.*, 2001) ou pour une famille donnée (Simon *et al.*, 1993) (Figure 3.1). La technique de la PCR compétitive réalisée avec des amorces spécifiques à une espèce ou aux Glomeromycota en général permet de quantifier le taux de colonisation des racines d'une plante (Edwards *et al.*, 1997).



**Figure 3.1:** Diagrammes représentant l'ADN ribosomique des organismes eucaryotes et la position des amorces

A : Tedersoo, 2005 ; B : Redecker, 2000)

Les CMA sont regroupés dans le phylum des Glomeromycota (Hibbett *et al.*, 2007). Cette classification est basée principalement sur l'analyse de la comparaison des séquences de la petite sous-unité d'ARN ribosomique. Plus de 200 espèces sont réparties en quatre ordres différents : Archaeosporales, Paraglomerales, Diversisporales et Glomerales (Schüßler *et al.*, 2001). Une phylogénie a pu être établie. Elle a été revue et actualisée par Oehl *et al.* (2011) (Tableau 3.2) ; Puis par Redecker *et al.* (2013) (Figure 3.2)

**Tableau 3.2.** Phylogénie des Gloméromycètes

Règne	Phylum	Classe	Ordre	Famille	Genre		
Mycètes	Glomero- mycota	Glomero- mycetes	Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i> <i>Funneliformis</i> <i>Rhizophagus</i> <i>Septoglomus</i>		
				Claroideo- glomeraceae	<i>Claroideoglomus</i> <i>Viscospora</i>		
				Diversisporales	Diversisporaceae	<i>Diversispora</i> <i>Redeckera</i> <i>Otospora</i>	
					Entrophosporaceae	<i>Entrophospora</i>	
					Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i> <i>Kuklospora</i>	
						Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>
				Gigasporales	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>	
					Scutellosporaceae	<i>Scutellospora</i> <i>Orbispora</i>	
						Racocetraceae	<i>Racocetra</i> <i>Cetraspora</i>
					Dentiscutataceae	<i>Dentiscutata</i> <i>Fuscutata</i> <i>Quatunica</i>	
				Archaeo- sporomycetes	Archaeo- sporales	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i> <i>Intraspora</i>
						Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>
						Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
				Paraglomero- mycetes	Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>

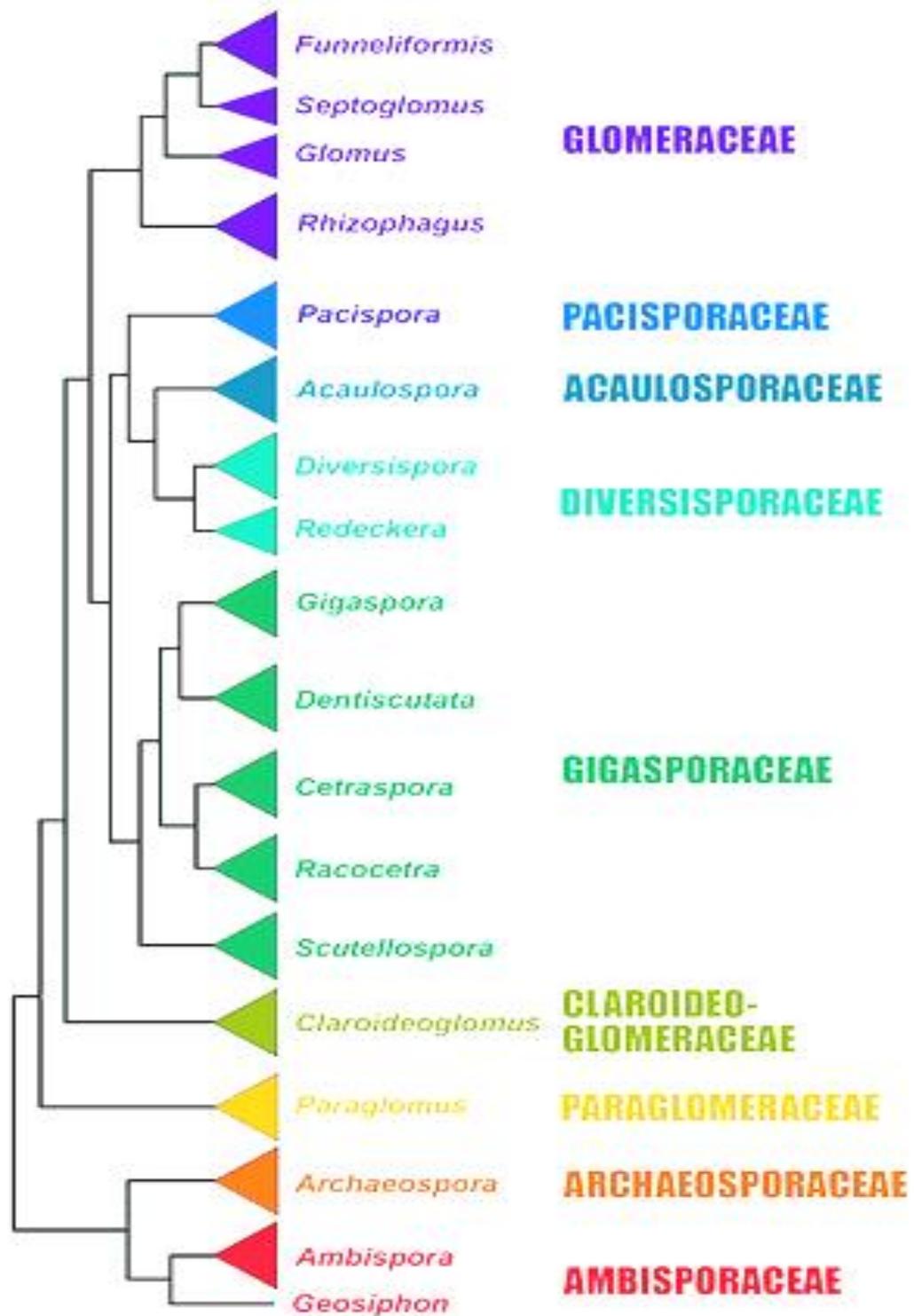


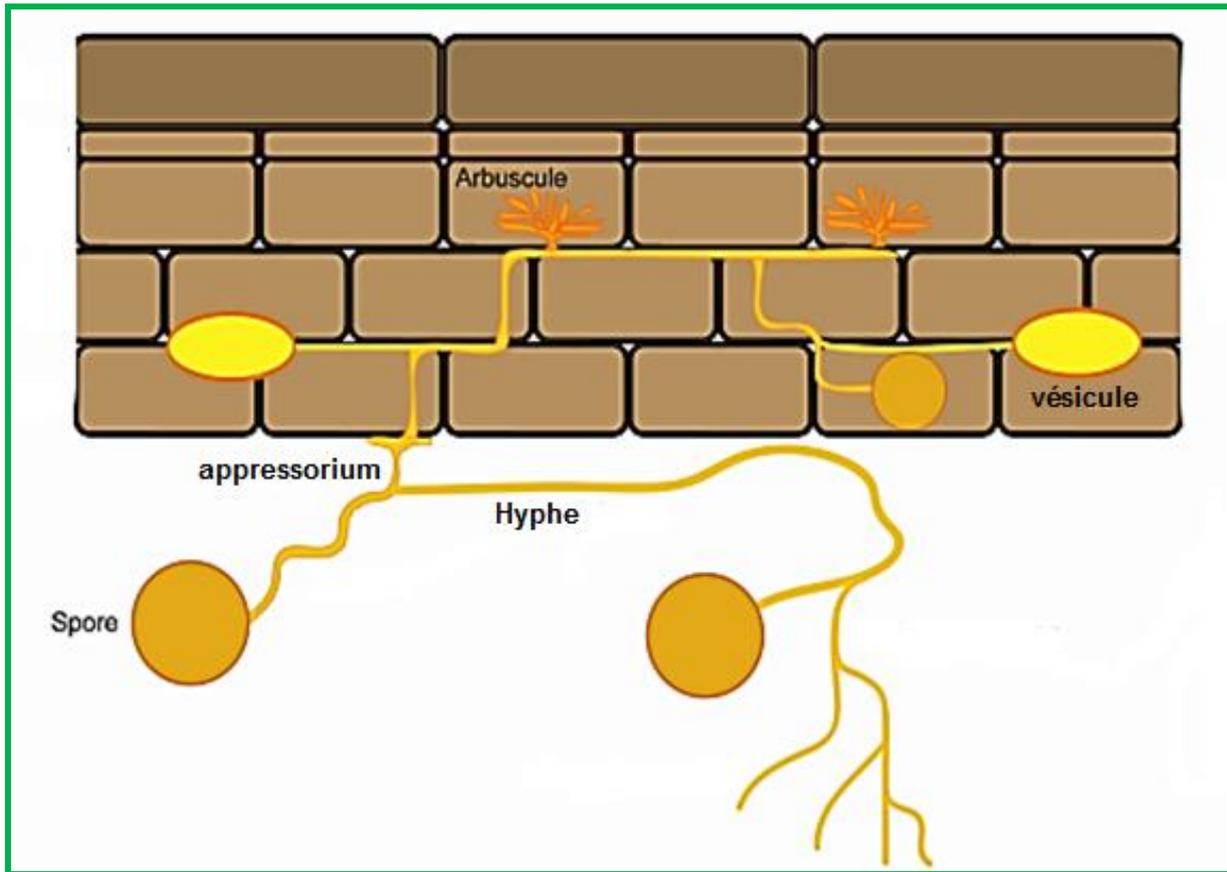
Figure 3.2 : Système de classification des champignons mycorhiziens à arbuscules

### 3.2.2. Biologie des CMA

Les CMA ont la particularité d'être des symbiotes obligatoires. Ils tirent l'essentiel de leurs ressources en carbone de leur partenaire phototrophe. Ils sont incapables de compléter leur cycle de vie en absence de relation symbiotique. Ces champignons sont cœnocytiqes à tous les stades de leur développement. Les spores, comme les autres organes, sont donc polynucléées (Pawlowska & Taylor, 2004). Hormis l'observation de zygospores chez *Gigaspora decipiens*, les Gloméromycètes possèdent une reproduction asexuée. Le développement des CMA se divise en trois phases : la germination des spores, la pénétration dans la plante hôte suivie du développement d'hyphes intraradiculaires et le développement d'un mycélium extraradriculaire (Figure 3.3).

(1) Les spores des CMA germent lorsqu'elles se trouvent dans des conditions de température et d'hygrométrie optimales. Le tube germinatif du champignon se développe alors de manière limitée avec une utilisation minimale des réserves. (2) Lorsque le champignon perçoit la présence d'une plante hôte, il manifeste une réaction typique de ramification intense des hyphes appelée « *branching* ». (3) Lorsque le champignon rentre en contact avec la racine hôte, il différencie des appressoria à la surface du rhizoderme. (4) Après un développement apoplastique, les hyphes intraracinaires du champignon atteignent les cellules corticales où ils différencient des structures très ramifiées appelées « arbuscules ». Les arbuscules sont le site des échanges de nutriments entre les deux symbiotes. (5) Après différenciation des structures intraracinaires, le champignon produit des spores à partir de son mycélium extraradriculaire. Ce mycélium extraradriculaire sert aussi à prélever les nutriments dans le sol pour les fournir à la plante. (Akiyama, 2007)

Au cours des années 1990-2000, il a été montré, chez ces champignons, l'existence d'une diversité génétique inter et intra-spécifique très importante, ainsi qu'un polymorphisme entre les noyaux au sein d'une même spore (Hosny *et al.*, 1999; Vandenkoornhuysen *et al.*, 2001). De plus, il a été démontré l'existence de phénomènes d'anastomose chez les Gloméromycètes (Giovannetti *et al.*, 2001). Au cours de ce processus deux hyphes fongiques entrent en contact, fusionnent et établissent ainsi une continuité cytoplasmique. Il en résulte la formation d'un seul hyphe renfermant les noyaux des deux hyphes « parents ». La symbiose mycorhizienne à arbuscules ne présente pas, contrairement à d'autres endosymbioses, une spécificité d'hôte nette (Newman *et al.*, 1994).



**Figure 3.3:** Schéma de la symbiose endomycorhizienne

Source : Börstler, 2010

### 3.2.3. Rôles des CMA dans les agrosystèmes

Les CMA sont des organismes entièrement dépendants de leur plante hôte qui leur fournit les éléments carbonés indispensables à leur développement (Smith & Read, 1997). En retour, la plante bénéficie de l'aide du champignon pour obtenir de l'eau et des nutriments (principalement du phosphore et de l'azote mais aussi du potassium, du soufre et du cuivre). En plus de bénéficier d'une meilleure nutrition minérale, les plantes mycorhizées montrent aussi une meilleure résistance aux stress hydrique salin et aux stress provoqués par des agents pathogènes ou des métaux lourds (Al-Karaki *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2006).

#### 3.2.3.1. Mycorhization et nutrition hydrique

Les conditions de faible alimentation en eau chez les plantes mycorhizées augmentent l'infection des racines. Il existe également une corrélation positive entre le développement des mycorhizes et l'induction de l'économie de l'eau, et un effet bénéfique de la mycorhization d'autant plus important que le sol est sec (Sieverding, 1981).

Les plants inoculés par des CMA sont capables de maintenir leur conductance foliaire (ouverture des stomates) pour des déficits hydriques tissulaires importants et à des potentiels foliaires et du sol plus bas que les non mycorhizés. La mycorhization améliore, en effet, les ajustements osmotiques par accumulation de solutés (Auge *et al.*, 1986). Aussi, en cas de stress hydrique, les plantes mycorhizées sont capables de maintenir leur turgescence dans une grande gamme de teneur en eau (Auge & Stodola, 1990).

### **3.2.3.2. Mycorhization et amélioration de la nutrition minérale**

Dans la plupart des cas, l'effet bénéfique des mycorhizes se traduit par une amélioration de la nutrition minérale de la plante-hôte, surtout en ce qui concerne les éléments peu mobiles dans le sol tels que P, Zn et Cu (Tinker, 1984). Il n'est pas exclu que la nutrition azotée puisse aussi être améliorée sous l'effet de la mycorhization.

Dans toutes les comparaisons entre des plants mycorhizés et des plants non mycorhizés, la quantité de phosphore prélevée est plus importante chez la plante mycorhizée (Mosse, 1973). Cette accumulation est due à une absorption par le champignon puisqu'elle disparaît par l'application d'un fongicide. Le phosphore est stocké dans les structures fongiques sous forme de polyphosphates. Il est ensuite transféré à la plante au niveau de l'interface arbusculaire (Gianinazzi-Pearson & Gianinazzi, 1986).

Comme pour le phosphore, il est probable que des racines mycorhizées puissent avoir accès à des sources d'azote peu accessibles à des racines non mycorhizées, tel l'ammonium fixé sur le complexe adsorbant, voire même à de l'azote organique. Ceci est d'autant plus important que la minéralisation-nitrification de l'azote est très fortement ralentie durant les périodes sèches. Par ailleurs, lors de la réhumectation du sol, on peut observer une réorganisation rapide de l'azote minéral dans la biomasse microbienne qui se développe aux dépens des débris végétaux accumulés durant la période sèche (Chaussod *et al.*, 1993). Dans ces conditions, grâce au partenaire fongique, la mycorhization peut apporter un avantage décisif dans la compétition pour l'azote.

Une nutrition équilibrée dépend aussi d'autres éléments tels que le soufre ou les oligo-éléments comme le cuivre, le zinc, le manganèse et le fer (Kothari *et al.*, 1990; Tinker, 1984). L'augmentation du prélèvement de ces éléments est essentiellement due à une meilleure exploration du sol par les hyphes extraracinaires. Vinayak et Bagyaraj (1990) ont effectivement observé une mobilisation plus importante de P, Zn, Cu chez des plantes

mycorhizés de citrange “Troyer” (porte-greffe d’agrumes), par rapport aux mêmes plantes non mycorhizées.

### 3.2.3.3. Mycorhization et protection des végétaux

La symbiose endomycorhizienne joue un rôle important dans la protection des végétaux en permettant une meilleure résistance aux attaques des pathogènes et des ravageurs du sol. De nombreuses études ont rapporté un effet protecteur des CMA contre des champignons pathogènes tels que contre *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotium* spp., *Verticillium* spp. et *Aphanomyces* spp. ou des nématodes (Li *et al.*, 2006). Chez la banane, l’endomycorhization a permis une réduction significative de plus de 64 % des dommages causés par le charançon *Cosmopolites sordidus*.

Les premières études sur l’interaction CMA-nématodes des *Musa* ont été réalisées sur la banane dessert (*Musa* AAA) infectée par *Radopholus similis* et *Meloidogyne* spp. Il a été démontré que la présence des CMA réduit l’infection des nématodes et leur action sur le système racinaire de la plante dans plusieurs cas (Jaizme-Vega *et al.*, 1997; Pinochet *et al.*, 1997; Umesh *et al.*, 1988). Cette interaction a été mise en évidence sur une plus grande gamme de génotypes des bananes (AA, AAA, AAB) et d’espèces de nématodes ; l’intensité de l’interaction dépend du génotype de plante hôte. (*Pratylenchus coffeae*) (Elsen *et al.*, 2003a; b).

### 3.2.3.4. Mycorhization et métaux lourds

Le potentiel de la phytorestauration des sols contaminés par des métaux lourds a déjà été démontré par de nombreuses recherches (Baker *et al.*, 1988; Giasson & Jaouich, 1998; Kumar *et al.*, 1995; Salido *et al.*, 2003). Toutefois, la recherche doit être poursuivie pour augmenter la biomasse et l’accumulation des métaux lourds dans la végétation. C’est principalement à ce niveau qu’intervient les CMA. Comme les sites contaminés qui doivent être restaurés sont généralement pauvres en éléments nutritifs, les CMA peuvent jouer un rôle important dans l’établissement des végétaux pour des fins de phytorestauration. D’autre part, depuis une vingtaine d’années, plusieurs travaux de recherche ont démontré que la colonisation mycorhizienne peut avoir un impact sur l’assimilation des métaux par les végétaux (Bradley *et al.*, 1982; Gildon & Tinker, 1983).

Dehn et Schüepp (1989) ont montré qu’une infection mycorhizienne augmente l’assimilation des métaux lourds dans les racines des plants de laitue. D’autres travaux ont montrés quant à

eux une meilleure assimilation des métaux lourds dans les parties aériennes de plantes de la famille des légumineuses (Angle *et al.*, 1988; Lambert & Weidensaul, 1991), des graminées (Burke *et al.*, 2000; Hetrick *et al.*, 1994; Killham & Firestone, 1983; Mohammad *et al.*, 1995). L'impact de la mycorhization sur l'accumulation des métaux lourds est variable selon l'espèce de plante, la souche de champignon mycorhizien utilisée et le type de métal lourd présent dans le sol.

### **3.2.4. Champignons mycorhiziens à arbuscules et pratiques culturales**

Les pratiques culturales ont généralement un impact négatif sur les communautés de CMA (Helgason *et al.*, 1998). Des études de communauté basées sur l'analyse des séquences codant l'ARNr 18S amplifiées avec l'amorce AM1 à partir des racines des cultures ont révélé que la diversité des communautés de CMA est plus faible dans les sols cultivés que dans les sols de prairies ou de forêts (Daniell *et al.*, 2001; Helgason *et al.*, 1998). Cette perte de diversité a été attribuée à une pression de sélection complexe par les pratiques agricoles sur les communautés de CMA, parmi lesquelles, la fertilisation minérale, le travail du sol, l'emploi de pesticides et la monoculture. Par contre, Hijri *et al.* (2006) ont montré que tous les sols cultivés ne sont pas nécessairement pauvres en diversité de CMA, et qu'il importe de préciser le type d'agriculture pratiquée et la nature du sol considéré.

#### **3.2.4.1. Fertilisation**

L'apport de fertilisants minéraux solubles augmente instantanément l'offre du sol en éléments disponibles pour les cultures. De très nombreuses études ont montré que dans ces conditions, le rôle de la symbiose mycorhizienne est fortement réduit voire supprimé. L'augmentation de la concentration en azote et en phosphore dans la solution du sol accroît la synthèse protéique et la synthèse des composés phosphorylés par les plantes, ce qui entraîne une diminution de la teneur en sucres solubles dans les racines. Or, cette teneur détermine les possibilités de nutrition de l'association et le taux de colonisation mycorhizienne (Le Tacon *et al.*, 1999). Par contre, les engrais qui libèrent très lentement les nutriments, comme les engrais de ferme (fumier, compost, résidus de culture, bois raméaux fragmentés) ne semblent pas avoir d'effets négatifs sur les CMA, et peuvent même les stimuler. Seuls les systèmes de culture à faible niveau d'intrant ou ceux qui n'ont recours qu'à très peu d'engrais minéraux solubles, comme en agriculture biologique, semblent *a priori* stimuler la symbiose à CMA (Wani *et al.*, 1991).

L'effet des CMA sur la nutrition des plantes reste d'ailleurs relativement contradictoire (Gosling *et al.*, 2006). Une plante correctement alimentée peut rester fortement mycorhizée (Ryan & Ash, 1999; Ryan *et al.*, 2002). La fertilisation semble sélectionner des espèces de CMA qui tolèrent des niveaux élevés de nutriments dans le sol tandis qu'elle supprime d'autres espèces plus sensibles. Par exemple, Stukenbrock & Rosendahl, (2005) n'ont pas trouvé de variations dans la structure génétique des populations de Glomerales entre une parcelle ayant reçu une fertilisation P minérale et une autre parcelle n'ayant rien reçu.

#### **3.2.4.2. Travail du sol**

Le labour de la couche arable avec une charrue à versoir peut causer la destruction perpétuelle du réseau d'hyphes et l'enfouissement des propagules en profondeur (Oehl *et al.*, 2004; 2005), ce qui entraîne un ralentissement de la colonisation des plantes et l'exploration du sol par les CMA (Goss & Varennes, 2002; Kabir, 2005). Cela peut affecter la nutrition et la croissance des plantes lorsque ce réseau s'avère important pour la plante. Le travail réduit s'est avéré moins néfaste aux populations mycorhiziennes que le labour conventionnel. Tout en influençant le niveau de colonisation des racines par les CMA, le travail du sol peut aussi créer un changement dans la structure des communautés de CMA (Jansa *et al.*, 2002, 2003). Ce changement est caractérisé par l'élimination de certaines familles clés. Le travail du sol se traduit généralement par une perte globale de diversité des CMA, du moins dans l'horizon labouré (Jasper *et al.*, 1991).

Si le travail du sol sélectionne aussi des espèces de CMA capables de sporuler rapidement, il se peut que cette sporulation intense concentre de l'énergie qui aurait pu être investie au profit des plantes hôtes. Par conséquent, le travail du sol peut sélectionner des espèces de CMA moins utiles aux cultures, car elles investissent une bonne partie de leurs ressources à la production de spores (Johnson *et al.*, 1992).

#### **3.2.4.3. Rotation des cultures**

Une autre raison de la faible diversité des CMA dans les sols cultivés, et de la dominance de certaines espèces plutôt que d'autres, est la faible diversité des cultures, surtout dans les systèmes de monoculture (Burrows & Pflieger, 2002; Oehl *et al.*, 2003). Il existe en effet une certaine spécificité des champignons pour leur hôte, et la succession année après année de la même culture aboutit à la sélection d'un faible nombre d'espèces, qui sont spécifiques de cette plante. Johnson *et al.* (1992) suggèrent même que la monoculture ne sélectionne que des

espèces peu ou pas avantageuses pour la culture, et que cela puisse expliquer, en partie, le déclin des niveaux de production agricole dans les monocultures. L'effet d'un précédent cultural constitué d'une culture de soja ou de pois, légumineuses à forte dépendance mycorhizienne, sera bénéfique pour le potentiel mycorhizogène du sol (Plenchette *et al.*, 1983). Il ressort de cette analyse que l'inoculum laissé par une culture a une influence positive ou négative sur la colonisation de la culture suivante (Douds *et al.*, 1995). L'absence de culture, par exemple dans le cas d'une jachère nue, a un impact négatif sur le nombre de propagules viables contenus dans le sol (Hamilton *et al.*, 1993; Troeh & Loynachan, 2003). Les engrais verts en culture dérobée ou intercalaire peuvent constituer un hôte intermédiaire entre les CMA et la culture principale. Boswell *et al.* (1998) ont trouvé qu'un engrais vert qui suit une culture de blé peut augmenter l'inoculum fongique et le niveau de production de la culture suivante. De même, les adventices peuvent être aussi efficaces que les engrais verts, car elles offrent aussi aux CMA des hôtes intermédiaires (Kabir & Koide, 2000).

#### **3.2.4.4. Pesticides**

Aux doses recommandées, les effets des fongicides sur les associations de CMA sont complexes et imprévisibles. L'effet des fongicides peut être négatif, neutre et positif dépendamment du fongicide considéré, de son temps d'action et de sa dose d'application. Paradoxalement, certains fongicides n'ont montré aucun effet négatif sur les CMA, et dans certains cas, ils ont même augmenté le taux de colonisation par les CMA et le prélèvement des cultures, particulièrement à de faibles niveaux d'applications. Par contre, les herbicides peuvent avoir un effet négatif direct sur les populations de CMA, car ils éliminent un hôte potentiel pour la survie des champignons. Bien que certains pesticides puissent supprimer les CMA, ils éliminent aussi des facteurs indésirables aux cultures (champignons pathogènes, adventices, nématodes) contre lesquelles ils sont justement utilisés. Par conséquent, l'effet global peut être positif. (Gosling *et al.*, 2006)

### **3.3. Outils pour l'étude de la diversité des CMA**

Dans l'étude des communautés de CMA, selon le type d'échantillon utilisé (sol ou racines), les méthodes peuvent changer. La méthode la plus couramment utilisée à l'heure actuelle et la plus simple est l'extraction de l'ADN total de l'échantillon. A partir d'échantillons racinaires est alors obtenu un mélange d'ADN de la plante et des microorganismes présents dans celle-ci tandis qu'à partir d'échantillons de sol, c'est un mélange d'ADN de tous les microorganismes

du sol qui sera collecté. Même si la coloration des racines colonisées par les CMA peut donner des informations sur la fréquence et le taux de mycorhization des plantes, cette technique reste limitée dans les informations taxonomiques qu'elle fournit (Merryweather & Fitter, 1998) et est souvent utilisée en complément de l'extraction d'ADN. Pour les échantillons de sol, hormis l'extraction d'ADN, les méthodes sont restreintes à l'isolation des spores et à l'étude morphologique de ces dernières pour l'identification des CMA.

Lors d'études utilisant à la fois des échantillons de sol et de racines, il a été reporté des différences de communautés de CMA selon le type d'échantillon (Börstler *et al.*, 2007) mais aussi parfois une grande similarité entre échantillons de sol et de racines (Borriello *et al.*, 2012). L'étude de la diversité passe non seulement par l'étude de la richesse taxonomique, ou nombre de taxa, mais aussi par l'étude de l'abondance de ces taxa au sein de la communauté (Konopka, 2009).

L'automatisation du séquençage a abouti au développement de la méthode de séquençage haut-débit, le « pyroséquençage » (Gharizadeh *et al.*, 2004) qui présente l'avantage d'éviter la phase de clonage et de séquencer de nombreux échantillons à la fois par l'ajout de « code-barres nucléotidiques » permettant de différencier les échantillons lors de l'analyse des résultats (Ronaghi, 2001). Cette méthode fait l'objet, de nos jours, d'un grand engouement car ces dernières années, la longueur des séquences obtenues a considérablement augmenté allant jusqu'à environ 600 bp.

L'interprétation quantitative, ou semi-quantitative, des résultats issus de ces différentes méthodes reste un débat toujours d'actualité puisqu'elles ont été décrites à la base comme des méthodes qualitatives. En effet, pour étudier la diversité des CMA, les abondances relatives (ou proportions) des espèces de CMA sont communément utilisées comme données quantitatives. L'utilisation semi-quantitative des données issues du clonage-séquençage d'amplicons obtenus par PCR nichée a été considérée comme valide (Kohout *et al.*, 2014). De même, une similitude des résultats a été trouvée entre pyroséquençage et clonage-séquençage à partir de PCR simple (Öpik *et al.*, 2009).

L'ensemble de ces techniques d'analyse des communautés de CMA passe par une phase d'identification des CMA qui doit être la plus précise possible, à savoir au niveau de l'espèce voire au niveau infra-spécifique. Cette identification nécessite d'avoir une base de données de référence spécifique, préalablement établie, pour la méthode et le marqueur utilisés. Ces bases de données de référence sont classiquement obtenues suite à l'application de la méthode et du marqueur choisis sur des spores issues de cultures pures de collections. Les séquences

obtenues lors de l'étude sont alors regroupées par homologie de séquences formant des unités taxonomiques opérationnelles (OTU). L'homologie entre séquences est déterminée par le marqueur utilisé durant l'étude et son pouvoir de résolution spécifique qui est généralement de l'ordre de 97-99 %. Une séquence est utilisée comme étant représentative de chaque OTU. Cette séquence représentative est assignée phylogénétiquement, par homologie, à une base de données de séquences de référence pour lesquelles l'espèce et l'isolat sont connus. La position de l'OTU dans l'arbre alors créé permet de déterminer l'espèce de CMA à laquelle appartient cet OTU.

Il existe plusieurs gènes utilisables en tant que marqueurs génétiques et pour chacun d'entre eux, il y a différentes amorces décrites possibles. Le marqueur et les amorces utilisés vont être différents selon l'échelle étudiée (inter- ou intra- spécifique) et/ou selon la méthode employée puisque ce choix peut en partie déterminer les résultats qui seront obtenus. En effet, il a été observé (Hijri *et al.*, 2006) une diversité de CMA plus importante que celles retrouvées auparavant avec d'autres amorces (Helgason *et al.*, 1998; Daniell *et al.*, 2001). De plus, une étude récente comparant les résultats de plusieurs marqueurs utilisés sur les mêmes échantillons a montré que la diversité de CMA observée pouvait être biaisée selon le type d'amorces utilisé (Kohout *et al.*, 2014). Il faut donc avant toute chose bien choisir son marqueur et ses amorces. Les marqueurs varient dans leur pouvoir de résolution spécifique, c'est-à-dire dans leurs capacités à distinguer des espèces de CMA très proches (Stockinger *et al.*, 2010).

Pour l'étude des CMA, ces régions d'ADN amplifiées doivent donc suffisamment varier entre les différentes espèces afin de pouvoir les distinguer tout en permettant d'amplifier l'intégralité des espèces de CMA. Il en va de même aux échelles des populations ou des isolats. De plus, une base de données de référence doit être disponible pour le marqueur donné et en particulier pour la région amplifiée par les amorces choisies. Pour l'étude des CMA, Il existe ainsi plusieurs gènes marqueurs fréquemment utilisés pour lesquels de nombreuses amorces sont décrites que ce soit à l'échelle interspécifique ou intraspécifique.

### **3.4. Synthèse sur les CMA associés au bananier plantain**

Le bananier est une plante très mycotrophe (Declerck *et al.*, 1995). Elle forme des associations avec plusieurs espèces de CMA (Adriano-Anaya *et al.*, 2006). Cependant les études menées sur les systèmes de culture de banane associée au CMA sont rares (Adriano-Anaya *et al.*, 2006). L'abondance de *Glomus spp.*, *Sclerocystis sp.* et de *Acaulospora sp.* dans

des bananeraies a été mise en évidence en Martinique et en Amérique centrale (Declerck, 1996). Des différences significatives furent notées au niveau de la densité des spores selon les propriétés du sol et les conditions agroécologiques. Ainsi, la densité de spores dans sol dépend non seulement du caractère mycotrophe de la plante (Vestberg *et al.*, 2005), mais aussi des conditions climatiques (Öpik *et al.*, 2006), et des propriétés du sol (Adriano-Anaya *et al.*, 2006).

L'effet des CMA sur le bananier a été étudié presque exclusivement en conditions contrôlées et sur plantules (principalement le cultivar Cavendish, *Musa AAA*) issus de culture *in-vitro* (Jaizme-Vega *et al.*, 2002). Une augmentation significative de la concentration des nutriments au niveau des feuilles des plants inoculés ainsi qu'une croissance de ces plants sont observées. L'inoculation des plantules de bananier avec des CMA accroît la biomasse souterraine et aérienne (Jaizme-Vega *et al.*, 2003), ainsi que la photosynthèse et la respiration (Yano-Melo *et al.*, 1999).

Plusieurs études ont montré que les inocula *in-vitro* de *Glomus spp.* induisent une augmentation de biomasse des plantules de bananier supérieure par rapport aux autres genres tels que *Acaulospora* (Yano-Melo *et al.*, 1999) ou *Scutellospora* (Jaizme-Vega & Azcón, 1995). Cependant à l'intérieur du genre *Glomus*, des différences sont notées quant à l'efficacité des espèces (Declerck *et al.*, 1995). En effet, en conditions contrôlées, les plants de bananier inoculés avec *G. macrocarpum* ont une matière sèche nettement supérieure à celle des plants inoculés avec *G. mosseae* (Declerck *et al.*, 1995).

---

## **DEUXIÈME PARTIE: MATÉRIEL ET MÉTHODES**

---

# CHAPITRE 4. Étude des caractéristiques des différentes zones d'étude

## 4.1. Situation géographique des zones d'étude

Les départements d'Abengourou, Azaguié et Bouaflé (Tableau 4.1) ont été choisis pour l'étude des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules associés au bananier plantain au regard de l'importance de la culture de la banane plantain dans ces différentes localités (Traoré *et al.*, 2009).

Les endophytes associés au bananier plantain ont été isolés dans la zone d'Azaguié, qui est une zone à forte pression parasitaire, avec une incidence particulièrement élevée de maladies fongiques (Kra *et al.*, 2011).

Pour les essais en champ, les parcelles ont été mises en place dans les zones de Bouaflé et Yamoussoukro. (Figure 4.1)

**Tableau 4.1:** Sites d'échantillonnage et d'essais

Départements	Isolement des CMA	Isolement des champignons endophytes	Essais en champ
Abengourou	×		
Azaguié	×	×	
Bouaflé	×		×
Yamoussoukro			×



## 4.2. Caractéristiques agro-climatiques des zones d'étude

### 4.2.1. Zone d'Abengourou

#### 4.2.1.1. Climat

La région appartient à la zone de la forêt tropicale humide de l'Est de la Côte d'Ivoire. Elle jouit d'un climat subéquatorial, chaud et humide, à faciès Attiéen (Eldin, 1971). Comme la majorité des régions de la zone tropicale, le climat de la région est sous l'influence du FIT (Front Intertropical). La partie Sud est mieux arrosée que le nord, avec une moyenne de 110 à 120 jours de pluies dans l'année contre moins de 100 jours dans le Nord. La pluviométrie annuelle moyenne est de 1300 mm (Figure 4.2). La température moyenne journalière et mensuelle varie très peu, elle est de l'ordre de 26 à 27 °C. L'amplitude thermique annuelle est faible, elle varie de 3 à 4 °C. L'humidité atmosphérique est supérieure à 80 % et peut descendre à 20 % pendant l'harmattan.

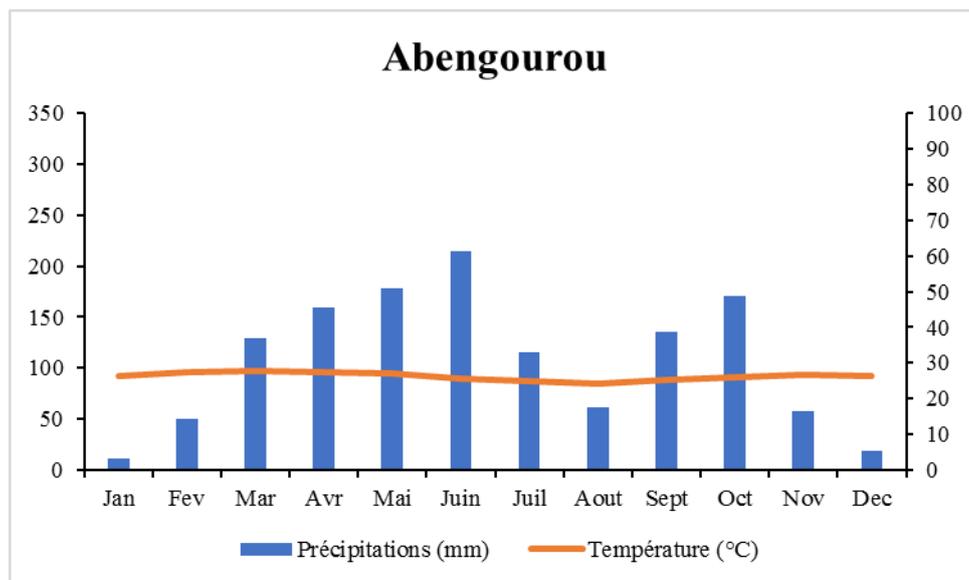


Figure 4.2: Diagramme ombrothermique du département d'Abengourou

#### 4.2.1.2. Relief et sol

Le relief est accentué par l'existence de vallées associées à des bas-fonds et des interfluves. Il est relativement plat surtout dans la partie Nord, avec quelques affleurements granitiques à Aniassué et Yakassé-Feyassé. Les altitudes varient entre 130 et 300 m (Kouadio *et al.*, 2011). Au plan géologique, les roches à faciès birrimien occupent une grande place dans laquelle les

massifs de granite sont peu importants. La région est dominée par les sols ferrallitiques avec un profil humifère bien évolué, malheureusement très mince de deux à trois centimètres, témoin d'une activité microbologique très intense dans le sol.

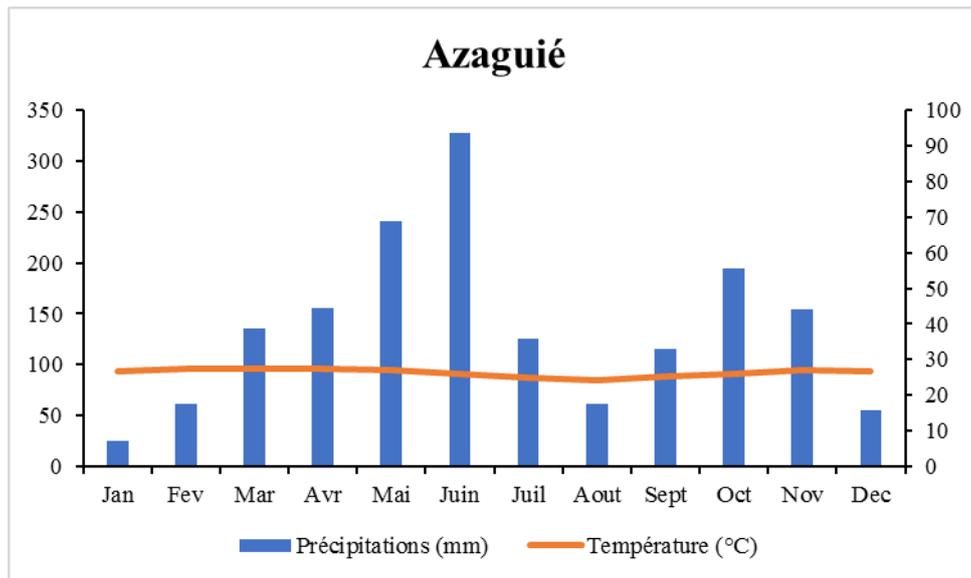
#### **4.2.1.3. Végétation**

La végétation dominante est la forêt dense mésophile dans la partie sud avec des éclaircies dans la partie nord. Les bordures du fleuve Comoé et des rivières sont occupées par des forêts galeries et parfois marécageuses. La forêt du département comprend de nombreuses jachères et des vastes plantations de cultures pérennes (cacao, café, hévéa...) résultant d'une intense activité agricole. La forêt dense mésophile, aujourd'hui fortement dégradée évolue vers la savanisation du fait de la pratique de l'agriculture extensive.

### **4.2.2. Zone d'Azaguié**

#### **4.2.2.1. Climat**

Le climat de la zone d'Azaguié est pratiquement similaire à celui de la plus grande partie de la Côte d'Ivoire c'est-à-dire de type subtropical chaud et humide. Les températures moyennes annuelles oscillent entre 25 et 30 °C. Concernant l'insolation, les moyennes varient entre 1400 à 1800 heures d'insolation par an. Ces valeurs relativement peu élevées résultent d'une mauvaise transparence atmosphérique liée à la présence de vapeur d'eau, de nuage et de poussière. La pluviométrie est marquée par une irrégularité des pluies dans la région. La plus grande partie des précipitations est enregistrée lors de la grande saison des pluies et la moyenne annuelle est de l'ordre de 1546,5 mm d'eau par an (Mollard, 1993). (Figure 4.3)



**Figure 4.3:** Diagramme ombrothermique du département d'Azaguié

#### 4.2.2.2. Végétation, relief et sol

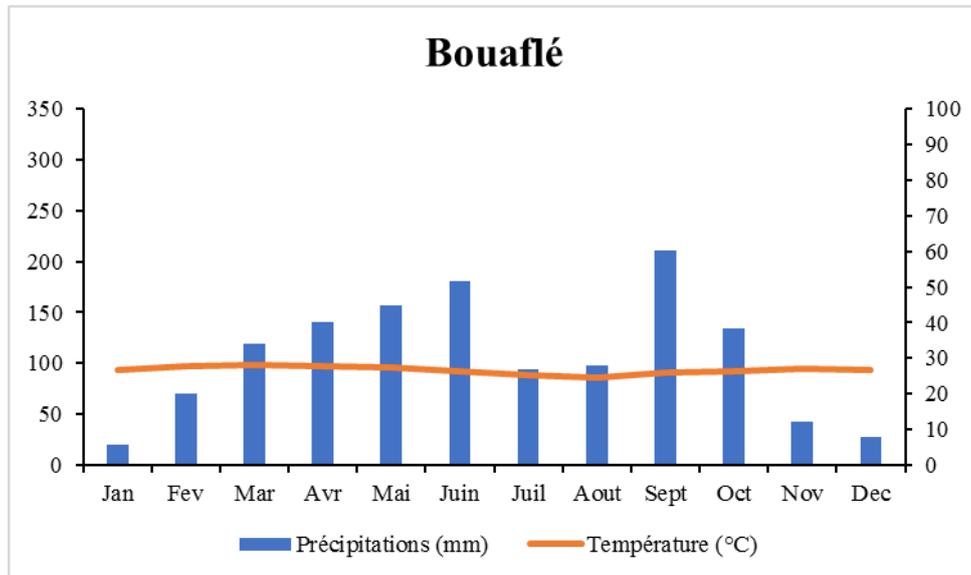
Azaguié est caractérisé par une végétation fort variée et extrêmement dense avec de vastes plantations de bananes desserts, de bananes plantains, par endroit des plantations d'ananas, de café, de cacao, de palmier à huile et d'hévéa. Il convient de signaler la présence de la forêt classée de Yapo-Abbé située entre les sous-préfectures d'Agboville et d'Azaguié. Elle couvre une superficie d'environ 28 800 ha. La circonscription administrative d'Azaguié présente un relief assez irrégulier avec des coteaux et des vallons. Les plaines et les plateaux sont rares, mais, la localité regorge un grand nombre de bas-fonds. Le sol d'Azaguié appartient à la catégorie des sols ferralitiques. Il est caractérisé par sa grande profondeur, sa couleur rougeâtre, sa perméabilité satisfaisante et la présence de gravillons. La roche mère est un schiste birrimien, de type arkosique ou parfois un schiste argileux bariolé riche en silice (Perraud, 1971). La teneur moyenne en matière organique est de l'ordre de 1,7 à 2,5 %. Le pH est acide (4,1 à 6,2).

#### 4.2.3. Zone de Bouaflé

##### 4.2.3.1. Climat et température

La zone de Bouaflé est sous la dominance du climat tropical de type Baouléen. Il est caractérisé par une température moyenne de 30 °C avec une amplitude annuelle de 5°C. La période la plus chaude se situe entre les mois de février et d'avril. L'humidité relative de l'air

est comprise entre 60 et 85 % durant toute l'année et la durée totale de l'insolation est de 2064 heures/an. Chaque année, les précipitations sont en moyenne de 1296 mm. (Figure 4.4)



**Figure 4.4:** Diagramme ombrothermique du département de Bouaflé

#### 4.2.3.2. Relief et sol

Le relief constitué de plateaux et de plaines est très peu accidenté. Cependant, on y trouve quelques collines et montagnes dont la chaîne Yohouré (Mont Lotenzia) qui s'étend à l'est de Bouaflé, bordant le lac Kossou et la chaîne Baoulé du côté de Dimbokro. La région de Bouaflé fait partie du secteur mésophile caractérisé par deux ensembles géo- morphiques : les roches métamorphiques schisteuses et les roches basiques du complexe volcano-sédimentaire. Les roches granitiques sont présentes à plusieurs endroits. Les sols issus de ces roches sont pour la plupart, des sols ferralitiques moyennement dénaturés. Ils se caractérisent par un horizon humifère peu épais qui offre généralement de bonnes aptitudes pour l'agriculture.

#### 4.2.3.3. Végétation

La végétation est celle d'une zone de contact entre la forêt et la savane comportant des zones forestières avec forêt claire et forêt galerie le long des cours d'eau et des zones de savanes arborées ou arbustives. La végétation primaire essentiellement caractérisée de forêt claire a plus ou moins disparue. Les paysages végétaux de type actuels sont les résultats d'une course à la déforestation dans une agriculture extensive et itinérante, sans entretien des sols. Cela s'est effectué soit pour rechercher les terres riches pour certaines cultures (riz, igname), soit pour éviter des problèmes d'enherbement. Aussi, la déforestation est le fruit d'une nécessité

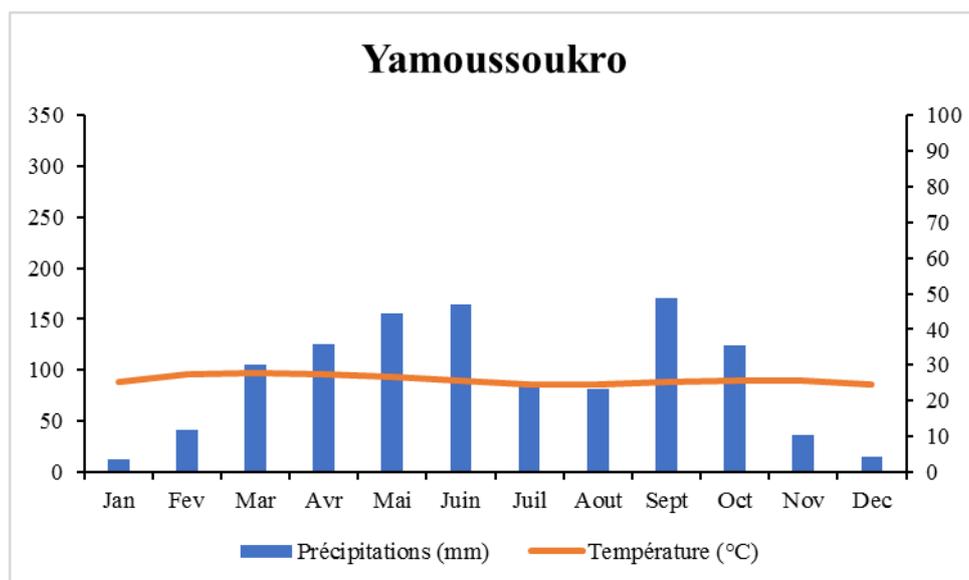
d'alimentation des scieries de bois. Du fait des actions anthropiques, la structure originelle de la végétation a été fortement dégradée laissant ainsi place à de grandes étendues de jachères et de plantations de cultures pérennes.

#### 4.2.4. Zone de Yamoussoukro

La zone soudano-guinéenne qui représente 19 % du pays est une zone de transition entre la zone forestière du Sud et la zone de savane du Nord. Cette zone est la partie la plus difficile à cultiver en raison de la sécheresse et des inondations (FAO, 2005).

##### 4.2.4.1. Climat

Les précipitations varient entre 900 à 1200 mm par an avec une répartition spatiale très variable dans l'année et d'une année à l'autre. La température moyenne de la zone est d'environ 26° C. L'humidité relative varie entre 75 et 85 % avec des chutes à 40 % en période d'harmattan et entre 80 et 85 % en période pluvieuse. (Figure 4.5)



**Figure 4.5:** Diagramme ombrothermique du département de Yamoussoukro

##### 4.2.4.2. Sols, relief et Hydrographie

Les sols du district de Yamoussoukro appartiennent aux grandes classes des sols ferrallitiques et des sols brunifiés au niveau des plateaux et aux classes des sols peu évolués des sols hydromorphes dans les plaines et les bas-fonds. Le district de Yamoussoukro est parcouru par un réseau hydrographique dense et ramifié avec le fleuve Bandama, les rivières N'Zi et Kan ainsi que leurs affluents. Sur le fleuve, il a été construit le barrage hydroélectrique de Kossou.

Sur chacune des deux rivières et leurs affluents de nombreux barrages hydro-agricoles y ont été également construits.

#### **4.2.4.3. Végétation**

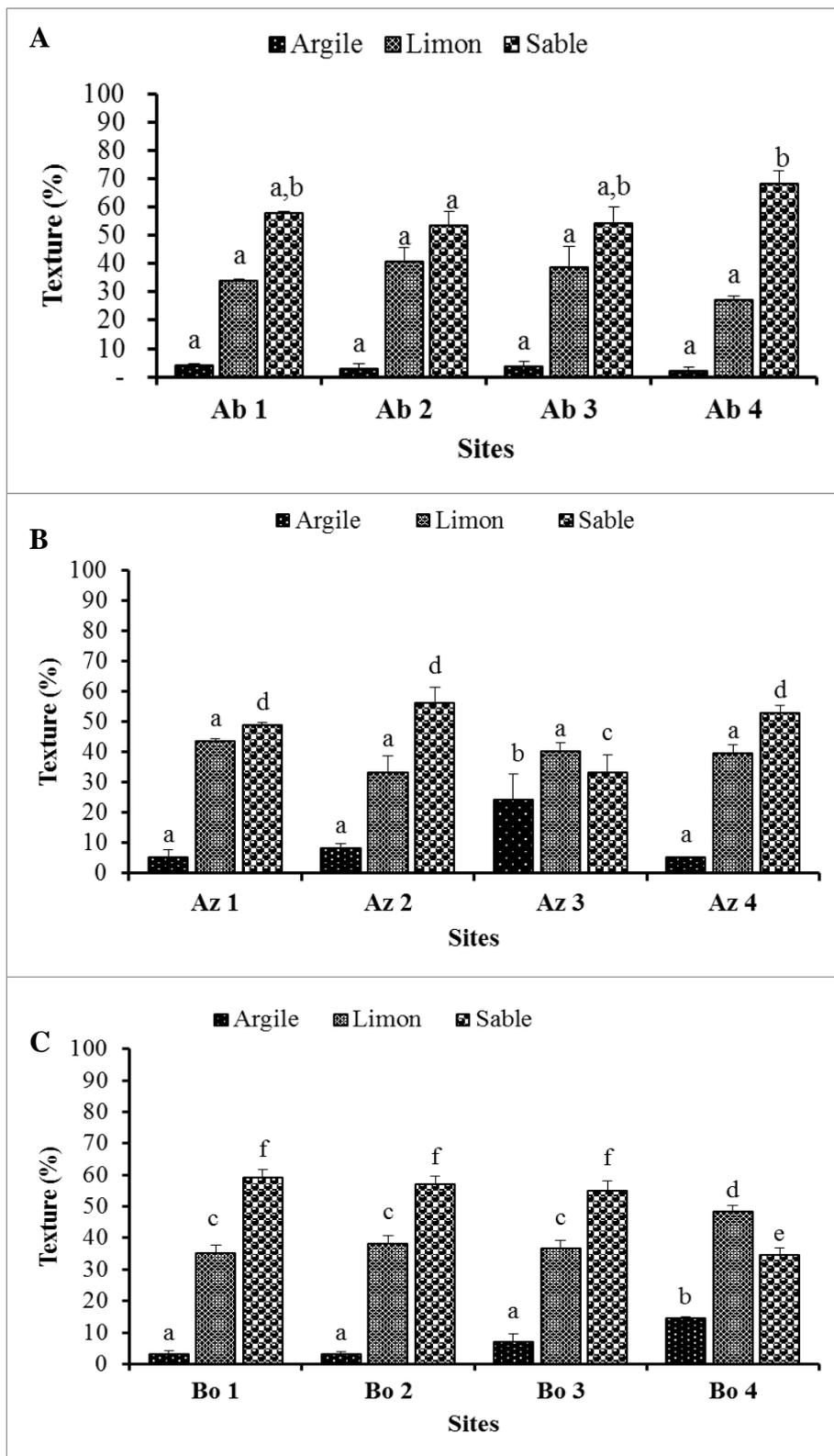
La flore de Yamoussoukro est dominée par la savane préforestière parsemée plus ou moins densément de petits arbres et entrecoupées de bosquets et îlots forestiers. Des galeries forestières occupent les bas-fonds le long des marigots. Sur les sols sableux drainés, apparaissent des peuplements de rôniers.

### **4.3. Caractéristiques physico-chimiques des sols échantillonnés**

Les analyses physico-chimiques des sols échantillonnés dans les différentes zones d'études ont porté sur la détermination de la composition de la matière organique, des quantités de phosphores, de l'acidité, de la capacité d'échange cationique (CEC) et des bases échangeables. Toutes ces analyses ont été effectuées au laboratoire de pédologie de l'INP-HB.

#### **4.3.1. Granulométrie**

Les sols échantillonnés ont essentiellement une texture limono-sableuse quelle que soit la zone d'étude avec des proportions en argile variant de 3,16 à 10,76 %, en limon de 35,23 à 39,58 % et en sable de 47,75 à 58,52 % (Figure 4.6).



**Figure 4.6:** Composition granulométrique des sols des différentes sites d'études

A : Abengourou ; B : Azaguié et C : Bouaflé (Fotso *et al.*, 2016)

(Les histogrammes portant les mêmes lettres ne sont pas différents significativement selon le test PPDS de Fischer au seuil 5 %)

## **4.3.2. Caractéristiques chimiques**

### **4.3.2.1. Abengourou**

Les sols prélevés dans la zone d'Abengourou ont un pH variable. Les sols des sites Abengourou 1 et 2 sont acides, ceux du site Abengourou 3 basiques et ceux du site Abengourou 3 neutres. Les sols des échantillons Ab 1/3, Ab 3/1 et Ab 4/3 ont un niveau de minéralisation faible ; Tandis que cette minéralisation est bonne dans les sols des échantillons Ab 1/2, Ab 2/2 et Ab 2/3, et élevée pour les échantillons Ab 1/1, Ab 2/1, Ab 3/2, Ab 3/3, Ab 4/1 et Ab 4/2. Les sols des échantillons d'Abengourou sont pauvres à très pauvres en phosphore assimilable à l'exception des échantillons Ab 3/2 et Ab 3/3 où la concentration est moyenne. La CEC est élevée dans l'ensemble des sols d'Abengourou à l'exception des sols des échantillons Ab 1/1, Ab 1/2, Ab 4/1 (CEC faible), Ab 1/3 et Ab 2/1 (CEC moyenne) (Tableau 4.2).

### **4.3.2.2. Azaguié**

Les sols provenant d'Azaguié sont essentiellement acides, avec la présence de sols neutres (Az 1/2) et très acides (Az 3/1). Les sols des échantillons Az 2/2 et Az 3/2 ont un niveau de minéralisation faible ; alors que ce niveau est bon pour les échantillons Az 2/1, Az 3/1, Az 3/3, Az 4/2 et Az 4/3 et élevé pour les échantillons Az 1/1, Az 1/2, Az 1/3, Az 2/3 et Az 4/1. Les sols des sites Azaguié 1 et 2 sont très pauvres en phosphore assimilable, pendant que ceux du site Azaguié 4 sont pauvres en cet élément ; et les sols du site Azaguié 2 ont une concentration moyenne en phosphore assimilable. La CEC est moyenne dans l'ensemble des sols d'Azaguié, mais faible au niveau des sols des échantillons Az 1/1, Az 3/1, Az 4/1 et Az 4/3.

### **4.3.2.3. Bouaflé**

Les échantillons de sols prélevés de la zone de Bouaflé ont un pH neutre pour la plupart à l'exception des sols Bo 2/2, Bo 2/3 (pH acide) et Bo 1/3 (pH basique). Le niveau de minéralisation est globalement élevé dans les sols de Bouaflé ; on note cependant que ce niveau est normal pour les échantillons Bo 1/3 et Bo 2/3 et faible pour les échantillons Bo 1/2 et Bo 2/2. Les sols de la zone de Bouaflé sont pauvres à très pauvres en phosphore assimilable ; seul l'échantillon Bo 4/3 a une concentration moyenne en cet élément. La CEC

est faible pour les échantillons Bo 1/2, Bo 2/2 et Bo 2/3 ; moyenne pour les échantillons Bo 1/1, Bo 1/3, Bo 2/1, Bo3/1 et Bo 3/2 ; et très élevée pour les échantillons Bo 4/1 et Bo 4/2.

**Tableau 4.2:** Caractéristiques physico-chimiques des sols des zones d'étude

Zones	Sites	Echantillons	pH <sub>eau</sub>	C/N	Phosphore assimilable (ppm)	CEC (Cmol.kg <sup>-1</sup> )
<b>ABENGOUROU</b>	<b>1</b>	Ab 1/1	6,30	7,66	10,71	6,96
		Ab 1/2	6,13	11,54	12,50	9,36
		Ab 1/3	6,29	13,21	15,00	12,00
	<b>2</b>	Ab 2/1	6,00	7,04	14,29	13,36
		Ab 2/2	5,60	8,44	17,86	16,60
		Ab 2/3	5,80	9,84	39,29	16,64
	<b>3</b>	Ab 3/1	7,77	14,29	32,00	19,00
		Ab 3/2	6,80	5,70	96,43	19,60
		Ab 3/3	7,90	6,18	53,57	20,00
	<b>4</b>	Ab 4/1	7,30	6,58	25,00	5,20
		Ab 4/2	7,40	7,06	17,86	9,12
		Ab 4/3	7,01	12,89	45,00	19,40
<b>AZAGUIE</b>	<b>1</b>	Az 1/1	5,88	13,50	20,00	6,00
		Az ½	6,85	13,64	25,00	8,00
		Az 1/3	5,91	7,25	17,86	12,08
	<b>2</b>	Az 2/1	5,80	13,57	60,00	7,52
		Az 2/2	6,46	10,00	67,86	11,60
		Az 2/3	5,85	12,25	53,57	11,20
	<b>3</b>	Az 3/1	4,99	9,87	25,00	8,48
		Az 3/2	5,48	14,22	25,00	10,64
		Az 3/3	5,13	9,05	25,00	10,96
	<b>4</b>	Az 4/1	6,54	12,59	35,00	7,44
		Az 4/2	6,30	9,25	39,29	12,24
		Az 4/3	6,12	9,08	30,00	5,52
<b>BOUAFLE</b>	<b>1</b>	Bo 1/1	6,50	5,92	10,71	11,28
		Bo 1/2	6,69	14,08	35,00	8,48
		Bo 1/3	8,20	11,86	45,00	10,00
	<b>2</b>	Bo 2/1	6,60	7,66	14,29	10,40
		Bo 2/2	6,49	12,74	35,00	8,00
		Bo 2/3	6,30	11,19	30,00	5,60
	<b>3</b>	Bo 3/1	7,20	8,71	17,86	10,88
		Bo 3/2	6,54	7,40	17,86	10,96
		Bo 3/3	6,58	7,48	10,71	22,60
	<b>4</b>	Bo 4/1	6,59	7,39	17,86	20,00
		Bo 4/2	6,59	7,98	14,29	25,00
		Bo 4/3	6,84	8,20	53,57	6,64

# CHAPITRE 5. Étude écologique et sélection des souches locales de CMA d'intérêt

## 5.1. Caractérisation des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules

### 5.1.1. Dispositif d'échantillonnage

L'échantillonnage a été effectué dans 12 plantations de bananier plantain (0,5 à 2 ha) réparties dans trois zones de culture (Abengourou, Bouaflé et Azaguié). Dans chaque champ, des prélèvements de terre ont été faits au pied des bananiers (Figure 5.1) en trois points distants de 20 m sur un parcours en zigzag selon la méthode de Huang & Cares (2004). Ils sont effectués au pied des bananiers au niveau de la couche arable (0-20 cm) à l'aide d'une tarière. Une fois au laboratoire, les échantillons de sol ont été séchés à l'air libre dans une salle pendant quatre jours.

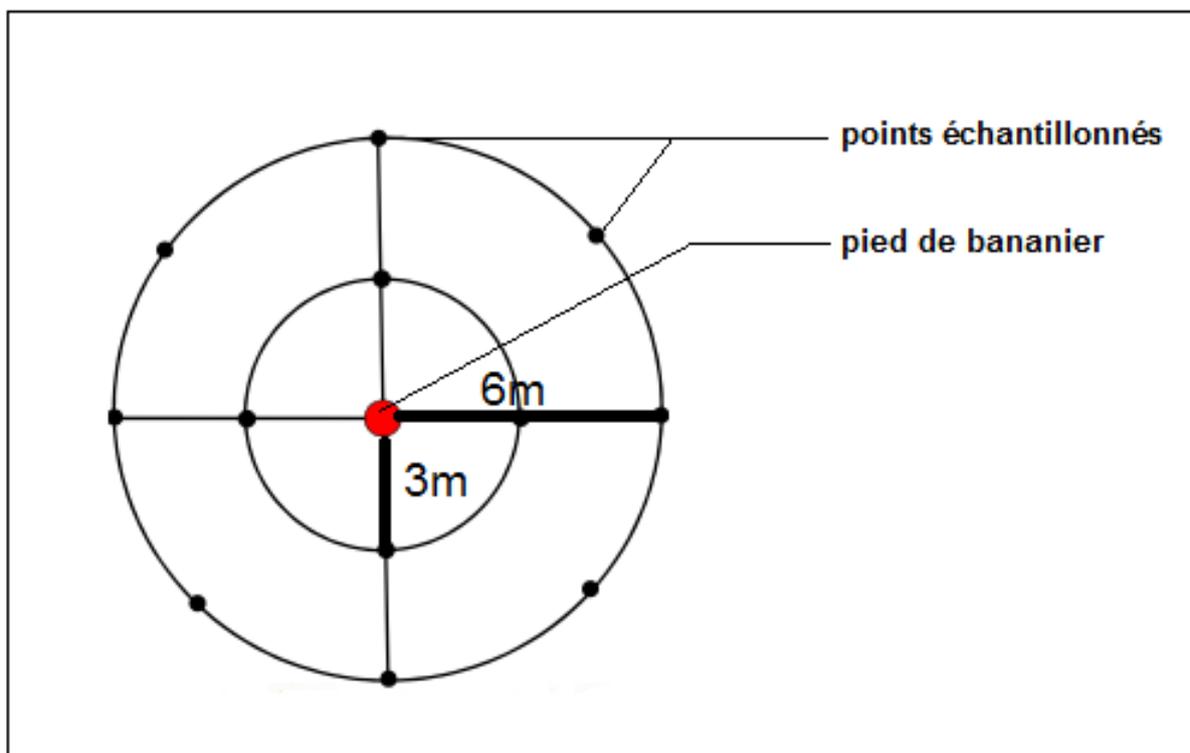


Figure 5.1. Schéma de prélèvement des échantillons élémentaires de sol

## 5.1.2. Caractérisation moléculaire des isolats de CMA

### 5.1.2.1. Extraction de l'ADN

L'ADN total de chaque échantillon de sol est extrait grâce au kit d'extraction FastPrep à partir d'un gramme de sol sec. Une précipitation à l'isopropanol et un lavage à l'éthanol permettent de récupérer un ADN dit « sale » c'est-à-dire contenant encore des éléments polluants (protéines, sucres, macromolécules phénoliques, acides humiques...). L'ADN est ensuite purifié sur une colonne Microspin de PVPP puis grâce au kit GeneClean® Turbo.

### 5.1.2.2. Amplification de la région LSU

L'amplification de région LSU de l'ADN ribosomique des champignons endomycorhiziens a été réalisée grâce à la technique de « Nested PCR ». Cette méthode consiste à réaliser deux PCR successives ; dans un premier temps à l'aide d'amorces universelles, puis à l'aide d'amorces spécifiques aux champignons mycorhiziens à arbuscules.

- Le couple d'amorces eukaryotes universelles utilisé est : LR1 [5'-GCA TAT CAA TAA GCG GAGGA-3'] et NDL22 [5'-TGG TCC GTG TTT CAA GAC G-3']. Ce couple d'amorces cible les domaines D1 et D2 de la grande sous-unité ribosomale (Van Tuinen *et al.*, 1998).
- La deuxième PCR quant à elle a été réalisée grâce aux amorces spécifiques aux glomérromycètes : FLR3 (5'-TTG AAA GGG AAA CGA TTG AAG T-3') et FLR4 (5'-TAC GTC AAC ATC CTTAAC GAA-3') (Golotte *et al.*, 2004; Van Tuinen *et al.*, 1998) qui amplifient la région D2 de la sous-unité 28S de l'ADNr (LSU-D2).

Pour les deux PCR, le milieu réactionnel était composé pour un échantillon de 18 µl du mélange PCR, plus 2 µl d'ADN. L'ADN est dilué au 1/10 de l'extrait ADN initiale du sol pour la PCR1 et au 1/100 du produit de la PCR1 pour la PCR2. Le mélange PCR était composé de 4 µL tampon 10 × (MP Biomédical), 1µL dNTP (1 mM), 1µL LR1 (100 µM), 1µL NDL22 (100 µM), 0,2µL Taq polymérase (MP Biomédical, 15U/µl) et 11 µL d'eau ultra-pure stérile. La réaction d'amplification se fait dans un thermocycleur en utilisant le programme suivant : une dénaturation initiale pendant 5 min à 95 °C, suivie de 30 cycles de 94 °C (1 min), 58 °C (30 sec), 72 °C (45 sec), et d'une élongation finale à 72 °C pendant 5 min.

Les produits d'amplification ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose (1,2 %) dans un tampon TAE (Tris 40mM pH 7,8 ; acide acétique 20 mM, EDTA 2 mM) et la visualisation des bandes d'amplification s'est faite sous ultraviolets après coloration du gel au bromure d'éthidium. La taille des molécules à résoudre est donnée par un marqueur de taille (1Kb plus DNA Ladder-Invitrogen). La taille des fragments espérés pour la première PCR avec les amorces LR1 et NDL22 est 750bp et 350bp environ pour la deuxième paire d'amorces avec la paire d'amorces FLR3-FLR4. Pour chaque échantillon 30ng/µl de produits PCR2 dans un volume de 50 µl sont utilisés pour le séquençage.

### 5.1.2.3. Séquençage et analyse des séquences

Le séquençage a été effectué par la société GATC Biotech (Konstanz, Allemagne). Le pipeline de séquençage a été élaboré et exécuté sur un système Ubuntu 12.04. Les programmes, scripts et bases de données suivants sont consignés dans le Tableau 5.1.

**Tableau 5.1:** Ensemble de programmes, scripts et bases de données utilisés lors de l'analyse des séquences

Programmes	Scripts	Bases de données
PANDAseq (Masella <i>et al.</i> , 2012 ; <a href="https://github.com/neufeld/pandaseq/wiki/PANDAseq-Assembler">https://github.com/neufeld/pandaseq/wiki/PANDAseq-Assembler</a> )	Reads_Quality_Length_distribution.pl	GenBank ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/</a> )
fqgrep ( <a href="https://github.com/indraniel/fqgrep">https://github.com/indraniel/fqgrep</a> )	remove_multiprimer.py	MAAJARM ( <a href="http://maarjam.botany.ut.ee/">http://maarjam.botany.ut.ee/</a> )
Fastx Toolkit ( <a href="http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/">http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/</a> )	demultiplex.sh	
FungalITSextractor (Nilsson <i>et al.</i> , 2010), <a href="http://emerencia.org/FungalITSextractor.html">http://emerencia.org/FungalITSextractor.html</a> )	rename.pl	
MEGAN v4 (Huson <i>et al.</i> , 2011, <a href="http://ab.inf.uni-tuebingen.de/software/megan/">http://ab.inf.uni-tuebingen.de/software/megan/</a> )	fasta_number.py (USEARCH v7, <a href="http://drive5.com/python/">http://drive5.com/python/</a> )	
USEARCH v7.0.1001 (Edgar, 2010; <a href="http://drive5.com/uparse/">http://drive5.com/uparse/</a> )	uc2otutab.py (USEARCH v7, <a href="http://drive5.com/python/">http://drive5.com/python/</a> )	
BLAST v2.2.27+ (Altschul <i>et al.</i> , 1997).		

Le traitement des données de barre-codage des champignons étant sujet à des complications et des erreurs, il est important de considérer les caractéristiques du fragment de code-barres, de l'instrument de séquençage (par exemple, le type et la fréquence d'erreur) et les problèmes particuliers qui proviennent des PCR et du multiplexage d'échantillons. Notre pipeline se compose de procédures visant à (1) assurer la qualité des séquences ; (2) assembler des séquences d'extrémité jumelées ; (3) assurer un démultiplexage fiable ; (4) séparer des fragments informatiques de codes-barres des fragments à faible variabilité ; Et (5) l'identification d'OTU fongiques. La qualité des séquences est assurée par l'élimination de séquences de mauvaise qualité, de chimères plausibles et de groupage à des seuils supérieurs à la fréquence d'erreur de séquençage attendue. Les séquences ont été regroupées en OTU en utilisant la similarité de séquence (regroupement) avant les analyses écologiques. Les séquences chimériques ont été éliminées avant de procéder à des analyses écologiques.

### **5.1.3. Indices de diversité**

#### **5.1.3.1. Richesse spécifique**

La richesse spécifique désigne le nombre d'espèces présents dans un échantillon. Pour un champ donné, deux paramètres de richesse ont été calculés. Il s'agit de la richesse moyenne et de la richesse totale.

#### **5.1.3.2. Indices de diversité de Shannon et Simpson**

Les indices de Shannon et de Simpson permettent de calculer le niveau de diversité d'espèces dans un milieu donné. L'indice de diversité prend en compte à la fois la richesse et l'équitabilité ou régularité. Ce dernier mesure la façon dont le nombre total de spores des CMA est réparti sur l'ensemble des espèces identifiées. L'indice de diversité calculé est l'indice de Shannon ( $H$ ). Cet indice accorde plus de poids aux taxons ou espèces rares (Pielou, 1977).

$$H = -\sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$$

Où  $H$  : indice de biodiversité ;  $i$  : une espèce ;  $p_i = n_i / N$  où  $n_i$  est le nombre d'individus de l'espèce et  $N$  est le nombre total d'individus, toutes espèces confondues. L'indice de Shannon doit être associé à l'indice de Simpson. L'indice de Simpson est une formule permettant de

calculer la probabilité que deux individus sélectionnés aléatoirement dans un milieu donné soient de la même espèce.

$D = \sum \frac{N_i(N_i-1)}{N(N-1)}$  où D : Indice de Simpson ;  $N_i$  : nombre d'individus de l'espèce donnée ; et N : nombre total d'individus.

### **5.1.3.3. Analyse en composantes principales (ACP)**

Une analyse en composantes principales a été effectuée, grâce aux caractéristiques physico-chimiques et aux indices de richesse spécifique et de biodiversité, afin de déterminer les différentes relations possibles entre les sites d'étude.

## **5.2. Sélection et caractérisation des souches d'intérêt**

Dans les sols directement échantillonnés, toutes les spores ne sont pas toujours présentes. Il est donc nécessaire d'utiliser ces sols comme inoculum en vue de permettre une mise en évidence de tous les types de spores. Le niébé à port érigé dont le cycle dure 60 à 70 jours a été choisi à cette fin. Des graines de niébé ont été semées dans des pots en plastique (de 2 L de contenance) contenant l'inoculum provenant des échantillons et un substrat fertile dans les proportions 1 : 3. Le substrat a été préalablement stérilisé à l'étuve à 120°C pendant 2 h30 min.

Après 60 jours de piégeage, les spores ont été extraites suivant la technique de tamisage humide décrite par Gerdemann & Nicolson (1963). Dans un bécher de 2 L, l'échantillon de sol de 50 g a été submergé dans 500 mL d'eau courante.

Le mélange a été remué à l'aide d'une spatule, puis laissé au repos. Après une minute, le surnageant du bécher a été passé à travers la série de tamis. Ces opérations ont été répétées trois fois de suite. Le dépôt dans le tamis de 500 µm de maille est constitué de débris et contient rarement des spores et donc rejeté. Les contenus des trois autres tamis sont récupérés chacun avec de l'eau à l'aide d'une pissette et transféré dans des tubes à centrifuger.

Après une première centrifugation à 2000 RPM (rotations par minute) pendant cinq minutes, le surnageant est rejeté et le culot est suspendu dans une solution de saccharose à 40%. On procède à une agitation et à une seconde centrifugation pendant une minute à 2000 RPM.

Les spores ont été regroupées par morphotypes (10 à 100 spores par morphotype) sous une loupe au grossissement 40×. Elles ont été désinfectées avec une solution de streptomycine

puis avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0,1%. Les pools de spores de CMA ainsi obtenus ont été mis en culture selon la méthode de culture en entonnoir (Menge & Timmer, 1982).

A l'issue de la sélection, les souches ubiquistes dont la croissance était rapide et aisée ont été retenues.

# CHAPITRE 6. Isolement et caractérisation de champignons endophytes du bananier plantain

## 6.1. Échantillonnage et isolement des endophytes du bananier plantain

### 6.1.1. Prélèvement de tissus

L'échantillonnage a été effectué dans 4 plantations de bananier plantain (1-3ha) dans la zone d'Azaguié. Les plantations de cette zone subissant une forte pression parasitaire, l'objectif étant d'isoler des endophytes des tissus des plants sains (ne présentant pas des symptômes) présents sur les sites. Les échantillons étaient constitués de racines et de stipes de bananiers plantain. Par parcelle, 3 pieds ne présentant aucun symptôme ont été choisis au hasard. Par pied, 3 bouts de racines et 3 sections de faisceaux vasculaires du stipe ont été prélevés séparément dans des conditions stériles et acheminés au Laboratoire de Biotechnologies Végétale et Microbienne (LBVM) de l'INP-HB.

### 6.1.2. Culture et purification des souches

L'isolement des champignons des organes de bananiers a été réalisé selon la méthode de Davet & Roux (1997) sur 25 mL de milieu PDA (20 g de poudre pomme de terre, 20 g d'agar, 20 g de saccharose, 1 L d'eau distillée) solidifié en boîte de Pétri. Une culture monospore des colonies fongiques selon la méthode de Ho & Ko (1997) a été faite pendant 2 semaines (Figure 6.1). Les isolats d'endophytes ont été séparés par morphotypage (Botton *et al.*, 1990 ; Champion, 1997).



**Figure 6.1:** Isolats de champignons endophytes sur milieu culture

## 6.2 Identification de champignons endophytes

### 6.2.1. Amplification de la région ITS

Les échantillons sont constitués de racines et de stipes de bananiers plantains sains provenant de parcelles. L'isolement des champignons des organes de bananiers plantains a été réalisé selon la méthode sur milieu Armstrong pendant 2 semaines.

Les spores et mycélium de chaque souche ont été recueillis et broyés dans un mortier. L'ADN des souches a été ensuite extrait grâce au kit d'extraction PowerSoil®. L'ADN extrait est conservé à -20 °C. Le couple d'amorce ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') et ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') a été utilisé pour l'amplification de la région ITS.

Pour la PCR, le milieu réactionnel était composé pour un échantillon de 25 µl du mélange PCR, plus 2 µl d'ADN. Le mélange PCR était composé de 2,5 µL tampon 10 × (MP Biomédical), 2 µL dNTP (2.5 mM), 2,5 µL ITS1 (2 µM), 2,5µL ITS4 (2,5 µM), 0,2µL Taq polymérase (15U/µl) et 13,5 µL d'eau ultra-pure stérile. La réaction d'amplification se fait dans un thermocycleur en utilisant le programme suivant : une dénaturation initiale pendant 5 min à 95 °C, suivie de 30 cycles de 94 °C (30 sec), 58 °C (30 sec), 72 °C (1 min), et d'une élongation finale à 72 °C pendant 7 min.

Les produits d'amplification ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose (1,2 %) dans un tampon TAE (Tris 40mM pH 7,8, acide acétique 20 mM, EDTA 2 mM) et la visualisation des bandes d'amplification s'est faite sous ultraviolets après coloration du gel au bromure d'éthidium. La taille des molécules à résoudre est donnée par un marqueur de taille (1Kb plus DNA Ladder-invitrogen). La taille des fragments espérée est de 540-550 pb.

### 6.2.2. Séquençage et identification

Le séquençage a été effectué par la société GATC Biotech (Konstanz, Allemagne). Les séquences obtenues ont été recherchées des bases de données GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) par BLAST. L'analyse phylogénétique a ensuite été effectuée par la méthode de Neighbor-joining (Saitou & Nei, 1987) grâce au logiciel en utilisant MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013).

# **CHAPITRE 7. Évaluation de l'efficacité des souches locales de CMA**

## **7.1. Étude de l'effet des souches locales sur la croissance en pépinière des vivoplants de deux variétés de bananier plantain (Orishele et FHIA 21) produits par la technique du PIF**

### **7.1.1. Matériel végétal**

Le matériel végétal était constitué de vivoplants des cultivars Orishele et FHIA 21. Ces vivoplants ont été produits par la technique du PIF par le centre national de recherche agronomique (CNRA) dans le cadre du programme de productivité agricole en Afrique de l'ouest (PPAAO/WAAPP).

### **7.1.2. Inoculum mycorhizien**

Les inocula ont été formulés à base des quatre souches indigènes de CMA : *Glomus clavisporum*, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora* sp. Les spores de ces champignons ont été multipliées sur du substrat stérile en utilisant le niébé (*Vigna unguiculata*) comme plante de piégeage. L'inoculum est un mélange homogène de spores, de sol de la rhizosphère et de racelles de la plante hôte (maïs).

### **7.1.3. Substrats d'acclimatation**

Les caractéristiques physico-chimiques (Azote, phosphore assimilable, potassium, carbone, magnésium, Sodium, la CEC et le pH) des fibres de coco et du terreau utilisés comme substrats d'enracinement et d'acclimatation ont été évaluées selon les procédures standards décrites par Anderson et Ingram (1993) et Okalebo *et al.*, (2002) (Tableau 7.1).

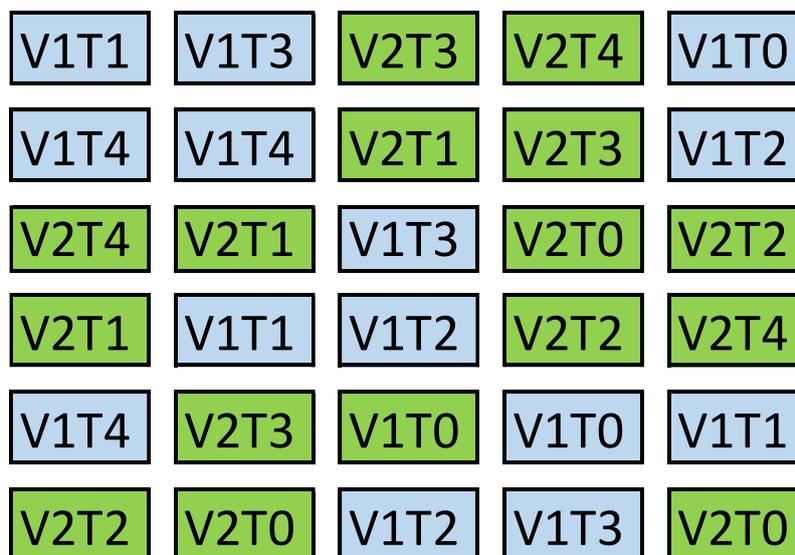
**Tableau 7.1:** Composition physico-chimique des substrats d'acclimatation

	pH <sub>Eau</sub>	C (%)	N (%)	Phosphore assimilable (ppm)	Complexe absorbant (cmol.kg <sup>-1</sup> )				
					CEC	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>
Terreau	7,1	1,63	0,15	55	11,4	4,215	0,973	0,197	0,132
Fibre de coco			0,45	0,06		1,039	0,036	1,639	

### 7.1.4. Conditionnement des vivoplants

Les vivoplants ont été sevrés pendant quatre semaines sur un substrat de fibre de coco. Ils ont été ensuite repiqués dans des sacs plastiques de 5 L contenant du terreau stérilisé à l'autoclave à 120°C sous 1 bar pendant 1h. L'inoculation des plants a eu lieu lors du transfert dans des sacs plastique de 5 L. Au moment de l'inoculation, les plantes ont une taille de 5 ± 1 cm, avec environ trois feuilles développées.

Les traitements ont été répétés trois fois. Trois plants par cultivar ont été repiqués sans être inoculés (Témoin T0). Le dispositif utilisé est un dispositif en randomisation totale (Figure 7.1).



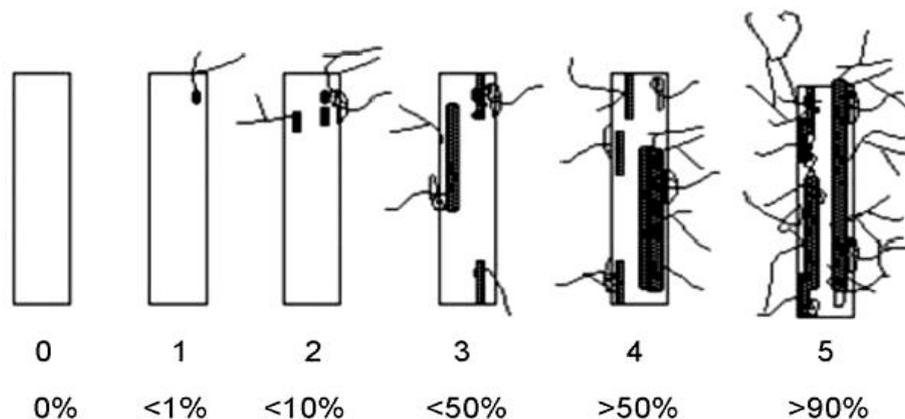
**Figure 7.1:** Dispositif expérimental en randomisation totale en serre

(V1 : Orishele , V2 : FHIA 21 ; T0: Témoin non inoculé, T1: *Glomus clavisporum*, T2: *Acaulospora colombiana*, T3: *Rhizophagus proliferum* et T4: *Acaulospora* sp)

### 7.1.5. Mesures agronomiques et physiologiques

Toutes les deux semaines, les observations ont consisté à mesurer le diamètre au collet des plants, à l'aide d'un pied à coulisse, la hauteur du pseudotrunc et la surface foliaire de l'avant-dernière feuille émise, grâce à un ruban-mètre, et le nombre de feuilles émises. La surface foliaire (S) a été calculée selon la formule :  $S = 0,8 \times L \times l$ , dans laquelle L et l sont respectivement la longueur et la largeur de l'avant-dernière feuille émise (Champion, 1963).

Huit semaines après inoculation, la « chlorophylle a » a été extraite dans de l'éthanol à 80% (Sadasivan & Manickam, 1996) et dosées grâce à un spectrophotomètre de type JENWAY 7315. Vingt morceaux de racines fines, de longueur 1 cm, ont été prélevés par échantillon et colorés au bleu trypan (Phillips & Hayman, 1970) afin de déterminer la fréquence de mycorhization (Figure 7.2).



**Figure 7.2 :** Echelle d'évaluation de la colonisation mycorhizienne des racines

La fréquence de mycorhization FM (%) est calculée selon les formules suivantes (Trouvelot, Kough, & Gianinazzi-Pearson, 1986) :

$$FM (\%) = \frac{\text{Nombre de fragments mycorhizés}}{\text{Nombre total de fragments observés}} \times 100$$

Les poids de la biomasse sèche ont été évalués après un séchage de la biomasse fraîche à 80°C pendant 72 h à l'étuve. La dépendance relative à la mycorhization (DRM) est le degré de nécessité d'une plante à porter une mycorhization pour pouvoir atteindre une croissance maximum ou fournir un rendement donné en fonction d'un certain niveau de fertilité du sol (Gerdemann, 1975). La DRM est calculée en appliquant la formule :

$$\text{DRM} = \frac{\text{Biomasse plants mycorhizés} - \text{Biomasse plants témoins}}{\text{Biomasse plants témoins}} \times 100$$

$$\frac{\text{Biomasse plants mycorhizés} - \text{Biomasse plants témoin}}{\text{Biomasse plants témoin}} \times 100$$

### 7.1.6. Analyse des données

Les données collectées sur le terrain et au laboratoire ont été traitées grâce au tableur EXCEL et au logiciel XLSTAT 18.07.38479. Les fréquences de mycorhization ont été comparées grâce au test d'ANOVA de Kruskal-Wallis. Des analyses de variance des paramètres de croissance ont été réalisées en utilisant l'analyse des modèles linéaires généralisés (GLM). Le test de significativité des différences PPDS de Fisher au seuil 5% a permis de comparer les moyennes obtenues pour apprécier les différences significatives entre celles-ci. Aussi, la classification hiérarchique ascendante a permis de sélectionner les meilleures souches.

## 7.2. Étude de l'impact de l'endomycorhization sur le comportement de vivoplants produits par le PIF en champ

L'expérience a été réalisée sur deux sites dans deux zones agro-écologiques différentes (Yamoussoukro et Bouaflé). Le précédent cultural du site de Yamoussoukro est une plantation d'igname, et celui du site de Bouaflé est une vieille jachère de 15 ans. Les caractéristiques initiales du sol des différents sites sont décrites dans le Tableau 7.2.

**Tableau 7.2** : Caractéristiques initiales du sol des sites de Yamoussoukro et de Bouaflé

	pH <sub>Eau</sub>	C (%)	N (%)	P (ppm)	CEC	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>
<b>Yamoussoukro</b>	6,43	0,76	0,08	21	21	0,748	0,481	0,078	0,034
<b>Bouaflé</b>	6,84	2,20	0,27	53,57	6,64	0,66	0,43	0,15	0,422

### 7.2.1. Matériel végétal

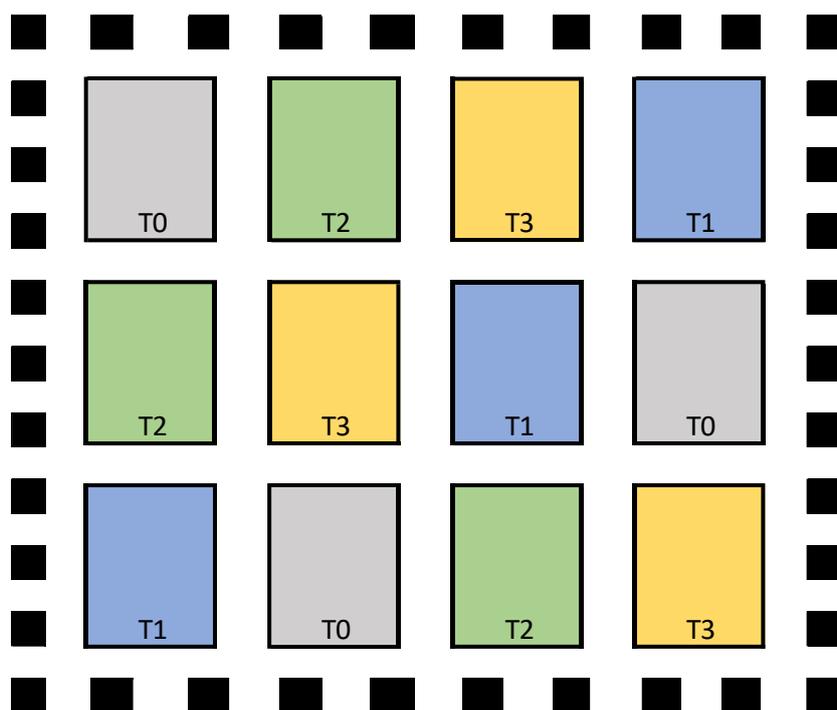
Le matériel végétal constitué de plants de plantain du cultivar FHIA 21 a été obtenu auprès du Centre National de Recherche Agronomique de Côte d'Ivoire (CNRA). Les plantules ont été produites par la technique du PIF.

### **7.2.2. Inoculation et acclimatation**

Les inoculants mycorhiziens utilisés dans la présente étude sont constitués de deux souches locales : *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum* ainsi qu'une souche commerciale de la société Premier Tech : Myke Pro ® (poudre sèche contenant des propagules de *Rhizophagus intraradices*). L'inoculation a été effectuée 4 semaines après la sortie du germe, avec 3000 propagules/plantule de l'inoculant correspondant. Trois réplicas consistant en 12 plantes par réplica ont été considérées par traitement. L'acclimatation en serre a duré trois mois.

### **7.2.3. Mise en place et suivi des essais**

Une densité de plantation moyenne de 1600 plants par hectare a été adoptée et les plantes ont été espacées de 2,5 m par 2,5 m et établies dans des fosses de plantation de 40 × 40 × 40 cm. Un dispositif en bloc complet randomisé a été adopté (Figure 7.3). Des plants de bordure ont été établis à trois mètres des parcelles élémentaires marginales, entourant ainsi tout le site. Un désherbage manuel était lorsque nécessaire en évitant l'utilisation d'outils qui pourraient endommager les racines superficielles des plants. Au niveau de chaque plant les repousses ont été éliminées afin d'avoir un système 1-2-3 (mère, fille, petite fille), de préférence avec un mouvement circulaire de plantes, de sorte que la densité de plantation d'origine soit maintenue.



**Figure 7.3 :** Schéma du dispositif expérimental

T0 : Témoin ; T1 : Myke Pro ® ; T2 : *Acaulospora colombiana* ; T3 : *Rhizophagus proliferum*

#### 7.2.4. Dosage des phénols totaux des racines

Les racines sont prélevées des parcelles élémentaires étiquetées et acheminées au laboratoire. Elles sont ensuite séchées à 80 °C à l'étuve jusqu'à obtention de poids constant. 1 g de racines est prélevé par échantillons et broyé dans un mortier en porcelaine jusqu'à obtention d'une poudre qui est récupérée dans un bécher. 10 mL d'éthanol dilué à 80 % est ajouté à chaque broyat. Le mélange est macéré pendant une heure grâce à un agitateur magnétique à température ambiante (25 °C). Après macération, le mélange est filtré trois fois sur du coton. Le filtrat est recueilli pour le dosage des phénols totaux.

Les teneurs en phénols totaux des plantes ont été déterminées par la méthode de Folin-ciocalteu (McDonald *et al.*, 2001). Un volume de 0,5 mL de chaque extrait de plante (0,1 g/mL) ou d'acide gallique (0,1 mg/mL) est mélangé à 2,5 mL du réactif de Folin-ciocalteu diluée au 1/10ème avec de l'eau distillée et 2 mL de carbonate de sodium (1 M). L'acide gallique est l'antioxydant de référence. Après 15 minutes d'incubation à la température ambiante (25 °C), l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 765 nm. La courbe étalon est obtenue dans les mêmes conditions que précédemment en utilisant une gamme de concentrations (0- 250 mg/L) de solution d'acide gallique préparée dans le méthanol. Les teneurs en phénols totaux des extraits de plantes sont déterminées graphiquement et

exprimées en termes d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

### **7.2.5. Estimation du taux de mortalité**

Le taux de mortalité (Tm %) pour chaque parcelle expérimentale a été calculé selon la formule suivante :

$$Tm (\%) = \frac{\text{Nombre de plants senescents}}{\text{Nombre total de plants}} \times 100$$

### **7.2.6. Évaluation des paramètres de croissance**

Les paramètres de croissance des plantes : la hauteur (à partir de la base), la surface de la deuxième feuille, la circonférence de la tige (à deux centimètres de la base) et le nombre de feuilles fonctionnelles ont été enregistrés toutes les deux semaines pendant la phase d'acclimatation et tous les trois mois en champ jusqu'au stade de floraison.

### **7.2.7. Évaluation du rendement**

Douze mois après la mise en place des essais en champ, la récolte a consisté à la coupe des régimes matures. Les régimes ont ensuite été pesés afin d'estimer le rendement en tonne/ha au niveau de chaque parcelle expérimentale.

### **7.2.8. Analyse des données**

Pour évaluer les effets des inoculants mycorrhiziens, les données ont été soumises à des analyses de variance (GLM) grâce au logiciel XLSTAT 18.07.38479. Les moyennes présentant des différences significatives à  $p \leq 0,05$  ont été séparées en utilisant le test HSD (*Honest Significant Difference*) de Tukey.

# CHAPITRE 8. Étude de l'effet biocontrôle des endophytes sur *Fusarium solani*

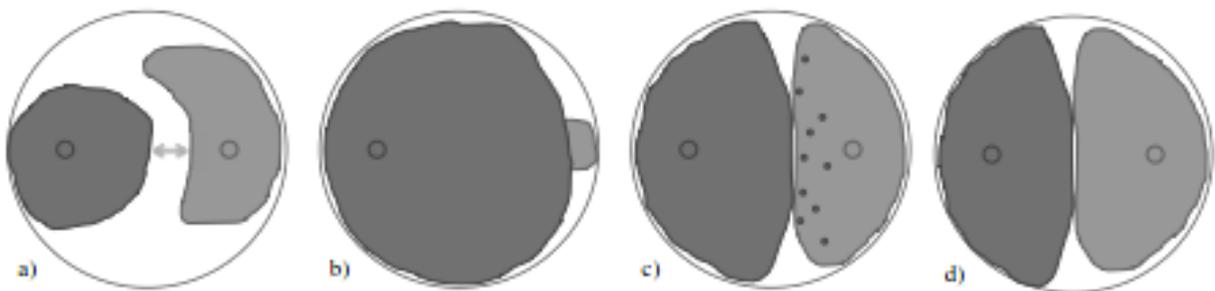
## 8.1. Confrontation directe

L'activité antagoniste est évaluée par l'inhibition de la croissance radiale selon la méthode décrite par Blumenstein (2015). Trois boîtes de Pétri, contenant chacune 25 ml de milieu de culture PDA, sont ensemencées avec un explant de *F. solani* et un explant de l'antagoniste fongique déposés à 40 mm l'un de l'autre à équidistance du centre de la boîte de Pétri. Après sept jour de culture, la colonisation du biocontrôle est évaluée par la formule suivante :

$$C = (DT \times 100) / DE$$

Où DT est la distance parcourue, sur l'axe reliant les 2 explants, par le front de la colonie de biocontrôle et DE, la distance séparant les 2 explants.

Sur la base des réponses de croissance, le type d'interaction entre l'endophyte et le pathogène a été évalué selon Mejia *et al.* (2008), en trois catégories : a) Antibiose (réaction chimique) par inhibition de la croissance ; b) Compétition de substrat par une croissance plus élevée d'un champignon par rapport à l'autre et c) Mycoparasitisme, lorsque le mycélium d'un antagoniste croît sur l'autre (Blumenstein, 2015). Une quatrième catégorie (d) a été ajoutée indiquant qu'aucune interaction évidente ne s'est produite, appelée neutre. (Figure 8.1)



**Figure 8.1:** Exemples de confrontation directe entre un endophyte et un antagoniste fongique

a) Effet d'antibiose ; b) Croissance plus rapide d'un antagoniste ; c) Effet de mycoparasitisme ; d) Effet neutre

## 8.2. Effet d'antibiose

Après culture de l'antagoniste fongique (*Talaromyces assiutensis*, *Neosartorya laciniosa*) pendant une semaine sur milieu liquide PG (poudre de pomme de terre 20 g/L et glucose 20 g/L), 250 mL d'éthanol a été ajoutés à chaque flacon Erlenmeyer contenant 300 mL de milieu de culture puis le mélange est laissé pendant une nuit pour arrêter la croissance cellulaire.

Les milieux de culture et les mycéliums ont ensuite été broyés dans un mixeur pendant 10 minutes, pour permettre la destruction cellulaire, et filtrés grâce à du papier Wattman.

Le mycélium a été éliminé et le filtrat de culture transféré dans un entonnoir de séparation. Les phases éthanoïque et aqueuse ont été séparées et la phase aqueuse a subi deux extractions de plus avec 300 mL d'éthanol chacune. Tous les extraits obtenus sont séchés sous pression réduite à 40°C (Indira *et al.*, 2015).

Après évaporation du solvant, l'extrait sec est incorporé à un milieu Czapeck (NaNO<sub>3</sub>, 2 g ; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 g ; KCl, 0,5 g ; Mg SO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O, 0,5 g ; Fe SO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0,01 g ; Saccharose 20 g pour un litre d'eau distillée, pH 7,9) suivant les concentrations suivantes : 0,5 ; 1 ; 5 ; 10 ; 25 et 50 g/L. Le témoin est constitué par le milieu Czapek sans extrait (Essalmani & Lahlou, 2002). Dans chaque cas, trois erlenmeyers sont utilisés et chacun est inoculé avec un explant de *Fusarium solani*.

Après sept jour d'incubation à 25 °C, le mycélium est recueilli séché à l'étuve à 80 °C pendant trois heures. L'inhibition de la croissance pondérale (Ip (%)) estimée représente la quantité du mycélium inhibée en présence d'extrait par rapport à celle recueillie en absence d'extrait :

$$I_p (\%) = \frac{PT - PB}{PT}$$

Où PT : poids du mycélium en l'absence d'extrait de biocontrôle ; et PB : poids du mycélium en présence d'extrait de biocontrôle.

La courbe d'inhibition a été tracée à partir des différentes valeurs de l'inhibition de la croissance pondérale (Ip (%)) de chaque concentration d'extrait de culture d'endophytes.

Les concentrations d'inhibition CI<sub>50</sub> et CI<sub>90</sub> de respectivement 50 % et 90 % de la croissance mycélienne du pathogène ont été obtenues par projection sur la courbe d'inhibition.

## **TROISIÈME PARTIE: RÉSULTATS**

## CHAPITRE 9. Écologie moléculaire des CMA associés au bananier plantain en Côte d’Ivoire et sélection de souches d’intérêt

### 9.1. Structuration des communautés des CMA associés au bananier plantain dans les zones d’étude

L’étude de la diversité écologique des champignons mycorhiziens à arbuscules dans les trois zones d’études a révélé la présence de 359.945 séquences dans l’ensemble des échantillons collectés. L’analyse phylogénétique des séquences a permis de mettre en évidence 1115 unités taxonomiques opérationnelles (OTU) représentant 27 espèces de champignons endomycorhiziens regroupées en 13 genres appartenant sept familles du phylum des Glomeromycota (Tableau 9.1). Cinq espèces appartiennent au genre *Acaulospora* de la famille des Acaulosporaceae. La famille des Glomeraceae présente la plus grande diversité spécifique avec quatre espèces du genre *Rhizophagus*, trois espèces du genre *Glomus*, et deux espèces des genres *Funneliformis* et *Septoglomus*. La famille des Gigasporaceae est représentée par deux espèces du genre *Racocetra* et une espèce des genres *Cetraspora*, *Dentiscutata* et *Intraornatospora*. Une espèce des genres *Ambispora* et *Diversispora* appartient respectivement aux familles Ambisporaceae et Diversisporaceae. Les familles Claroideoglomeraceae et Paraglomeraceae sont représentées respectivement par deux espèces du genre *Claroideoglomus* et deux espèces du genre *Paraglomus*.

La Figure 9.1 montre l’arbre phylogénétique présentant l’ensemble des OTU majoritaires (plus de 70 % des séquences). L’espèce *Acaulospora colombiana* est la plus abondante en termes de séquences obtenues. En effet, elle représente 18,91 % des séquences totales. Elle est suivie par les espèces *Rhizophagus sp.* (16,02 %), *Acaulospora spinosa* (8,51 %), *Rhizophagus irregulare* (8,33 %), *Glomus sp* (8,21 %), *Acaulospora sp* (7,35 %), *Acaulospora cavernata* (6,43 %), *Dentiscutata sp* (6,12 %), *Ambispora appendicula* (6,10 %), *Acaulospora longula* (4,92 %), *Paraglomus sp* (2,78 %), *Rhizophagus intraradices* (1,79 %) et *Septoglomus sp* (1,63 %). Les séquences obtenues qui n’ont pas pu être identifiées au niveau de l’espèce représentent 1,86% du nombre total de séquences. L’analyse phylogénétique des OTU représentant les espèces dominantes a permis d’obtenir un arbre phylogénétique (Figure 9.2).

**Tableau 9.1:** Abondance relative des espèces en fonction des séquences des échantillons collectés

<b>Familles (7)</b>	<b>Espèces (27)</b>	<b>Nombre d'OTU</b>	<b>Nombre de séquences</b>	<b>Fréquence (%)</b>
<b>Acaulosporaceae</b>	<i>Acaulospora cavernata</i>	3	23149	6,4313
	<i>Acaulospora colombiana</i>	101	68082	18,9146
	<i>Acaulospora longula</i>	2	17722	4,9235
	<i>Acaulospora</i> sp	6	26450	7,3483
	<i>Acaulospora spinosa</i>	38	30654	8,5163
<b>Ambisporaceae</b>	<i>Ambispora appendicula</i>	2	21958	6,1004
<b>Glomeraceae</b>	<i>Rhizophagus</i> sp	460	57698	16,0297
	<i>Rhizophagus irregulare</i>	131	30006	8,3363
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	98	6438	1,7886
	<i>Rhizophagus arbabicus</i>	92	1378	0,3828
	<i>Funneliformis mosseae</i>	1	128	0,0356
	<i>Funneliformis</i> sp	2	4	0,0011
	<i>Glomus deserticola</i>	1	1	0,0003
	<i>Glomus marcrocarpum</i>	1	2	0,0006
	<i>Glomus</i> sp	117	29551	8,2099
	<i>Septoglomus jasnowskiae</i>	3	14	0,0039
<i>Septoglomus</i> sp	12	5862	1,6286	
<b>Paraglomeraceae</b>	<i>Paraglomus</i> sp	15	10013	2,7818
	<i>Paraglomus brasilianum</i>	1	5	0,0014
<b>Claroideoglomeraceae</b>	<i>Claroideoglomus luteum</i>	1	17	0,0047
	<i>Claroideoglomus</i> sp	13	22	0,0061
<b>Gigasporaceae</b>	<i>Cetraspora</i> sp	1	2	0,0006
	<i>Dentiscutata</i> sp	1	22024	6,1187
	<i>Racocetra castanea</i>	1	359	0,0997
	<i>Racocetra fulgida</i>	2	1719	0,4776
	<i>Intraornatospora</i> sp	1	7	0,0019
<b>Diversisporaceae</b>	<i>Diversispora aurantium</i>	1	2	0,0006
	Autres	8	6678	1,8553
	Total	1115	359945	100



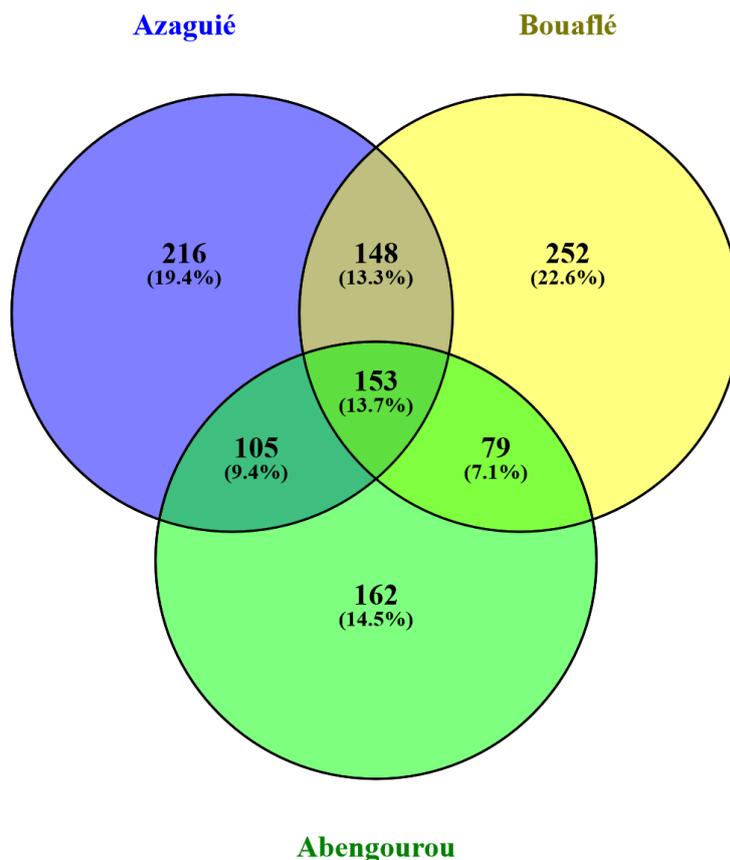
### 9.1.1. Mise en évidence de souches d'intérêt

L'étude de la diversité par zone d'étude montre que la zone de Bouaflé présente une plus grande abondance de séquences (175718). Cette zone a la plus grande diversité aussi bien au niveau du nombre d'OTU. (632) que du nombre d'espèces (24). La zone d'Abengourou quant à elle présente la plus faible abondance en séquences de CMA (62191) et ne compte que 19 espèces sur les 27 identifiées. (Tableau 9.2)

**Tableau 9.2: Diversité des champignons mycorhiziens par zone d'étude**

Zones d'étude	Abengourou	Azaguié	Bouaflé	Total
<b>Nombre de séquences</b>	62191	122036	175718	<b>359945</b>
<b>Nombre d'OTU</b>	499	622	632	<b>1115</b>
<b>Nombre d'espèces</b>	19	20	24	<b>27</b>
<b>Nombre de genres</b>	10	10	11	<b>13</b>

Les trois zones d'étude ont en commun 153 OTU soit 13,7 % du nombre total d'OTU. En outre, 148 OTU soit 13,3 % ne sont observées que dans les zones d'Azaguié et de Bouaflé ; quand 105 soit 9,4 % ne sont présentes que dans les zones d'Azaguié et d'Abengourou, et 79 soit 7,1 % dans les zones d'Abengourou et de Bouaflé. Toutefois, 252 OTU soit 22,6 % du nombre total n'ont été mises en évidence qu'à Bouaflé, 216 soit 19,4 % à Azaguié et 162 soit 14,5 % à Abengourou. (Figure 9.3 ;Tableau 9.3)



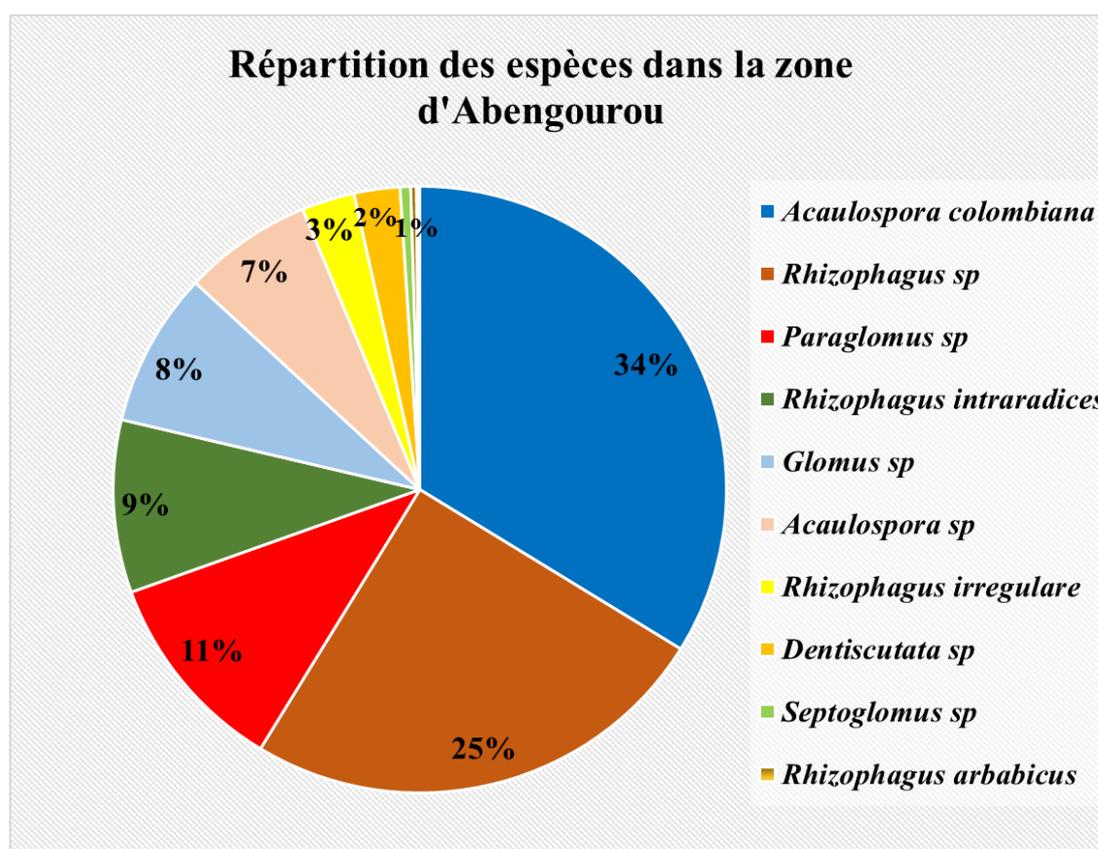
**Figure 9.3:** Répartition des Unités Taxonomiques Opérationnelles par zone d'étude

**Tableau 9.3 :** Répartition des séquences en fonction des genres par zone d'étude

	Abengourou	Azaguié	Bouaflé
<i>Acaulospora</i>	25274	90033	50750
<i>Rhizophagus</i>	23119	6077	66324
<i>Glomus</i>	5120	370	24064
<i>Septoglomus</i>	346	74	5456
<i>Paraglomus</i>	6720	3501	14
<i>Funneliformis</i>	70	2	60
<i>Claroideoglomus</i>	3	10	25
<i>Dentiscutata</i>	1503	0	20521
<i>Racocetra</i>	21	0	2057
<i>Ambispora</i>	0	21958	0
<i>Intraornatospora</i>	1	6	0
<i>Diversispora</i>	0	1	2
<i>Cetraspora</i>	0	0	2
Autres	14	4	6443

### 9.1.1.1. Zone d'Abengourou

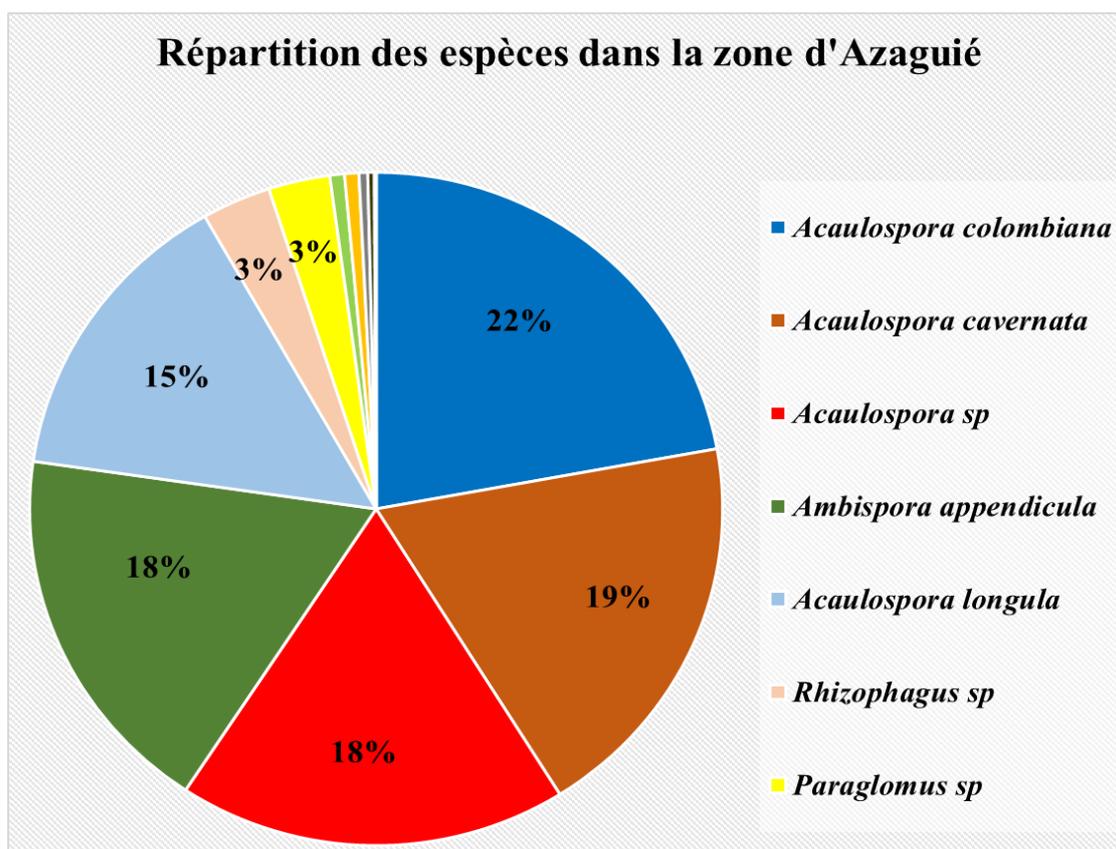
Les sols de la zone d'Abengourou contiennent des séquences de CMA appartenant à 10 genres sur les 13 identifiés dans l'ensemble des zones d'étude. Cette zone est à forte dominance des genres *Acaulospora* et *Rhizophagus* suivis respectivement des genres *Paraglomus*, *Glomus*, *Dentiscutata* et *Septoglomus*. En effet, les séquences des genres *Acaulospora* (41 %) et *Rhizophagus* (37 %) représentent 78 % du nombre total de séquences obtenues. Les genres *Claroideoglomus*, *Funneliformis*, *Intraornatospora*, et *Racocetra* sont présents en très faibles proportions (moins de 1 %), quand les genres *Ambispora*, *Cetraspora*, et *Diversispora* sont absents des sols échantillonnés dans la zone d'Abengourou. Au niveau des espèces, les séquences appartenant à *Acaulospora colombiana* (34 %) et *Rhizophagus sp.* (25 %) représentent plus de moitié (59 %) du nombre total de séquences de la zone, suivies des espèces *Paraglomus sp.* (11 %), *Rhizophagus intraradices* (9 %), *Glomus sp.* (8 %) *Acaulospora sp.* (7 %), *Rhizophagus irregulare* (3 %), *Dentiscutata sp.* (2 %), et *Septoglomus sp.* (1 %). (Figure 9.4)



**Figure 9.4:** Abondance relative des espèces de CMA dans les sols de la zone d'Abengourou

### 9.1.1.2. Zone d'Azaguié

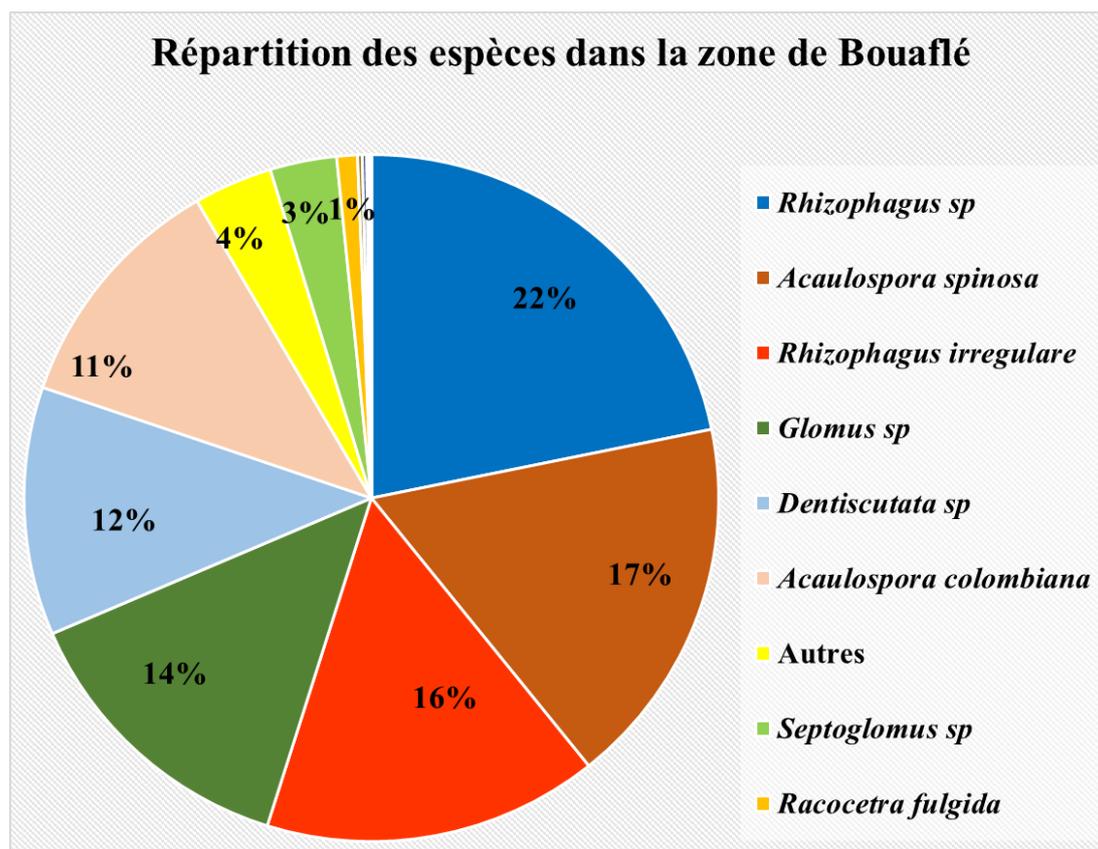
Dix des 13 genres identifiés sont présents dans les sols de la zone d'Azaguié qui présentent une richesse relativement importante en séquences de CMA. Le genre *Acaulospora* est particulièrement abondant avec une fréquence de 74 % suivi respectivement des genres *Ambispora* (18 %), *Rhizophagus* (5 %), et *Paraglomus* (3 %). 99 % des séquences issues de cette zone appartiennent à ces 4 genres. Les genres *Claroideoglomus*, *Diversispora*, *Funneliformis*, *Glomus*, *Intraornatospora*, et *Septoglomus* sont présents en très faibles proportions (moins de 1 %), quand les genres *Dentiscutata*, *Cetraspora* et *Racocetra*, sont absents des sols échantillonnés dans la zone d'Abengourou. Les séquences appartenant aux 5 espèces : *Acaulospora colombiana* (22 %) et *Acaulospora cavernata* (19 %), *Acaulospora sp* (18 %), *Ambispora appendicula* (18 %) et *Acaulospora longula* (15 %) constituent la majorité (92 %) du nombre total de séquences de la zone. Les 15 autres espèces ne représentent que qu'environ 8% des séquences de la zone, avec une fréquence de 3 % pour l'espèce *Rhizophagus sp* et pour l'espèce *Paraglomus sp* (Figure 9.5)



**Figure 9.5:** Abondance relative des espèces de CMA dans les sols de la zone d'Azaguié

### 9.1.1.3. Zone de Bouaflé

Onze des 13 genres identifiés sont présents dans les sols de la zone de Bouaflé. Les genres *Rhizophagus* et *Acaulospora* sont les plus abondants (77 %) avec respectivement des fréquences de 38 % et de 29 % du nombre total de séquences de la zone. Aussi, les genres *Glomus* (14 %), *Dentiscutata* (12 %), *Septoglomus* (3 %) représentent 29 % des séquences issues de cette zone d'étude. Les genres *Claroideoglomus*, *Diversispora*, *Funneliformis*, *Cetraspora*, *Racocetra* sont présents en très faibles proportions (moins de 1%), quand les genres *Ambispora* et *Intraornatospora*, sont absents des sols échantillonnés dans la zone de bouaflé. Les séquences appartenant aux six espèces : *Rhizophagus sp.* (22 %), *Acaulospora spinosa* (17 %), *Rhizophagus irregulare* (16 %), *Glomus sp.* (14 %), *Dentiscutata sp.* (12 %) et *Acaulospora colombiana* (11 %) constituent la majorité (92 %) du nombre total de séquences de la zone. Les 18 autres espèces ne représentent que qu'environ 4 % des séquences de la zone, avec une fréquence de 3 % pour l'espèce *Paraglomus sp.* (Figure 9.6)



**Figure 9.6 :** Abondance relative des espèces de CMA dans les sols de la zone de Bouaflé

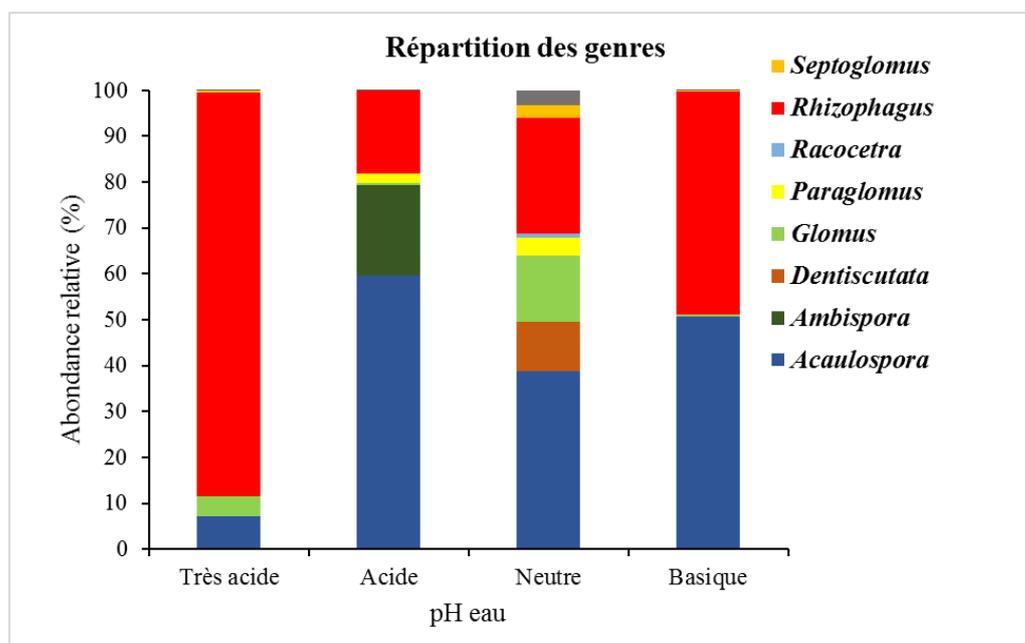
## 9.1.2. Communauté des CMA selon la typologie des sols

### 9.1.2.1. Abondance relative des CMA selon le $\text{pH}_{\text{eau}}$ des sols

La diversité des CMA dans les sols très acides et basiques est moins importante que dans les sols neutres et acides (Figure 9.7). Les sols neutres ( $6,5 < \text{pH}_{\text{eau}} < 7,5$ ) contiennent une très grande diversité de séquences de champignons mycorhiziens. En effet ces séquences appartiennent à 8 genres sur les 13 identifiés dans l'ensemble des zones d'étude. Les séquences appartenant aux genres *Acaulospora* (39 %), *Rhizophagus* (25 %) *Glomus* (14 %) *Dentiscutata* (11 %) y sont les plus abondants.

Les sols acides ( $5 < \text{pH}_{\text{eau}} < 6,5$ ) contiennent des séquences de CMA appartenant essentiellement à 4 genres : *Acaulospora* (60 %), *Ambispora* (20 %), *Rhizophagus* (18 %) et *Paraglomus* (2%). Les espèces du genre *Rhizophagus* sont les plus abondantes (88 %) dans les sols très acides ( $3,5 < \text{pH}_{\text{eau}} < 5$ ). Ces sols proviennent essentiellement de la zone d'Azaguié et contiennent aussi des séquences des genres *Acaulospora* (7 %) et *Glomus* (4 %).

Les sols basiques ( $7,5 < \text{pH}_{\text{eau}} < 8,7$ ) quant à eux présentent la plus faible diversité de CMA, avec la présence des séquences des genres *Acaulospora* (51 %) et *Rhizophagus* (49 %) représentés respectivement par les espèces *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus irregulare*.

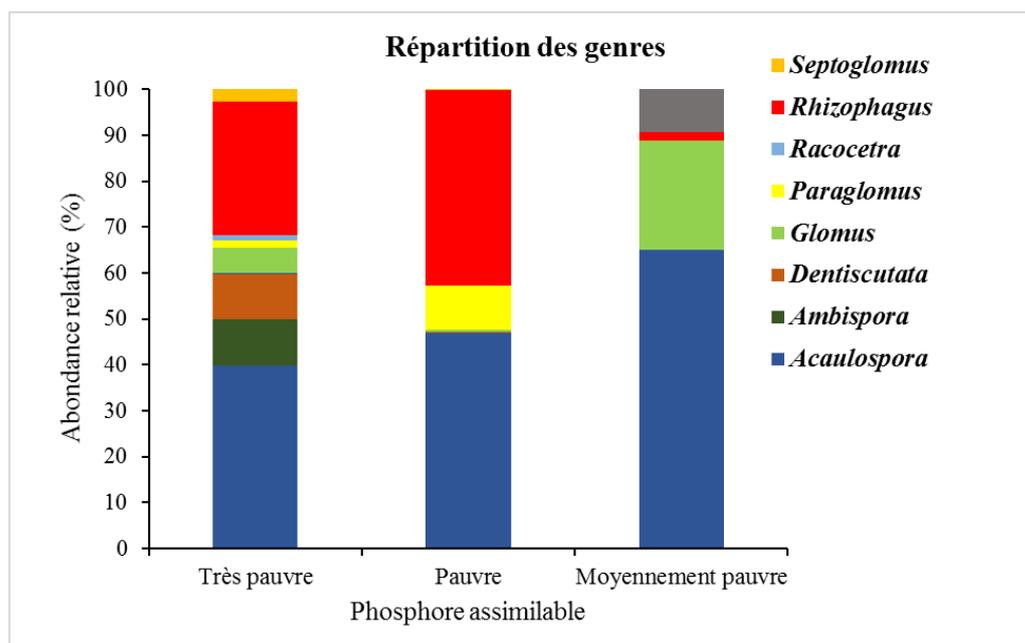


**Figure 9.7:** Abondance relative des genres de CMA en fonction du  $\text{pH}_{\text{eau}}$  des sols

### 9.1.2.2. Abondance relative des CMA selon la concentration en phosphore assimilable des sols

Les sols très pauvres en phosphore assimilable ( $P_{\text{ass}} < 30$ ) ont une très grande diversité de séquences de champignons mycorhiziens. Ces séquences appartiennent à 7 genres sur les 13 identifiés dans l'ensemble des zones d'étude. Les séquences appartenant aux genres *Acaulospora* (39 %), *Rhizophagus* (25 %), *Dentiscutata* (14 %) et *Glomus* (11 %) y sont les plus abondants (Figure 9.8).

Quant aux sols pauvres ( $30 < P_{\text{ass}} < 50$ ) et moyennement pauvres ( $50 < P_{\text{ass}} < 100$ ) en phosphore assimilable, la diversité des champignons mycorhiziens est moins importante. Les sols pauvres en phosphore contiennent essentiellement des séquences des genres *Acaulospora* (47%), *Rhizophagus* (42,6%), et *Paraglomus* (9,5%). Cependant une dominance des espèces du genre *Acaulospora* (65%) est observée au niveau des sols moyennement pauvres en phosphore assimilable ; avec une présence des espèces des genres *Glomus* (23,9%) et *Rhizophagus* (1,76%).



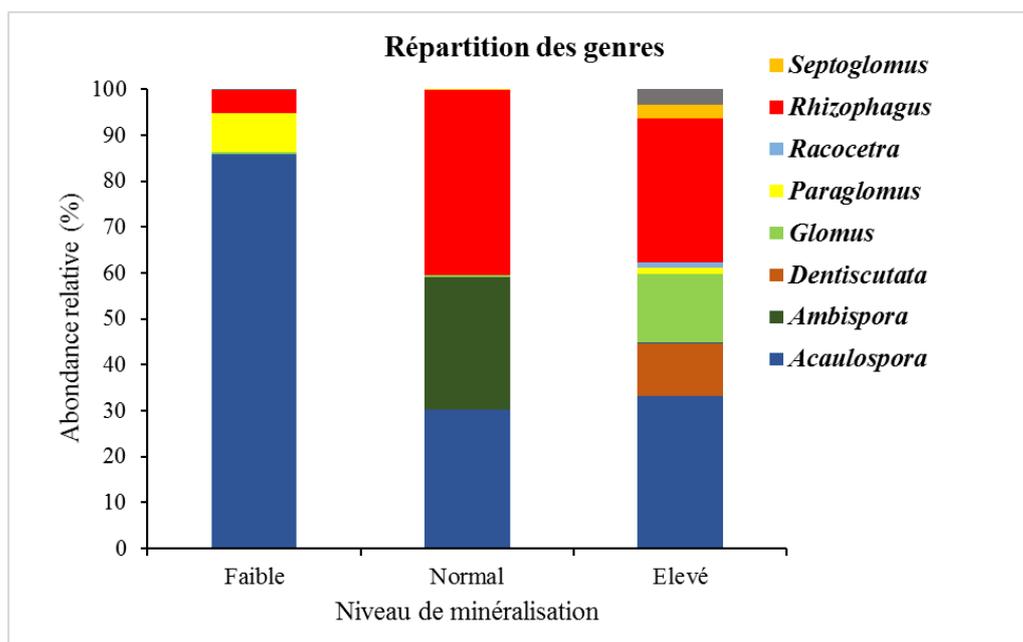
**Figure 9.8:** Abondance relative des genres de CMA en fonction de la concentration de phosphore assimilable des sols

### 9.1.2.3. Abondance relative des CMA selon le niveau de minéralisation des sols

Les sols ayant une décomposition rapide de la matière organique (Rapport C/N < 8) ont une plus grande abondance en champignons mycorhiziens à arbuscules, avec la présence des espèces de 8 différents genres (Figure 9.9). Les espèces les plus abondantes appartiennent aux genres *Acaulospora* (33,2 %) *Rhizophagus* (31,4 %), *Glomus* (15 %) et *Dentiscutata* (11,4 %).

Les espèces des genres *Acaulospora* (30,3 %), *Ambispora* (29,8 %), et *Rhizophagus* (40,3 %) et sont les plus abondantes dans les sols ayant une bonne décomposition de la matière organique ( $8 < \text{Rapport C/N} < 12$ ).

Dans les conditions de faible minéralisation (Rapport C/N > 12), les espèces du genre *Acaulospora* (85,9 %) sont les plus abondants. Cependant la diversité des CMA au niveau de ces sols est relativement faible avec la présence des espèces des genres *Paraglomus* (8,5%) et *Rhizophagus* (4,9 %).

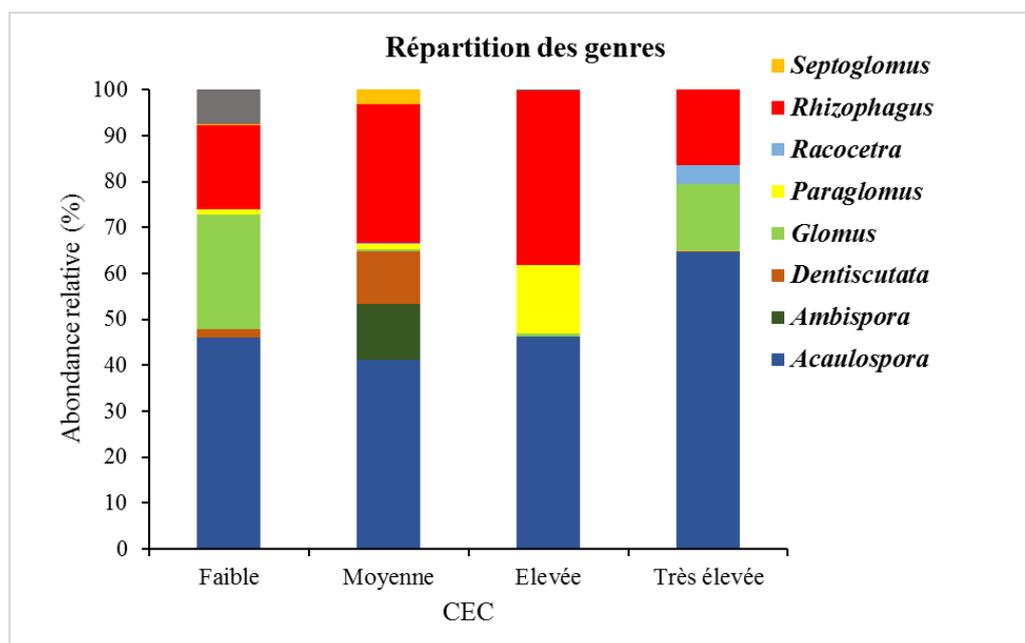


**Figure 9.9:** Abondance relative des genres de CMA en fonction du niveau de minéralisation de la matière organique des sols

### 9.1.2.4. Abondance relative des CMA selon la capacité d'échange cationique (CEC) des sols

Les genres *Acaulospora* et *Rhizophagus* sont les plus abondants dans les sols quel que soit la capacité d'échange cationique (Figure 9.10). En effet ils sont présents respectivement à 46 % et 18,16 % dans les sols à faible CEC ; 41,24 % et 30,38 % dans les sols à CEC normale ; 46,22 % et 37,89 % dans les sols à CEC élevée ; enfin 64,89 % et 16,46 % dans les sols à CEC très élevée. Avec une abondance du *Glomus* de 24,96 % dans les sols à CEC faible et de 14,48 % dans les sols à CEC très élevée.

Cependant, les genres *Dentiscutata*, *Ambispora*, *Paraglomus*, *Racocetra* et *Septoglomus* sont aussi présents à des proportions relativement faibles.



**Figure 9.10:** Abondance relative des genres de CMA en fonction de la concentration de la capacité d'échange cationique (CEC) des sols

### 9.1.3. Indices de richesse et de diversité des sites d'étude en CMA

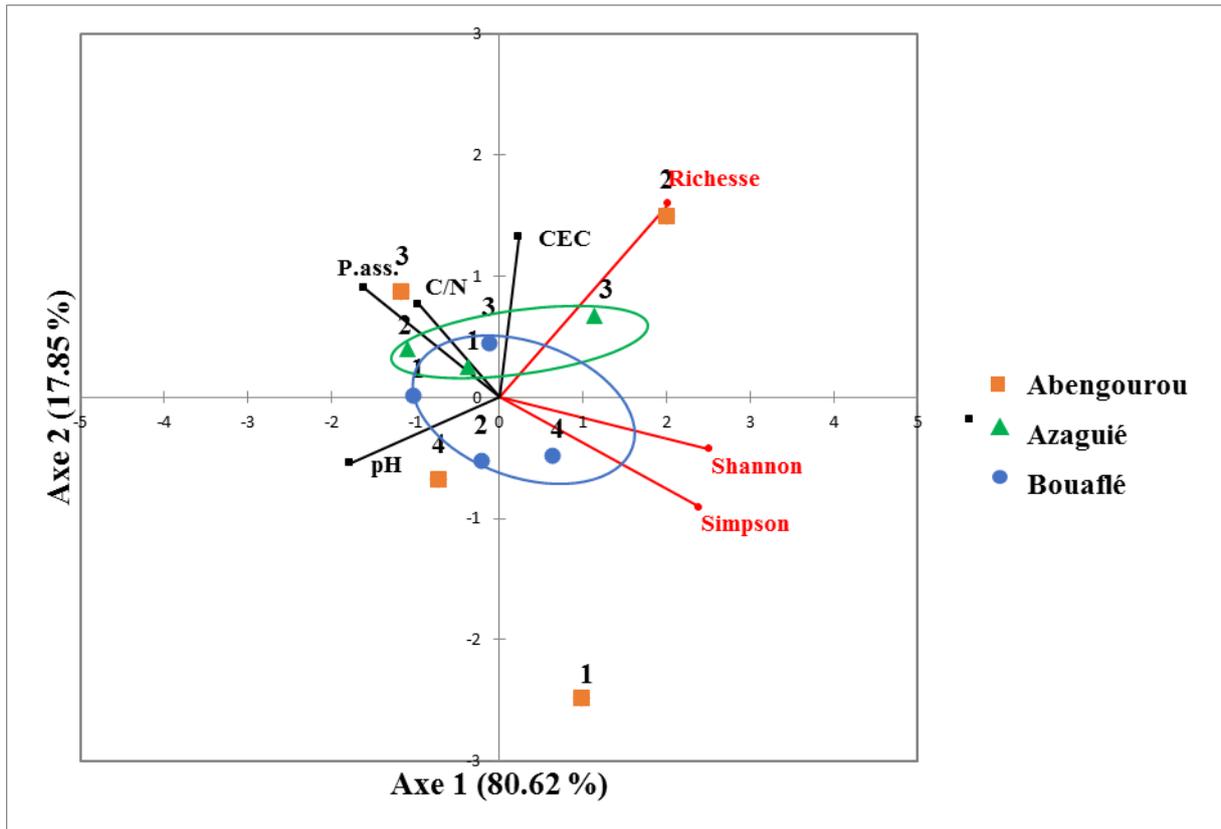
Les sites Abengourou 2 (253 taxa) et Azaguié 3 (172 taxa) ont la plus grande richesse spécifique. Les indices de Shannon des sites Abengourou 1 (2,75), Abengourou 2 (2,95) et Azaguié 3 (2,59) sont les plus élevés. Quant à l'indice de Simpson, les valeurs les plus basses sont observées au niveau des sites : Bouaflé 1 (0,25), Azaguié 2 (0,26) et Abengourou 3 (0,16). (Tableau 9.4)

L'analyse en composantes principales a permis de représenter l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques, des indices de richesse spécifique et de biodiversité, ainsi que les sites d'études dans un plan composé axes 1 (80,62%) et 2 (17,85). Les sites de la zone Bouaflé sont regroupés dans une même zone du plan avec des contributions à l'axe 1 variant de -1 à 1. Il en est de même pour les sites de la zone d'Azaguié. Cependant les sites de la zone d'Abengourou sont dispersés dans le plan. (Figure 9.11)

Quant aux caractéristiques physico-chimiques, le pH est corrélé négativement à la richesse spécifique ( $r = -0,667$  ;  $p = 0,025$ ) et à l'indice de Shannon ( $r = -0,665$  ;  $p = 0,026$ ) et le Phosphore assimilable est corrélé négativement à l'indice de Shannon ( $r = -0,646$ ,  $p = 0,032$ ).

**Tableau 9.4:** Richesse spécifique et indices de diversité de Shannon et Simpson des sites d'étude

Zones	Sites	Richesse spécifique	Indice de Shannon	Indice de Simpson
<b>Abengourou</b>	1	41,00	<b>2,75</b>	0,89
	2	<b>253,50</b>	<b>2,95</b>	0,80
	3	65,00	0,52	<b>0,16</b>
	4	28,50	0,93	0,41
<b>Azaguié</b>	1	85,50	1,00	0,44
	2	53,50	0,41	<b>0,26</b>
	3	<b>172,67</b>	<b>2,59</b>	0,63
<b>Bouaflé</b>	1	38,00	0,75	<b>0,25</b>
	2	57,67	1,52	0,47
	3	106,00	1,14	0,48
	4	107,67	1,90	0,71



**Figure 9.11:** Analyse en composantes principales présentant les relations entre les caractéristiques physico-chimiques des sites et leur diversité en CMA

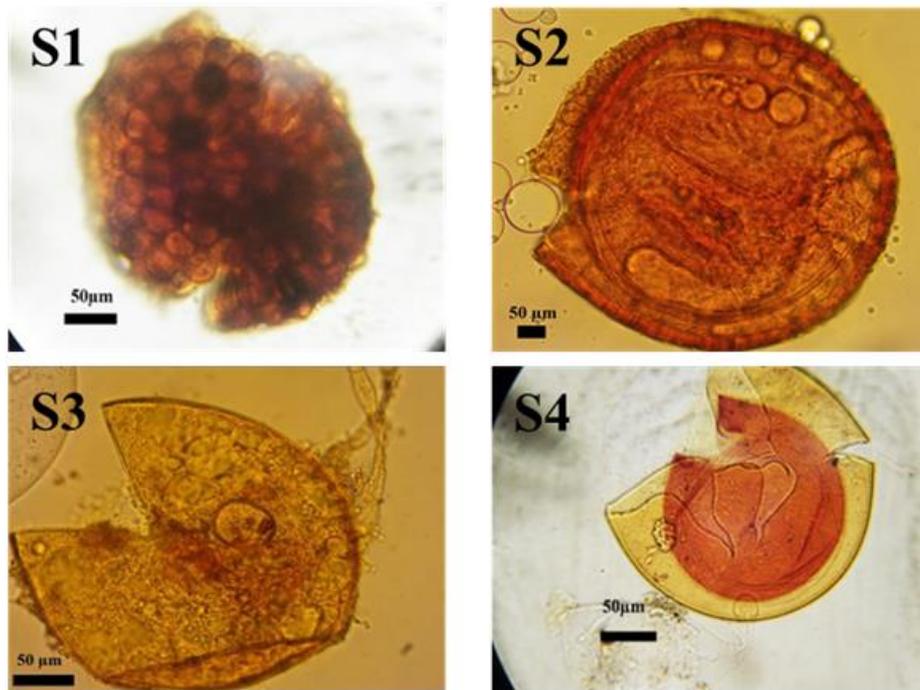
## 9.2. Isolement et purification des souches de CMA d'intérêt

En raison de leur présence au niveau de toutes les zones d'étude, de leur abondance dans les sols échantillonnés, leur facilité de multiplication dans les substrats locaux avec une densité de 25-30 spores.g<sup>-1</sup> sol (Tableau 9.5) et leur capacité à coloniser rapidement des racines de plants de bananier plantain, quatre souches indigènes ont été sélectionnées pour la conduite des tests d'efficacité des champignons endomycorhiziens sur la productivité du bananier plantain : *Acaulospora colombiana*, *Glomus clavisporum*, *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora* sp.

**Tableau 9.5:** Caractéristiques des souches locales isolées

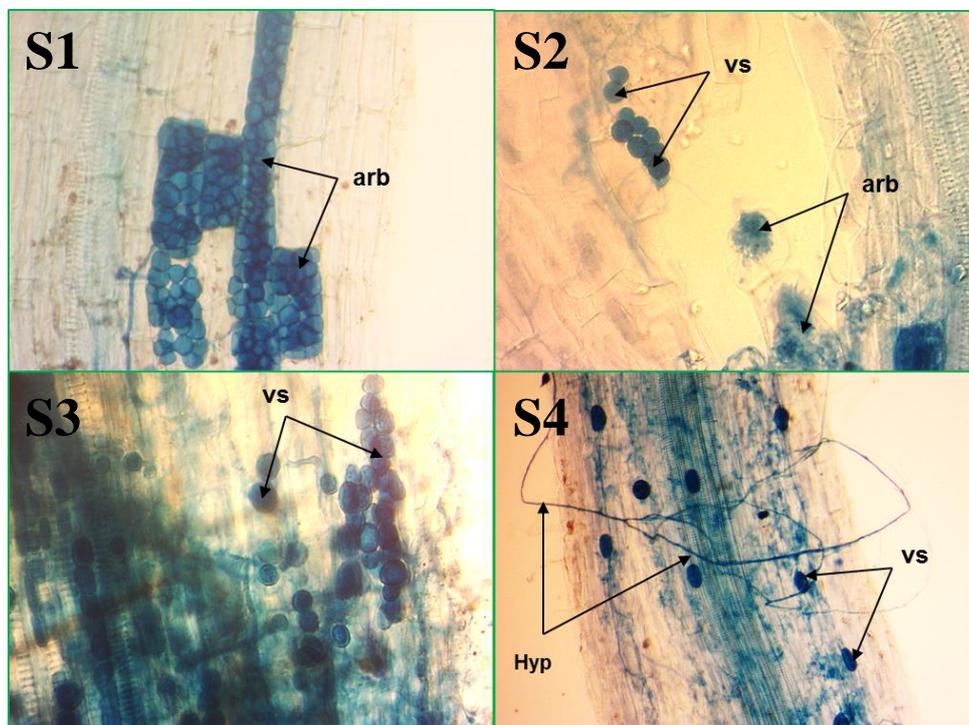
	Densité (spore. g <sup>-1</sup> ) de sol	Lieu d'accession
<i>Glomus clavisporum</i>	20,3	Abengourou
<i>Acaulospora colombiana</i>	30,1	Azaguié
<i>Rhizophagus proliferum</i>	28,6	Bouaflé
<i>Acaulospora</i> sp	25,7	Azaguié

Les différentes souches isolées sont caractérisées par des structures de reproduction (spores) variables et spécifiques (Figure 9.12), ainsi que par des structures (arbuscules, hyphes, vésicules) qu'elles différencient lors de leur vie en symbiose (Figure 9.13).



**Figure 9.12:** Spores de CMA sélectionnées, colorées dans le réactif de Melzer

(S1: *Glomus clavisorum*, S2: *Acaulospora colombiana*, S3: *Rhizophagus proliferum* et S4: *Acaulospora* sp)



**Figure 9.13:** Structures mycorhiziennes développées par les souches d'intérêt

(S1: *Glomus clavisorum*, S2: *Acaulospora colombiana*, S3: *Rhizophagus proliferum* et S4: *Acaulospora* sp)

Au terme de ce chapitre, l'étude de l'écologie moléculaire des champignons mycorhiziens à arbuscules associés au bananier plantain en Côte d'Ivoire a permis d'obtenir les résultats suivants :

- 1115 unités taxonomiques opérationnelles ont été détectées dans l'ensemble des trois zones grâce à la technique Illumina Miseq ;
- 27 espèces appartenant à 13 genres et sept familles ont été retrouvées dans l'ensemble des trois zones d'études ;
- Les zones d'Abengourou, Azaguié et Bouaflé ont en commun les genres de CMA *Acaulospora*, *Rhizophagus*, *Glomus*, *Septoglomus* et *Paraglomus* ;
- L'espèce *Acaulospora colombiana* (Acaulosporaceae) et l'espèce *Rhizophagus sp* (Glomeraceae) sont les plus abondants dans la rhizosphère des bananeraies étudiées.

Les sites Abengourou 2 (253 taxa) et Azaguié 3 (172 taxa) ont la plus grande richesse spécifique. Les indices de Shannon des sites Abengourou 1 (2,75), Abengourou 2 (2,95) et Azaguié 3 (2,59) sont les plus élevés. Quant à l'indice de Simpson, les valeurs les plus basses sont observées au niveau des sites : Bouaflé 1 (0,25), Azaguié 2 (0,26) et Abengourou 3 (0,16). Le pH est corrélé négativement à la richesse spécifique et à l'indice de Shannon et le Phosphore assimilable est corrélé négativement à l'indice de Shannon.

Le processus de sélection de souches d'intérêt a permis d'isoler quatre souches ubiquistes, dont la multiplication sur substrats locaux est rapide et aisée :

- *Glomus clavisporum* (Abengourou ; 20,3 spores/g de sol)
- *Acaulospora colombiana* (Azaguié ; 30,1 spores/g de sol)
- *Rhizophagus proliferum* (Bouaflé ; 28,6 spores/g de sol)
- *Acaulospora sp* (Azaguié ; 25,7 spores/g de sol)

# CHAPITRE 10. Évaluation de l'ingénierie endomycorhizienne sur la productivité du bananier plantain

La présente étude porte sur l'évaluation de l'efficacité de souches locales de champignons mycorhiziens à arbuscules, d'une part sur la croissance et la vigueur des plants de bananier plantain (cultivars Orishele et FHIA 21) en serre, et d'autre part sur la productivité du bananier plantain (cultivar FHIA 21) en champ (Yamoussoukro et Bouaflé) par rapport à la souche commerciale Myke Pro ®.

## 10.1. Impact de l'endomycorhization sur la qualité de vivoplants de Orishele et FHIA 21 obtenus par la technique du PIF

### 10.1.1. Colonisation racinaire

L'analyse de la colonisation racinaire montre que tous les plants inoculés ont été colonisés par les propagules des inocula. La souche *Rhizophagus proliferum* induit les fréquences de colonisation racinaire les plus élevées, quel que soit le cultivar (Orishele : 83,33%, FHIA 21 : 92,33%). Aucune structure mycorhizienne n'est observée au niveau des plants témoins. (Tableau 10.1)

**Tableau 10.1:** Fréquence de mycorhization, huit semaines après inoculation

Traitements	Fréquence de mycorhization (%)		Rangs de Kruskal-Wallis	
	Orishele	FHIA 21	Orishele	FHIA 21
Témoin	0	0	6 a	6 b
<i>Glomus clavisporum</i>	63,33 ± 20,28	66,67 ± 17,64	27,5 a	28 a,b
<i>Acaulospora colombiana</i>	83,33 ± 8,82	36,67 ± 21,86	32,5 a	19 a,b
<i>Rhizophagus proliferum.</i>	83,33 ± 16,67	92,33 ± 2,62	34 a	<b>39 a</b>
<i>Acaulospora sp</i>	40 ± 25,17	63,33 ± 23,33	20 a	27,5 a,b
			p = 0,062	<b>p = 0,033</b>
			H = 8,9658	<b>H = 10,423</b>

(Les valeurs de la même colonne portant des lettres identiques ne sont pas différentes significativement selon le test de Kruskal-Wallis au seuil 5 %)

### 10.1.2. Effet de la mycorhization sur la croissance végétative des plantules de bananier plantain

Huit semaines après l'inoculation, la hauteur moyenne des plants du cultivar Orishele est significativement plus élevée (18,66 cm) que les plants du cultivar FHIA 21. Cependant, la circonférence des plants du cultivar FHIA 21 sont significativement plus élevée (2,08 cm) que la circonférence du cultivar Orishele (Tableau 10.2).

Globalement, les plants inoculés ont des performances de croissance significativement meilleures comparativement aux plants témoins. Les plantules traitées avec des souches endomycorhiziennes ont une hauteur ( $p = 0,0027$ ), une circonférence ( $p < 0,0001$ ) et une surface foliaire ( $p < 0,0001$ ) plus élevées que les plantes non traitées (Tableau 10.2).

La souche *Acaulospora colombiana* a l'effet le plus significatif sur la hauteur des plantules (Orishele: 20,57 cm, FHIA 21: 18,83 cm) et la surface foliaire, quel que soit le cultivar. Les plants inoculés avec les souches *Glomus clavisporum* et *Acaulospora sp.*, ont les diamètres au collet les plus élevés respectivement pour Orishele (2,05 cm) et FHIA 21 (2,35 cm).

### 10.1.3. Effet de la mycorhization sur la physiologie et la biomasse des plantules de bananier plantain

Les plants témoins ont les teneurs en chlorophylle les plus basses ( $p = 0,0015$ ). La souche *Rhizophagus proliferum* améliore de manière significative la teneur en chlorophylle a des vivoplants Orishele (51,74  $\mu\text{g} / \text{cm}^2$ ). La souche *Glomus clavisporum* augmente quant à elle, de manière significative, la teneur en chlorophylle a de plants FHIA 21 (52,55  $\mu\text{g} / \text{cm}^2$ ).

L'analyse de la biomasse a montré que l'inoculation avec les souches locales de CMA augmente significativement le poids sec des plantes ( $p = 0,0138$ ). Les plants de la variété Orishele inoculées avec les souches d'*Acaulospora colombiana* et de *Glomus clavisporum* ont les biomasses sèches les plus importantes, respectivement de 15,87 g et de 15,86 g. Cependant, les souches *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora sp* améliorent plus significativement la biomasse sèche des plants du cultivar FHIA 21 (respectivement 20,25 g et 21,11 g) (Tableau 10.3). La dépendance relative à la mycorhization (DRM) est de 79,81% pour le cultivar Orishele et de 42,55% pour le cultivar FHIA 21.

**Tableau 10.2:** Paramètres de croissance des vivoplants cv ORISHELE et FHIA 21, huit semaines après inoculation avec des champignons mycorrhiziens

Traitements	Hauteur (cm)		Diamètre au collet (cm)		Surface foliaire (cm <sup>2</sup> )	
	Orishele	FHIA 21	Orishele	FHIA 21	Orishele	FHIA 21
<b>Témoin</b>	16,83 ± 0,33 c	16,6 ± 0,46 b	1,5 ± 0,09 b	1,78 ± 0,06 c	135,89 ± 15,65 b	163,29 ± 16,33 c
<i>Glomus clavisporum</i>	18,833 ± 0,60 a,b,c	17,13 ± 0,52 a,b	2,05 ± 0,08 a	1,98 ± 0,08 b,c	260,16 ± 15,04 a	247,93 ± 29,16 b
<i>Acaulospora colombiana</i>	20,57 ± 0,81 a	18,83 ± 1,09 a	1,92 ± 0,07 a	2,17 ± 0,09 a,b	307,28 ± 22,76 a	313,92 ± 27,27 a
<i>Rhizophagus proliferum</i>	17,83 ± 0,83 b,c	16,67 ± 0,44 a,b	1,97 ± 0,09 a	2,1 ± 0,06 a,b	258,61 ± 19,18 a	261,11 ± 11,58 a,b
<i>Acaulospora sp</i>	19,23 ± 0,64 a,b	18 ± 0,76 a,b	2,03 ± 0,02 a	2,35 ± 0,13 a	308,96 ± 2,07 a	293,85 ± 12,18 a,b
<b>Valeurs moyennes</b>	<b>18,66 ± 0,64</b>	<b>17,45 ± 0,66</b>	<b>1,89 ± 0,07</b>	<b>2,08 ± 0,09</b>	<b>254,18 ± 14,94</b>	<b>256,02 ± 19,30</b>
<b>Cultivars</b>	<b>p = 0,0109</b>		<b>p = 0,002</b>		<b>p = 0,8781</b>	
	<b>F = 7,866</b>		<b>F = 12,604</b>		<b>F = 0,024</b>	
<b>Traitements</b>	<b>p = 0,0027</b>		<b>p &lt; 0,0001</b>		<b>p &lt; 0,0001</b>	
	<b>F = 5,841</b>		<b>F = 12,535</b>		<b>F = 23,366</b>	
<b>Cultivars × Traitements</b>	<b>p = 0,8113</b>		<b>p = 0,1640</b>		<b>p = 0,7963</b>	
	<b>F = 0,393</b>		<b>F = 1,823</b>		<b>F = 0,414</b>	

(Les valeurs de la même colonne portant des lettres identiques ne sont pas différentes significativement selon le test PPDS de Fischer au seuil 5 %)

**Tableau 10.3:** Biomasse des vivoplants cv ORISHELE et FHIA 21, huit semaines après inoculation avec des champignons mycorhiziens

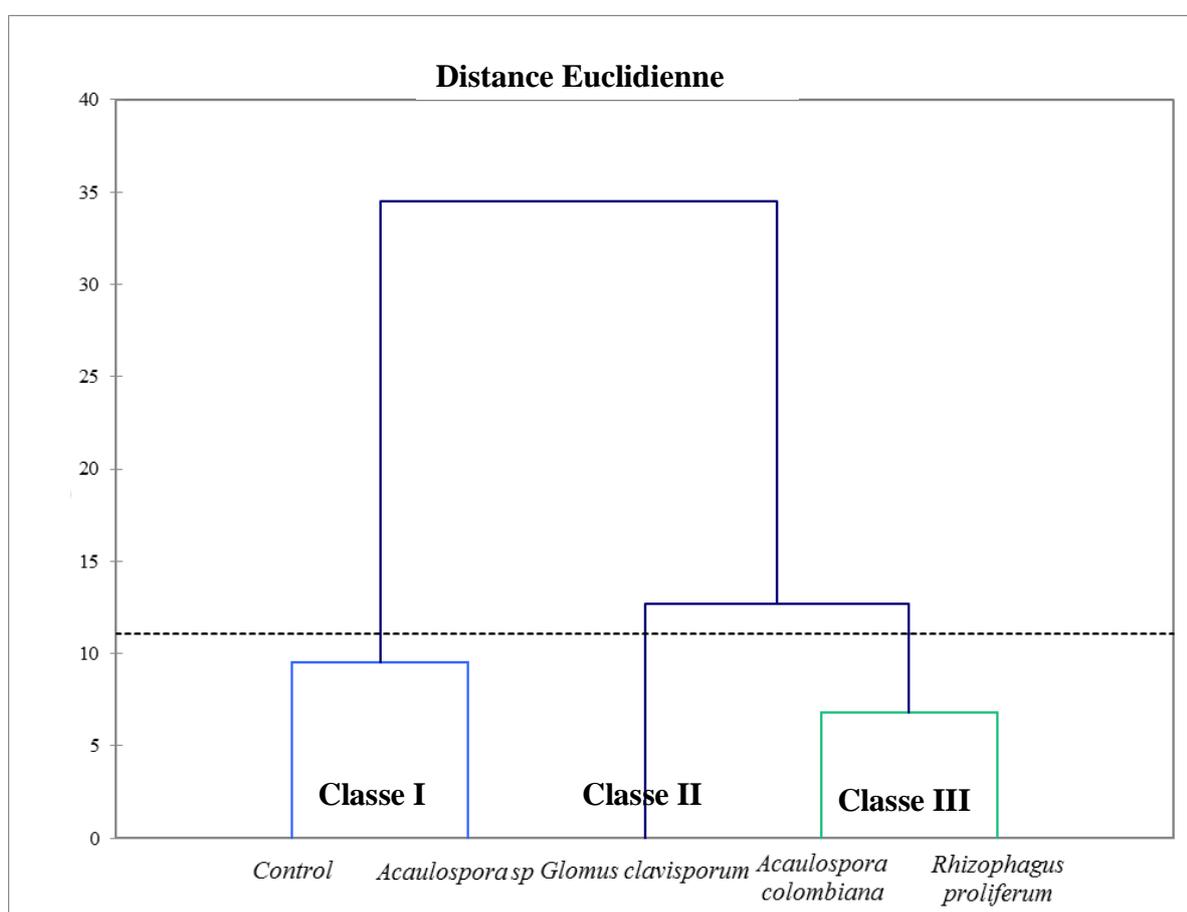
Traitements	Chlorophylle a ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )		Biomasse sèche (g)		DRM (%)	
	Orishele	FHIA 21	Orishele	FHIA 21	Orishele	FHIA 21
<b>Témoin</b>	31,65 $\pm$ 1,71 b,c	33,32 $\pm$ 2,59 b	8,35 $\pm$ 3,06 b	12,45 $\pm$ 4,25 b	-	-
<i>Glomus clavisporum</i>	45,79 $\pm$ 6,77 a,b	52,55 $\pm$ 0,86 a	15,86 $\pm$ 1,91 a	14,03 $\pm$ 3,85 b	90,02	12,72
<i>Acaulospora colombiana</i>	40,97 $\pm$ 3,78 a,b,c	43,78 $\pm$ 1,19 a,b	15,87 $\pm$ 2,87 a	15,58 $\pm$ 5,63 a,b	90,18	25,20
<i>Rhizophagus proliferum</i>	51,74 $\pm$ 2,40 a	37,98 $\pm$ 2,62 a,b	14,69 $\pm$ 0,28 a,b	20,25 $\pm$ 4,05 a	76,04	62,67
<i>Acaulospora sp</i>	27,13 $\pm$ 5,78 c	31,02 $\pm$ 1,21 b	13,61 $\pm$ 1,41 a,b	21,11 $\pm$ 5,93 a	63,02	69,60
<b>Valeurs moyennes</b>	<b>42,54 <math>\pm</math> 3,66</b>	<b>38,95 <math>\pm</math> 4,71</b>	<b>13,68 <math>\pm</math> 0,81</b>	<b>16,68 <math>\pm</math> 0,60</b>	<b>79,82</b>	<b>42,55</b>
<b>Cultivars</b>	<b>p = 0,9267</b>		<b>p = 0,0285</b>			
	<b>F = 0,0087</b>		<b>F = 5,5758</b>			
<b>Traitements</b>	<b>p = 0,0015</b>		<b>p = 0,0138</b>			
	<b>F = 6,6051</b>		<b>F = 4,0968</b>			
<b>Cultivars×Traitements</b>	<b>p = 0,2427</b>		<b>p = 0,1470</b>			
	<b>F = 1,4904</b>		<b>F = 1,9162</b>			

(Les valeurs de la même colonne portant des lettres identiques ne sont pas différentes significativement selon le test PPDS de Fischer au seuil 5%)

### 10.1.4. Classification hiérarchique des souches indigènes

La classification hiérarchique des différents traitements basée sur les paramètres de croissance, physiologique et de biomasse a révélé trois classes de performance. La classe I est composée de la souche *Acaulospora* sp et du témoin ; la classe II est constituée de la souche *Glomus claviforme* ; Et la classe III : la souche *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora colombiana* (Figure 10.1).

Les plants inoculés avec les souches *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora colombiana* ont eu le même comportement. Les vivoplants inoculés avec la souche d'*Acaulospora* sp ont statistiquement les mêmes caractéristiques que les plants témoins.



**Figure 10.1** : Classification hiérarchique des traitements basée sur les différents paramètres étudiés

## 10.2 Évaluation en champ de vivoplants produits par la technique du PIF et endomycorhizés

### 10.2.1 Croissance et performance des vivoplants inoculés avec des inocula mycorhiziens en serre

Après trois mois d'acclimatation, la croissance des plants issus de la technique du PIF est significativement ( $p = 0,0001$ ) affectée par l'application de produits mycorhiziens (Tableau 10.4). La hauteur des plants non inoculés est statistiquement inférieure à celle des plants inoculés avec des inoculants locaux. Les souches indigènes ont augmenté la hauteur des plants de 10,4 % (*Rhizophagus proliferum*) à 15,36 % (*Acaulospora Colombiana*).

Des observations similaires ont été faites au niveau du diamètre au collet des plants ( $p = 0,0011$ ), avec *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum* augmentant respectivement la circonférence des plants de 14,19 % et 12,06 % par rapport aux témoins non inoculés. Cependant, le produit commercial (Myke Pro) n'a pas augmenté significativement la hauteur et la circonférence des plants en serre.

Les inoculants mycorhiziens n'ont pas affecté le nombre de feuilles ( $p = 0,5695$ ), mais ont augmenté significativement la surface foliaire ( $p = 0,011$ ) de 26,91 % (Myke Pro), 24,32 % (*Acaulospora colombiana*) et 29,74 % (*Rhizophagus proliferum*) par rapport au témoin non inoculé. La biomasse a été significativement affectée par les inoculants mycorhiziens ( $p = 0,0005$ ).

Tous les plants traités avec les souches indigènes et commerciaux ont une biomasse sèche plus importante en serre que les témoins non inoculés. Le poids de matière sèche le plus élevé a été observé pour l'inoculation avec *Acaulospora colombiana* (14,02 g).

**Tableau 10.4:** Paramètres de croissance des vivoplants de bananier plantain à la fin de l'acclimatation

Traitements	Hauteur (cm)	Diamètre au collet (cm)	Nombre de feuilles	Surface foliaire	Biomasse sèche
<b>Témoin</b>	19,31 ± 2,59 c	1,70 ± 0,34 b	5,25 ± 1,57 a	211,03 ± 87,61 b	11,06 ± 0,71 b
<b>Myke Pro</b>	20,14 ± 3,53 b,c	1,79 ± 0,29 a,b	5,42 ± 1,38 a	267,82 ± 94,44 a	12,98 ± 1,15 a
<i>Acaulospora colombiana</i>	22,28 ± 2,51 a	1,94 ± 0,20 a	5,69 ± 0,95 a	262,34 ± 91,32 a,b	14,02 ± 1,14 a
<i>Rhizophagus proliferum</i>	21,32 ± 2,83 a,b	1,90 ± 0,26 a	5,36 ± 1,53 a	273,76 ± 79,01 a	13,56 ± 1,20 b
<b>Valeurs moyennes</b>	<b>20,76 ± 2,86</b>	<b>1,83 ± 0,27</b>	<b>5,4 ± 1,36</b>	<b>253,74 ± 88,09</b>	<b>12,91 ± 1,05</b>
<b>Traitements</b>	<b>p = 0,0001</b>	<b>p = 0,0011</b>	<b>p = 0,5695</b>	<b>p = 0,011</b>	<b>p = 0,0005</b>
	<b>F = 7,318</b>	<b>F = 5,64</b>	<b>F = 0,674</b>	<b>F = 3,845</b>	<b>F = 8,949</b>

(Les valeurs de la même colonne portant des lettres identiques ne sont pas différentes significativement selon le test HSD de Tukey au seuil 5%)

### 10.2.2. Teneurs en phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des plants du site Yamoussoukro sont significativement plus élevées ( $p < 0,0001$ ) que ceux des plants du site de Bouaflé. (Figure 10.2)

Au niveau du site de Yamoussoukro, les plants non inoculés ont une teneur moyenne en phénols totaux de 0,88 mg EAG/g MS. La souche *Rhizophagus proliferum* induit une meilleure augmentation ( $p = 0,025$ ) de la teneur en phénols totaux (86,79 %) par rapport aux plants témoins. Les souches Myke Pro et *Acaulospora colombiana* induisent quant à elles respectivement une augmentation de 47,17 % et de 39,62 % par rapport au témoin.

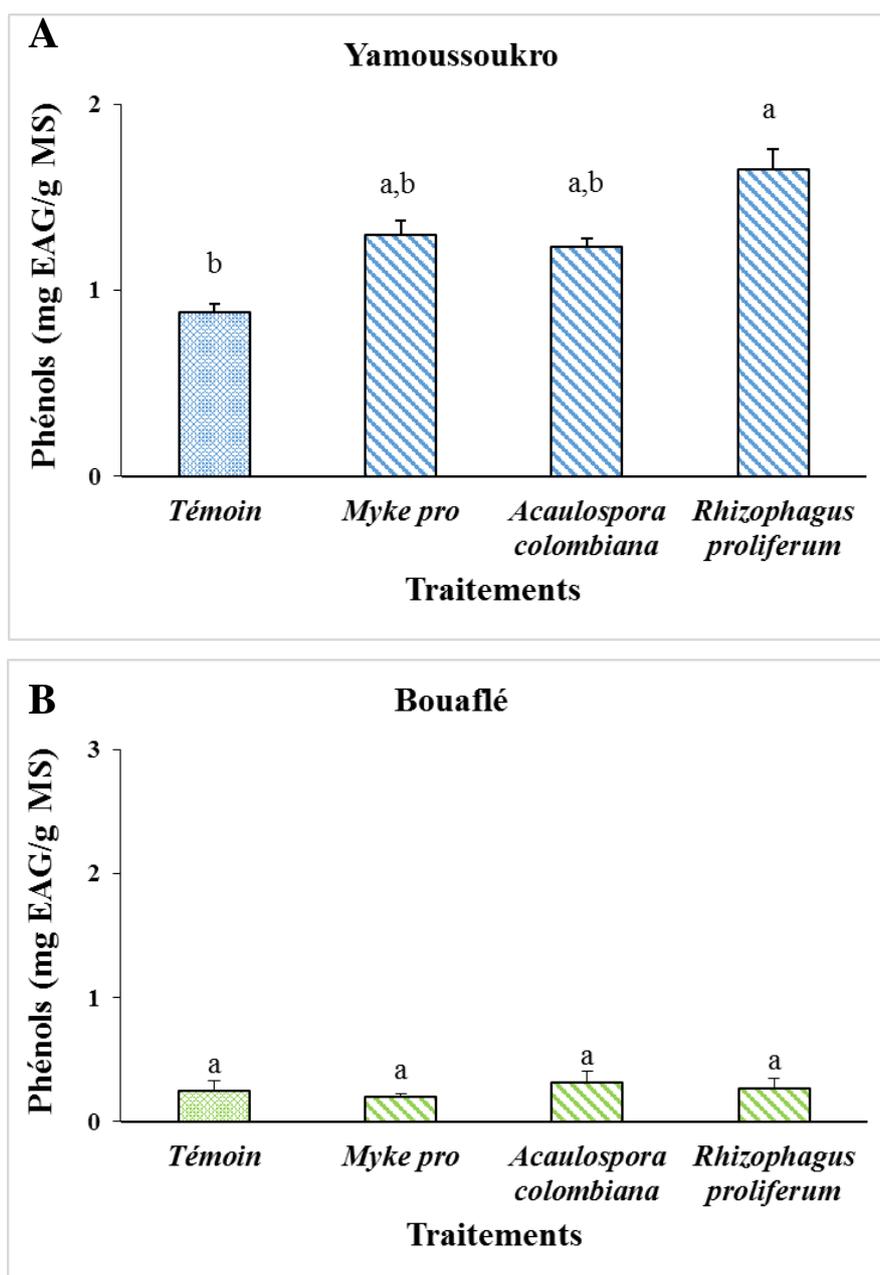
Au niveau du site de Bouaflé, les plants non inoculés ont une teneur moyenne en phénols totaux de 0,24 mg EAG/g MS. Cependant, les teneurs en phénols totaux au niveau des plants mycorhizés ne sont pas significativement ( $p = 0,809$ ) différentes de celles des plants témoins.

### 10.2.3. Taux de mortalité

Les taux de mortalité des plants au niveau du site de Yamoussoukro sont significativement plus élevés ( $p < 0,0001$ ) que ceux des plants du site de Bouaflé. (Figure 10.3)

Au niveau du site de Yamoussoukro, le taux de mortalité moyen des plants non inoculés est 30 %. La souche *Acaulospora colombiana* induit une baisse significative ( $p = 0,015$ ) du taux de mortalité de 66,6 % par rapport aux plants témoins. Les souches Myke Pro et *Rhizophagus proliferum* induisent quant à elle une diminution du taux de mortalité de 33,3 et de 50 % respectivement par rapport au témoin.

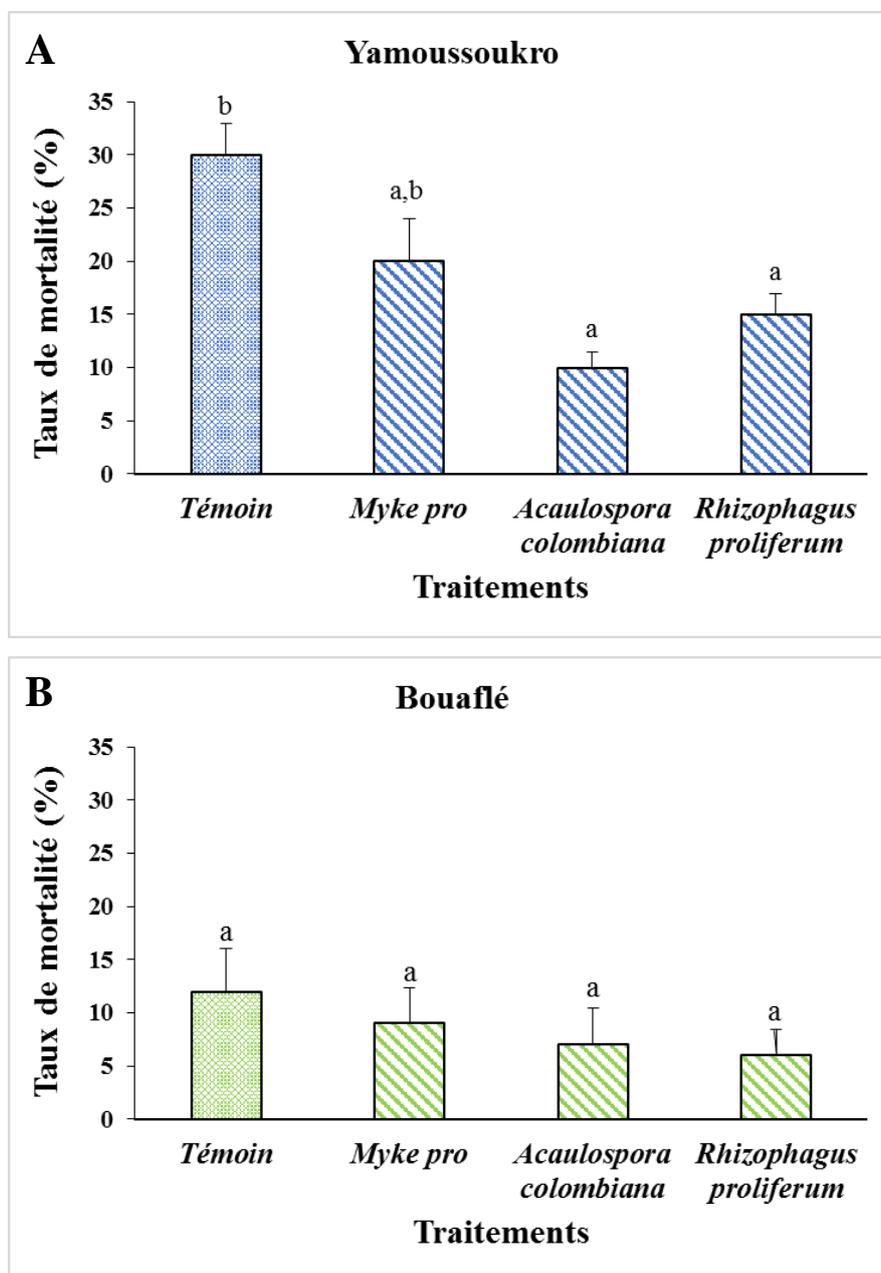
Au niveau du site de Bouaflé, le taux de mortalité des parcelles non inoculés est en moyenne de 12 %. Cependant, les taux de mortalité au niveau des plants mycorhizés ne sont pas significativement ( $p = 1,312$ ) différents de ceux des plants non inoculés



**Figure 10.2:** Teneurs en phénols totaux des plants de bananier plantain trois mois après plantation

A : Yamoussoukro ; B : Bouaflé. Barre : Erreur standard

(Les histogrammes portant les mêmes lettres ne sont pas différents significativement selon le test HSD de Tukey au seuil 5%)



**Figure 10.3:** Taux de mortalité des plants de bananier plantain trois mois après plantation

A : Yamoussoukro ; B : Bouaflé. (Les histogrammes portant les mêmes lettres ne sont pas différents significativement selon le test HSD de Tukey au seuil 5%)

## 10.2.4. Croissance et performance des vivoplants en champ

La hauteur, la circonférence, le nombre de feuilles, la surface foliaire et la biomasse sèche des plants de bananier plantain du site Bouaflé sont significativement ( $p < 0,001$ ) plus élevés que ceux du site de Yamoussoukro.

### 10.2.4.1. Site de Yamoussoukro

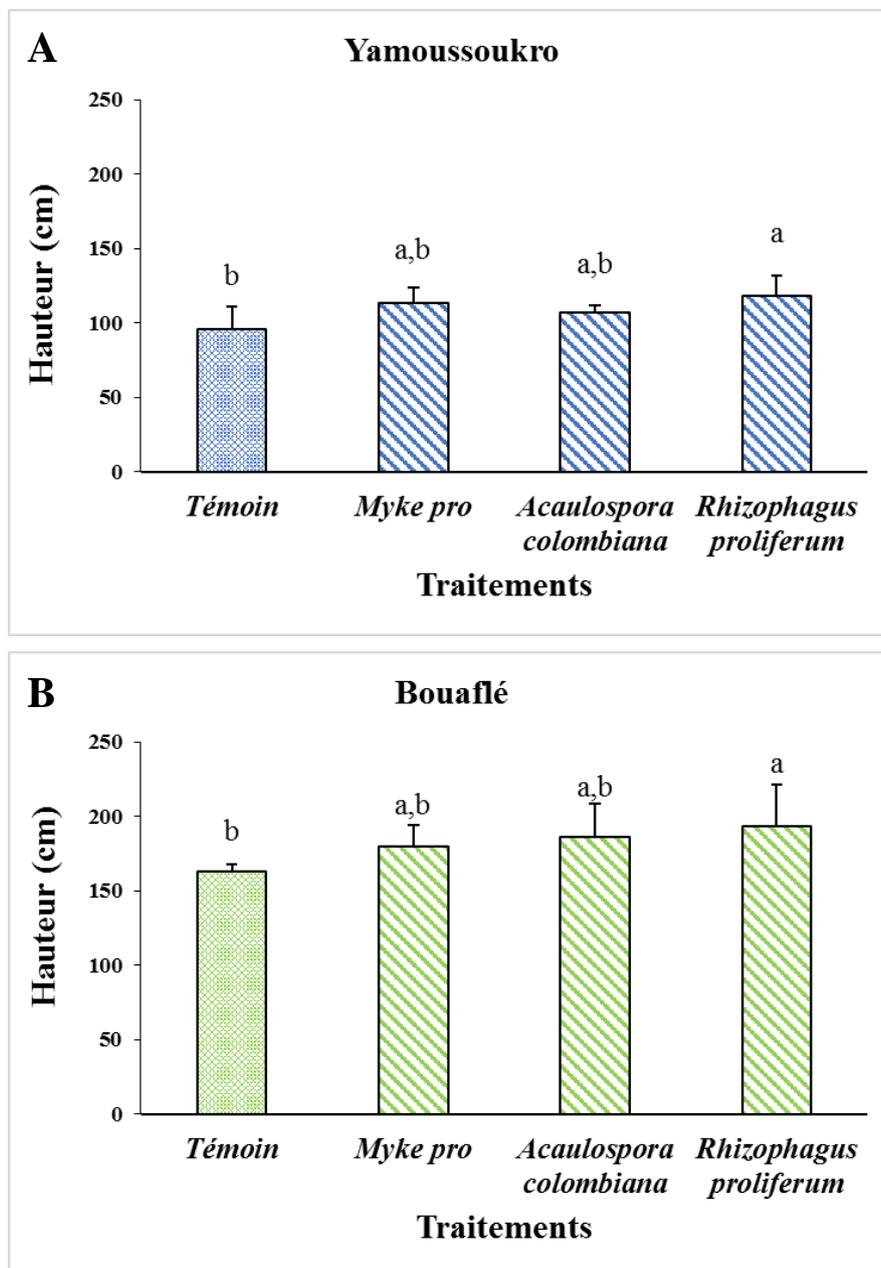
Sur le site de Yamoussoukro, la croissance des plants a été significativement affectée par l'application de produits mycorhiziens. La souche *Rhizophagus proliferum* a induit une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) de la hauteur des plants de 23,69% par rapport aux témoins non inoculés à Yamoussoukro (Figure 10.4). L'inoculation avec Myke Pro et *Rhizophagus proliferum* permet d'augmenter significativement ( $p = 0,04$ ) le diamètre au collet des vivoplants respectivement de 14,71% et 7,19% par rapport aux témoins non inoculés (Figure 10.5).

La surface des feuilles des plants inoculés est statistiquement plus élevée ( $p < 0,05$ ) que celle des témoins non inoculés (Figure 10.7). Les inoculants locaux ont augmenté la surface foliaire de 26,65 % (*Acaulospora colombiana*) et 51,29 % (*Rhizophagus proliferum*) tandis que le produit commercial Myke Pro l'a augmenté de 34,81 % par rapport au témoin. Tous les traitements ont statistiquement les mêmes effets ( $p > 0,05$ ) sur le nombre de feuilles (Figure 10.6).

### 10.2.4.2. Site de Bouaflé

Sur le site de Bouaflé, les inoculants mycorhiziens ont eu un impact significatif sur la croissance des plants. La souche *Rhizophagus proliferum* permet d'augmenter significativement la hauteur ( $p = 0,04$ ) des plants de 18,97 % (Figure 10.4) ainsi que la surface foliaire ( $p = 0,04$ ) de 51,9 % (Figure 10.7) par rapport aux témoins non inoculés. L'inoculation avec les souches *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora colombiana* a augmenté significativement ( $p = 0,04$ ) le diamètre au collet des plants respectivement de 22,50 % et 15,87 % par rapport aux témoins non inoculés (Figure 10.5). Le nombre de feuilles de plants inoculés avec les souches locales est significativement plus élevé ( $p = 0,04$ ) à celui de plants non inoculés. Cependant, la souche commerciale (Myke Pro) n'a pas augmenté significativement la hauteur et le diamètre au collet et le nombre de feuilles des vivoplants.

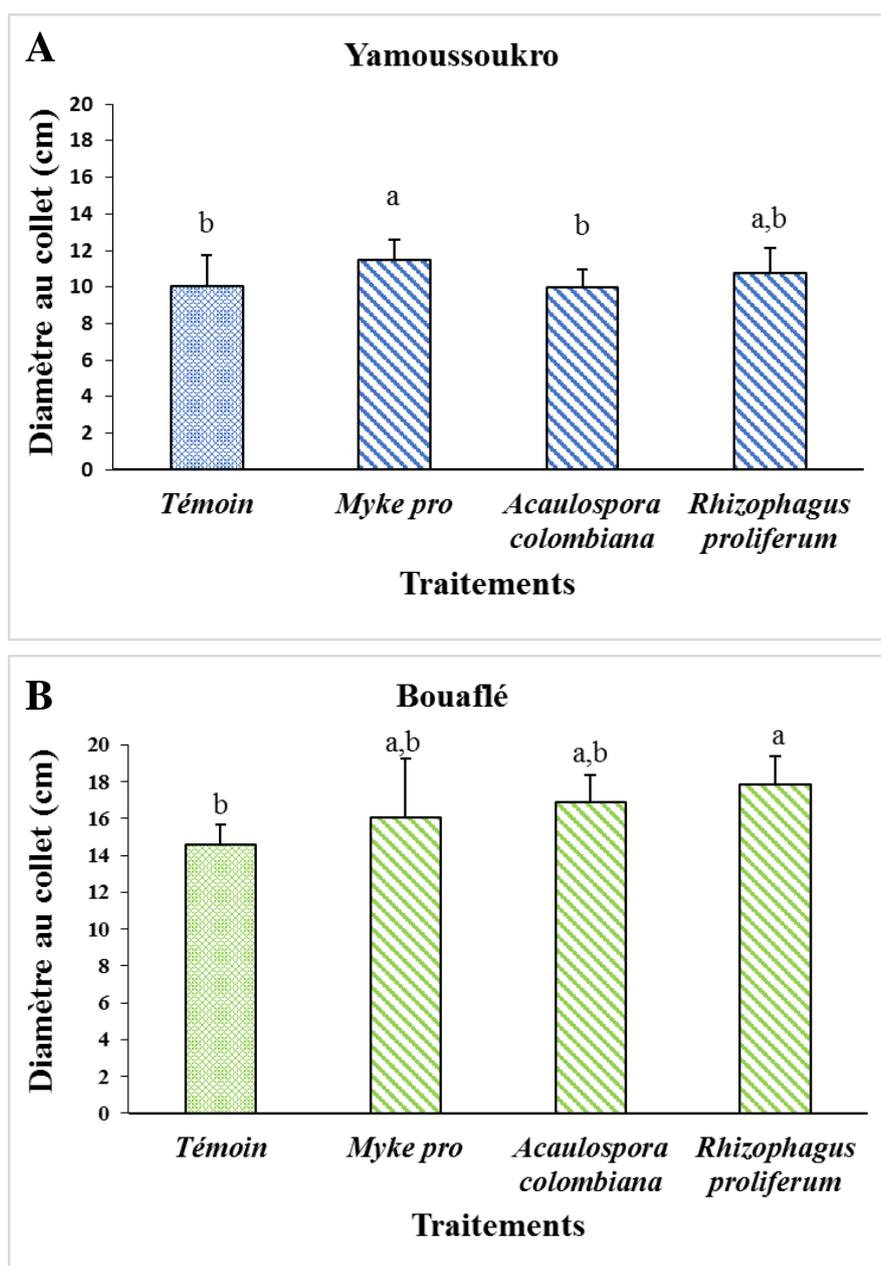
Les souches locales ont aussi augmenté de façon significative le nombre de feuilles des plants inoculés ( $p < 0.001$ ) respectivement de 20,22% (*Acaulospora colombiana*) et de 13,22% (*Rhizophagus proliferum*) par rapport aux témoins (Figure 10.6).



**Figure 10.4:** Hauteur des plants de bananier plantain neuf mois après plantation

A : Yamoussoukro ; B : Bouaflé. Barre : Erreur standard

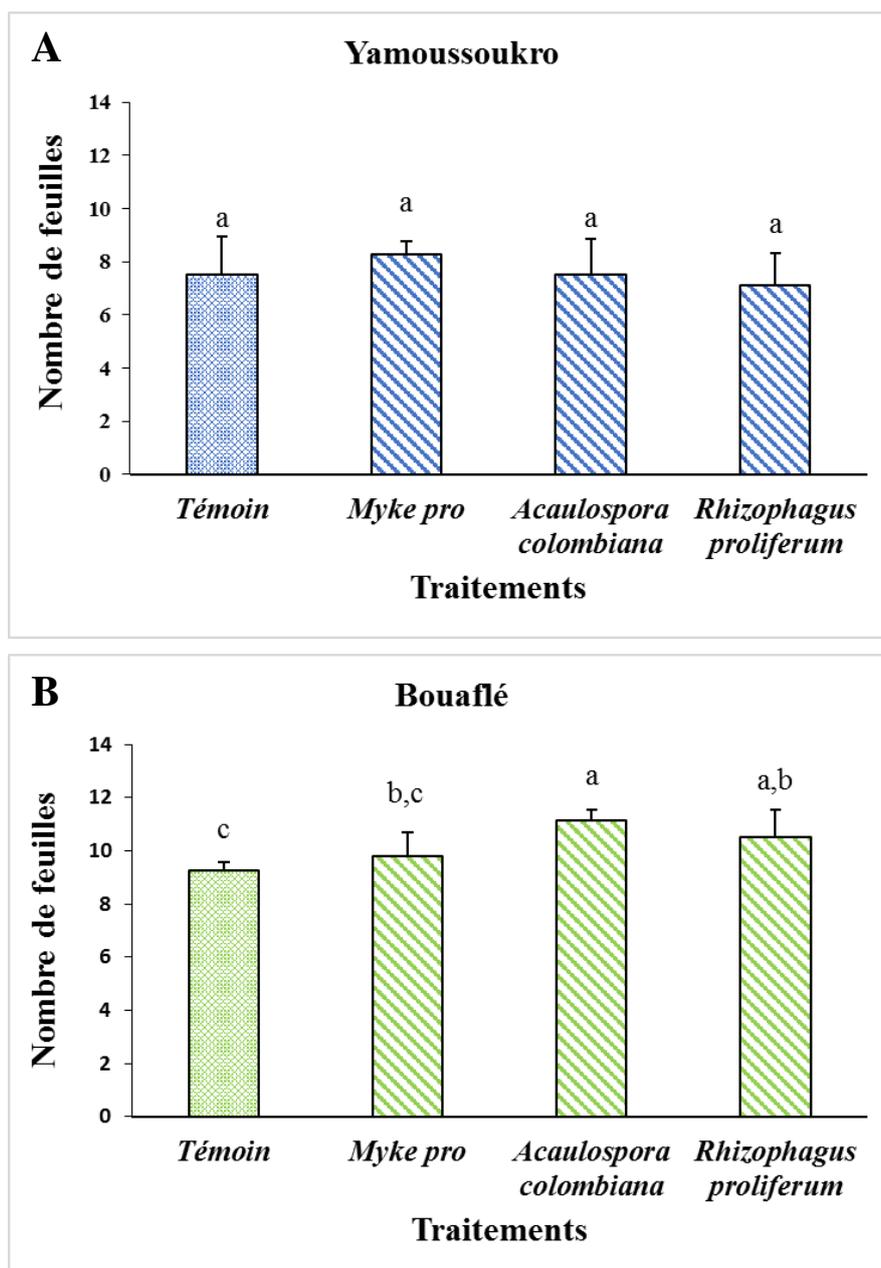
(Les histogrammes portant les mêmes lettres ne sont pas différents significativement selon le test HSD de Tukey au seuil 5%)



**Figure 10.5:** Diamètre au collet des plants de bananier plantain neuf mois après plantation

A : Yamoussoukro ; B : Bouaflé. Barre : Erreur standard

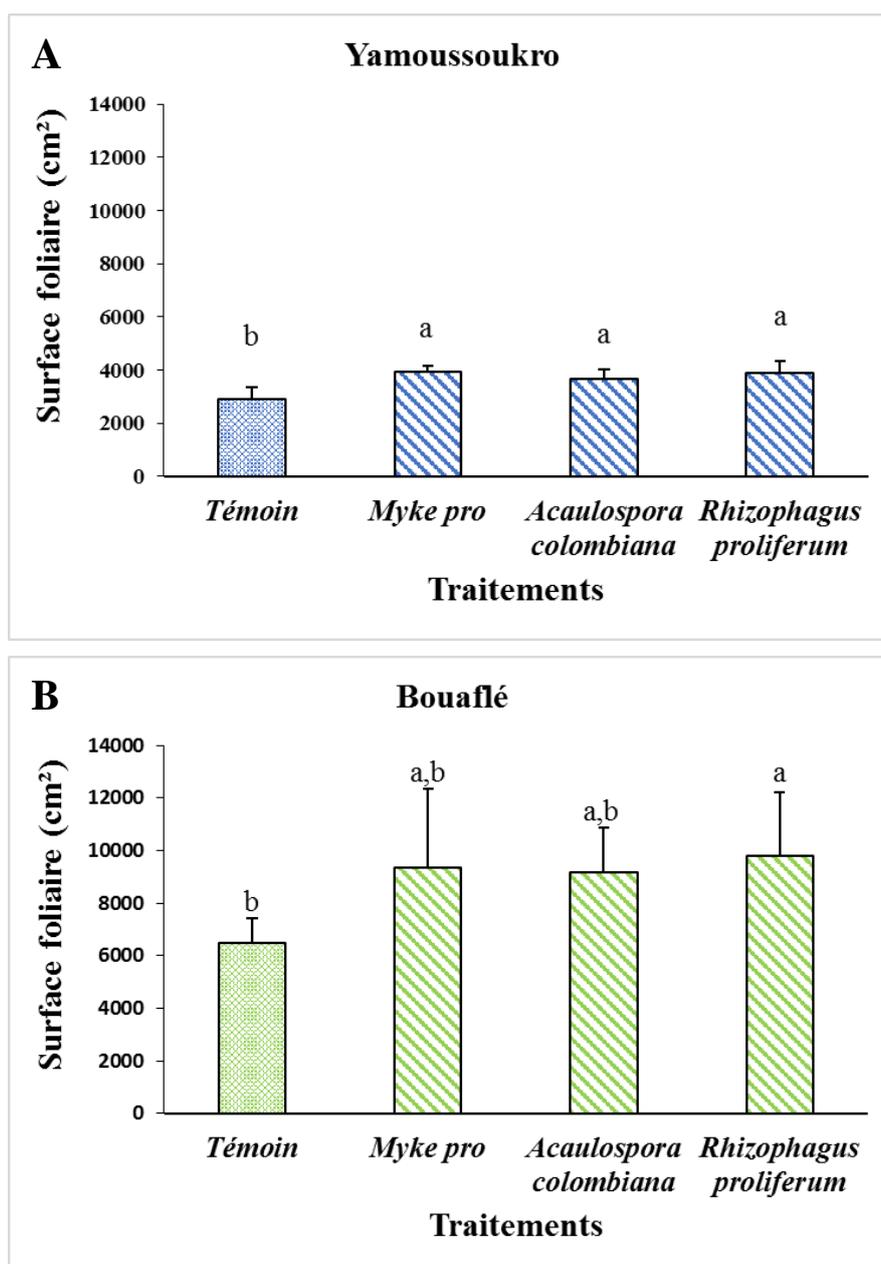
(Les histogrammes portant les mêmes lettres ne sont pas différents significativement selon le test HSD de Tukey au seuil 5%)



**Figure 10.6:** Nombre de feuilles des plants de bananier plantain neuf mois après plantation

A : Yamoussoukro ; B : Bouaflé. Barre : Erreur standard

(Les histogrammes portant les mêmes lettres ne sont pas différents significativement selon le test HSD de Tukey au seuil 5%)



**Figure 10.7:** Surface foliaire des plants de bananier plantain neuf mois après plantation

A : Yamoussoukro ; B : Bouaflé. Barre : Erreur standard

(Les histogrammes portant les mêmes lettres ne sont pas différents significativement selon le test HSD de Tukey au seuil 5%)

## 10.2.5. Biomasse sèche totale des plants de bananier plantain

### 10.2.5.1. Site de Yamoussoukro

Sur le site de Yamoussoukro, les plantes traitées avec les souches locales ont les poids de biomasse sèche les plus élevés significativement ( $p < 0,0001$ ) comparé aux témoins non inoculés. Les poids de biomasse sèche produite par les souches *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum* sont respectivement de 1812,19 g et de 1736,346 g. (Tableau 10.5)

### 10.2.5.2. Site de Bouaflé

Sur le site de Bouaflé, les plants traités avec les inoculants mycorhiziens locaux ont également une biomasse sèche statistiquement plus importante ( $p < 0,0001$ ) que celle des témoins non inoculés. *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum* ont permis un accroissement de la biomasse sèche respectivement de 38,87 % et de 60,70 % par rapport au témoin non inoculé (Tableau 10.5).

**Tableau 10.5** : Biomasse sèche des plants de bananier plantain sur les sites de Yamoussoukro et de Bouaflé

Traitements	Biomasse sèche (g)	
	Yamoussoukro	Bouaflé
<b>Témoin</b>	1022,92 ± 254,75 c	1702,28 ± 238,37 b
<b>Myke Pro</b>	1406,32 ± 313,72 b,c	1947,37 ± 77,35 a,b
<i>Acaulospora colombiana</i>	1812,2 ± 215,73 a	2364,03 ± 267,98 a
<i>Rhizophagus proliferum</i>	1736,35 ± 425 a,b	2735,52 ± 326,10 a
<b>Sites</b>	<b>p &lt; 0,0001</b>	
	<b>F = 50,813</b>	
<b>Traitements</b>	<b>p &lt; 0,0001</b>	
	<b>F = 16,521</b>	
<b>Site × Traitements</b>	<b>p = 0,2734</b>	
	<b>F = 1,357</b>	

(Les valeurs de la même colonne portant des lettres identiques ne sont pas différentes significativement selon le test HSD de Tukey au seuil 5%)

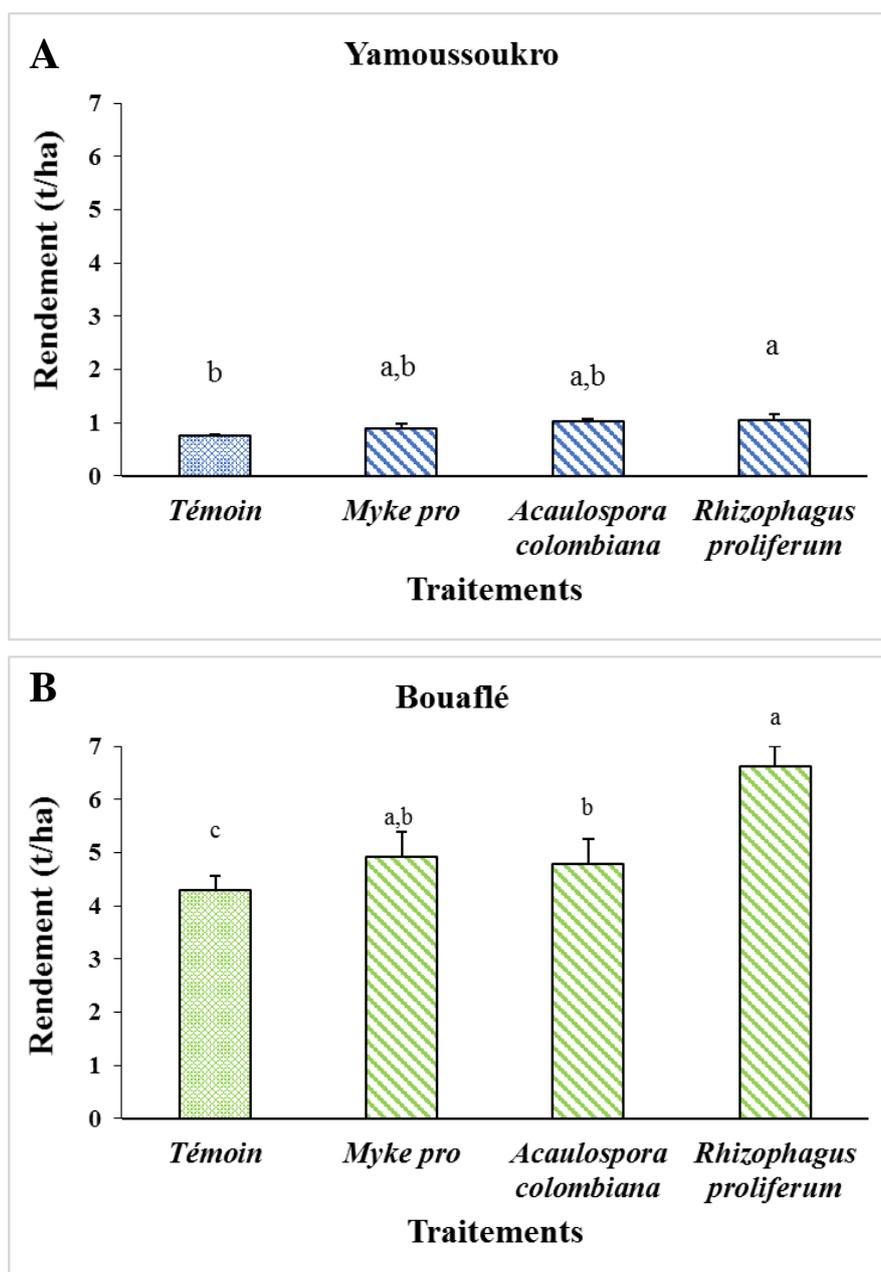
## 10.2.6. Rendement en régimes frais sur des vivoplants

### 10.2.6.1. Site de Yamoussoukro

L'évaluation du rendement sur le site de Yamoussoukro révèle que les inoculants mycorhiziens avaient un effet significatif ( $p < 0,0001$ ) sur le poids frais des fruits. Les plantes non inoculées ont un rendement moyen de 0,74 tonnes/ha. La souche *Rhizophagus proliferum* a induit la plus forte augmentation de rendement de 40,17 % par rapport au témoin non inoculé. Le rendement moyen des plants inoculé avec cette souche s'élève à 1,05 tonnes/ha (Figure 10.8).

### 10.2.6.2. Site de Bouaflé

Quant au rendement évalué sur le site de Bouaflé, l'analyse montre que les inoculants mycorhiziens avaient un effet très significatif ( $p < 0,0001$ ) sur le poids des régimes de banane plantain. Les plantes non inoculées ont un rendement moyen de 4,29 tonnes/ha. La souche *Rhizophagus proliferum* a induit la plus forte augmentation de rendement de 54,29 % suivie des souches Myke Pro (14,57 %) et *Acaulospora colombiana* (11,45 %) par rapport au témoin non inoculé (Figure 10.8).



**Figure 10.8:** Rendements en régimes frais des vivoplants de bananier plantain.

A : Yamoussoukro ; B : Bouaflé. Barre : Erreur standard

(Les histogrammes portant les mêmes lettres ne sont pas différents significativement selon le test HSD de Tukey au seuil 5%)

Au terme de ce chapitre portant sur l'évaluation de l'ingénierie endomycorhizienne sur la productivité du bananier plantain, il ressort que :

- **En phase d'acclimatation**

- Les souches locales colonisent efficacement les racines de bananier plantain des cultivars Orishele et FHIA 21 ;
- La mycorhization a des effets bénéfiques sur la croissance végétative des vivoplants de bananier plantain ;
- La mycorhization améliore la teneur en chlorophylle a et la production de biomasse des plants de bananier plantain ;
- Les souches *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum* ont eu les meilleurs effets sur la croissance des vivoplants.

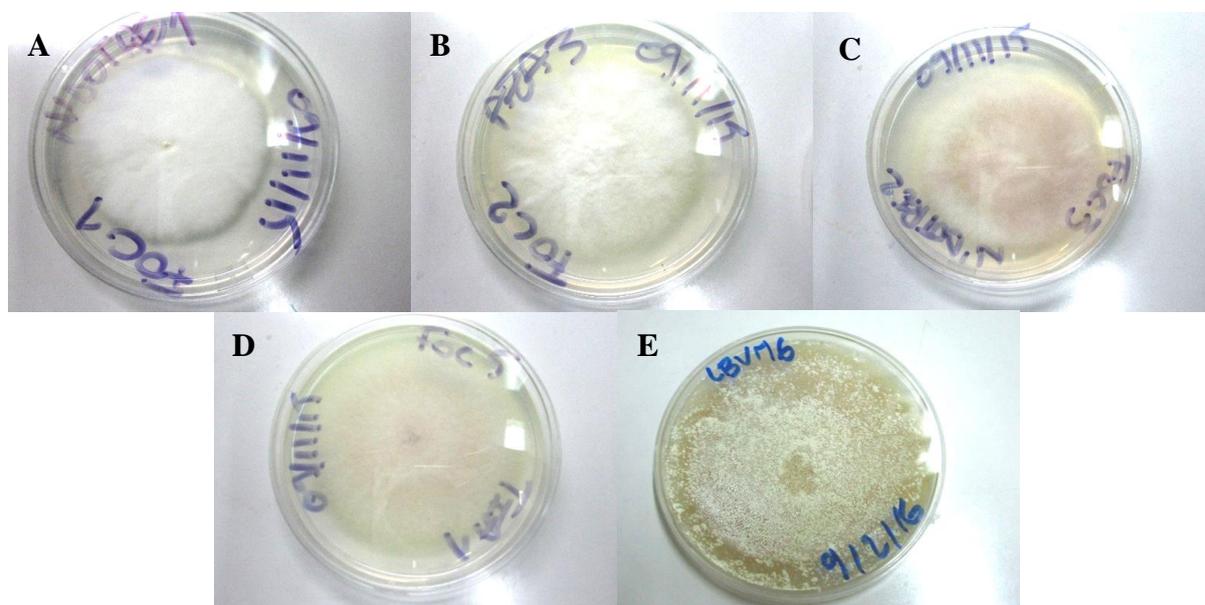
- **En champ**

- Les souches de CMA induisent une meilleure vigueur des vivoplants avec des taux en phénols totaux élevés et des taux de mortalité faibles ;
- Les souches locales (*Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum*) ont une meilleure efficacité sur la croissance végétative des vivoplant de bananier plantain ;
- Les plants inoculés avec la souche locale *Rhizophagus proliferum* ont les meilleurs rendements en poids de regimes frais.

## CHAPITRE 11. Identification par approche moléculaire des champignons endophytes isolés du bananier plantain

### 11.1. Isolement des morphotypes d'endophytes

A la suite de la purification des cultures mycéliennes, cinq souches de champignons endophytes ont été obtenues. Ce sont les souches : LBVM Ba.0001, LBVM Ba.0002, LBVM Ba.0003, LBVM Ba.0005, et LBVM Ba.0006 (Figure 11.1).



**Figure 11.1:** Cultures des souches d'endophytes isolées

A : LBVM Ba.0001; B : LBVM Ba.0002; C : LBVM Ba.0003; D : LBVM Ba.0005; et E: LBVM Ba.0006

### 11.2. Mise en évidence de souches de *Fusarium solani*

Après le séquençage des amplicons des souches LBVM Ba.0002, LBVM Ba.0003 et LBVM Ba.0005, les séquences suivantes ont été obtenues :

>LBVM Ba.0002 (516 pb) :

5'-

```
CCTGTGCCATACCTATAACGTTGCCTCGGCGGGAACAGACGGCCCCGTAACACGGGCCGCCCGCCAGAGGACCCCTAAC
TCTGTTTCTATAATGTTTCTTCTGAGTAAACAAGCAAATAAATTAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGCTCTGGCATCGATG
```

AAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCG  
 CAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTTGGGGATCGGCGGAAGCCC  
 CCTGCGGGCACAACGCCGTCCCCAAATACAGTGGCGGTCCCGCCGAGCTTCCATTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTG  
 GAGAGCGGCGCGGCCACGCCGTAAAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGAATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAG  
 CATATCAATAAGCGGAGGAA-3'

**>LBVM Ba.0003 (516 pb) :**

5'-

CCTGTGCAATACCTATAACGTTGCCTCGGCGGGAACAGACGGCCCCGTAACACGGGCCGCCCCGCCAGAGGACCCCTAAC  
 TCTGTTTCTATAATGTTTCTTCTGAGTAAACAAGCAAATAAATAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATG  
 AAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCG  
 CAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTTGGGGATCGGCGGAAGCCC  
 CCTGCGGGCACAACGCCGTCCCCAAATACAGTGGCGGTCCCGCCGAGCTTCCATTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTG  
 GAGAGCGGCGCGGCCACGCCGTAAAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGAATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAG  
 CATATCAATAAGCGGAGGAA-3'

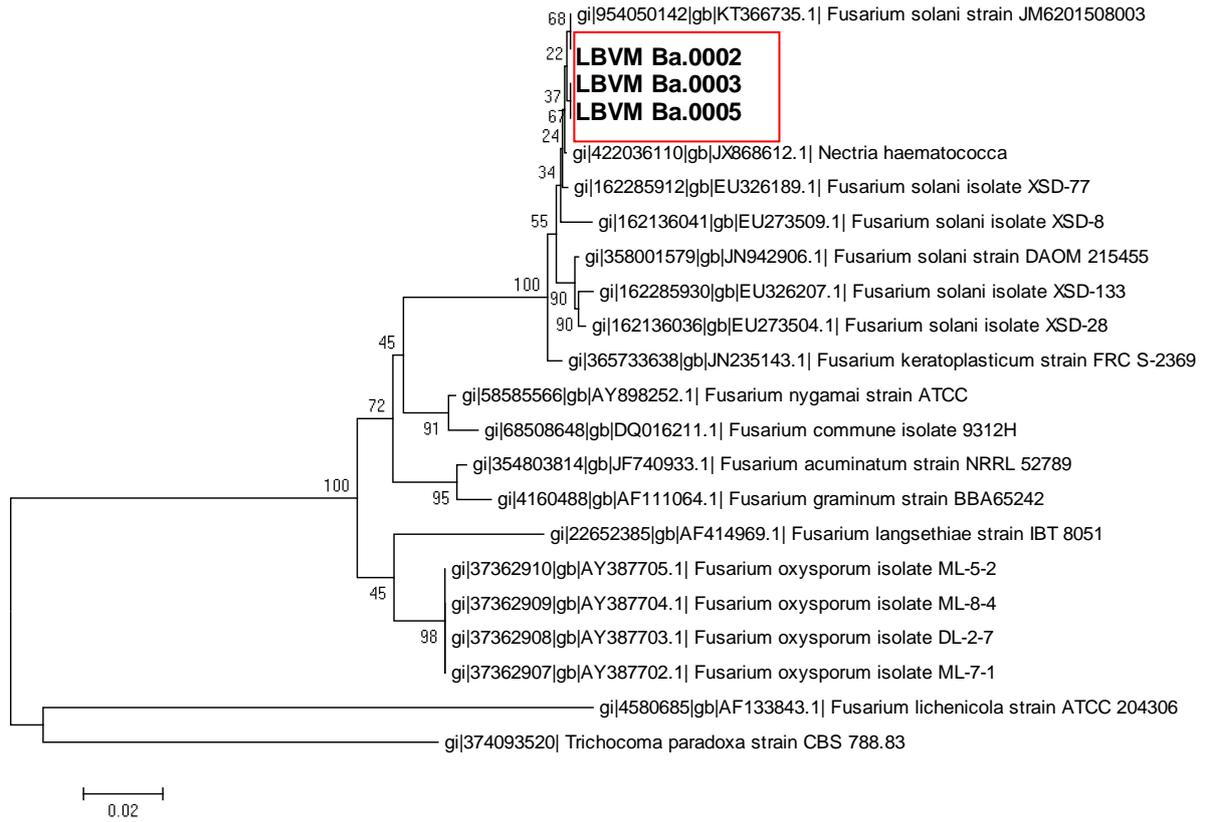
**>LBVM Ba.0005 (506 pb) :**

5'-

TACCTATAACGTTGCCTCGGCGGGAACAGACGGCCCCGTAACACGGGCCGCCCCGCCAGAGGACCCCTAACTCTGTTTCTA  
 TAATGTTTCTTCTGAGTAAACAAGCAAATAAATAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCA  
 GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTG  
 GCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTTGGGGATCGGCGGAAGCCCCCTGCGGGC  
 ACAACGCCGTCCCCAAATACAGTGGCGGTCCCGCCGAGCTTCCATTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAGAGCGG  
 CGCGGCCACGCCGTAAAAACACCCAACCTTCTGAATGTTGACCTCGAATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA  
 TAAgCGGAgGA-3'

Le BLAST a permis de trouver que les séquences des souches LBVM Ba.0002 (score = 950) et LBVM Ba.0003 (score = 946) ont une homologie de 99 % avec la souche *Fusarium solani* JM6201508003 (Séquence ID : KT366735.1) de la base de données GenBank.

Quant à la souche LBVM Ba.0005, sa séquence a une homologie de 100 % (score = 935) avec la souche *Nectria haematococca* (Séquence ID : AY310442.1) de la base de données GenBank L'analyse phylogénétique a permis de construire l'arbre ci-après. (Figure 11.2)



**Figure 11.2:** Arbre présentant la position phylogénétique des souches LBVM Ba.0002, LBVM Ba.0003 et LBVM Ba.0005.

## 11.3. Mise en évidence d'endophytes de biocontrôle chez le bananier plantain

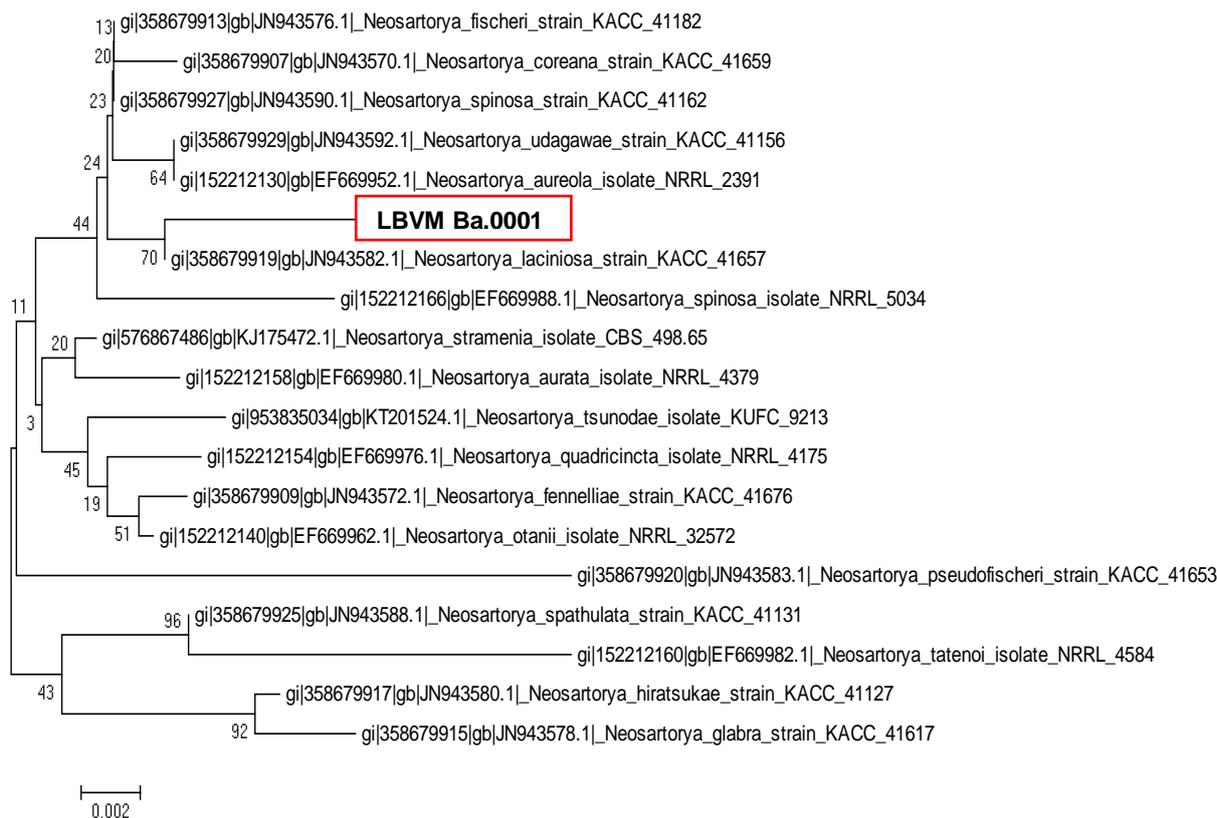
### 11.3.1. Identification d'une souche de *Neosartorya laciniosa*

Après le séquençage de l'amplicon de la souche LBVM Ba.0001, la séquence suivante de 542 pb a été obtenue :

5'-

```
GTCGCCTCCCGCCCGTGTCTATCGTACCTTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGTTTCGACGGCCGCCGGGAGGCC
TCGCGCCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGAAGACCCCAACATGAACGCTGTTCTGAAAGTATGCAGTCTGAGTTGA
TTATCATAATCAGTTAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCGGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGC
GATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCG
GGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGCCCCGTCCTCCCTACCCCGG
GGACGGGCCCCGAAAGGCAGCGGCGCACCGCGTCCGGTCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCTGTA
GGCCCCGGCCGCGCCAGCCGACACCCAACCTTTATTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATAACCCGCTG
AACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA-3'
```

Le BLAST a permis de trouver que la séquence de la souche LBVM Ba.0001 a une homologie de 99 % (score = 990) avec la souche *Neosartorya laciniosa* CCF : 1734 (Séquence ID : FR733875.1) de la base de données GenBank. (Figure 11.3)



**Figure 11.3 :** Arbre présentant la position phylogénétique de la souche LBVM Ba.0001

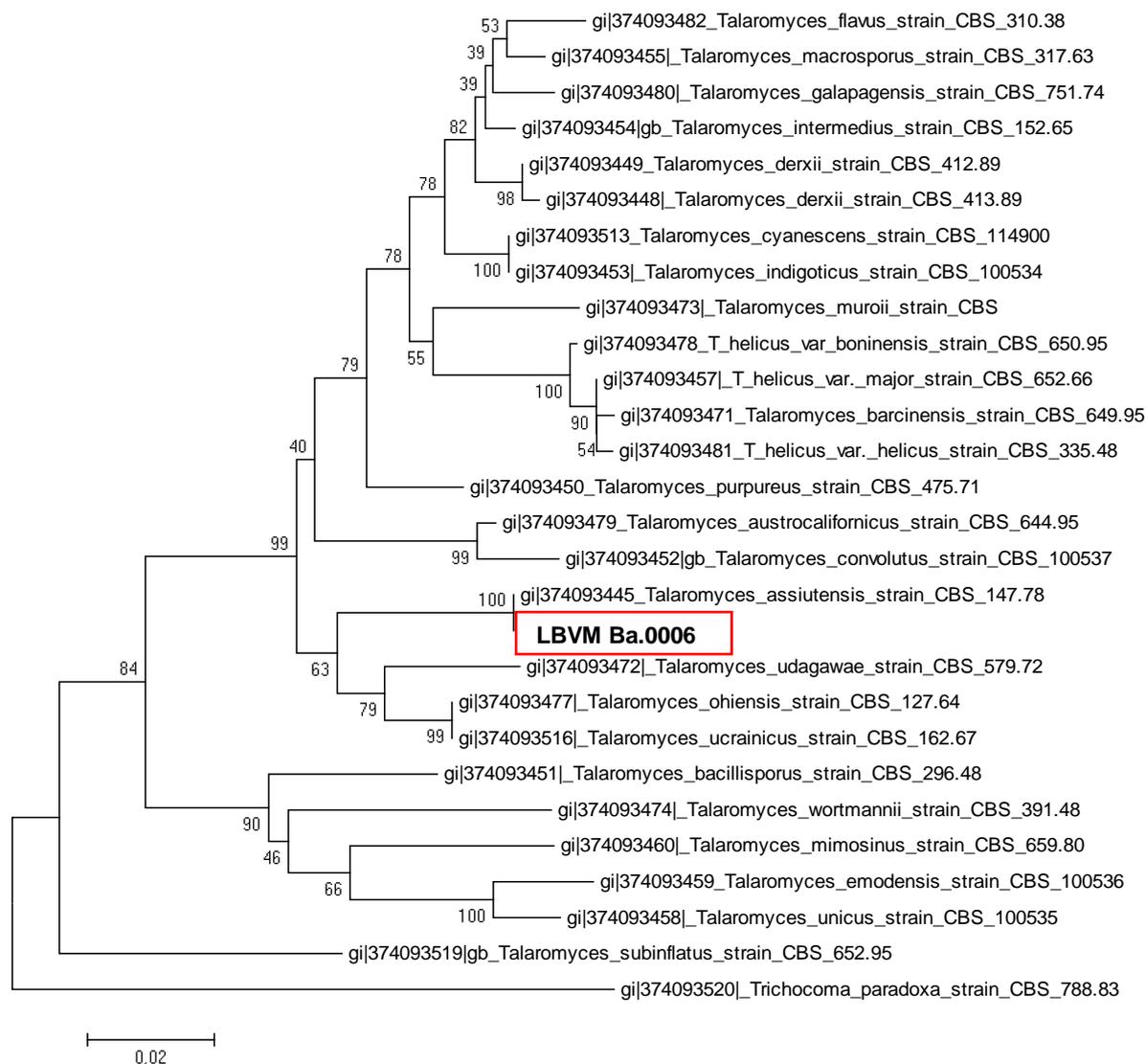
### 11.3.2. Identification d'une souche de *Talaromyces assiutensis*

Après le séquençage de l'amplicon de la souche LBVM Ba.0006, la séquence suivante de 548 pb a été obtenue :

5'-

```
CTGGGCCGACCTCCCACCCGTGTCTCTCGCGTACTTTGTTGCTTTGGCGGGCCCACTGGGTCCTCCGGTCGCCGGGGAGCGC
TATGCTCCCGGGCCCGTGCCCGCCAGAGCACCCCTGTGAACCCTGATGAAGAGAGGCTGTCTGAGTCCACGATAATCGTTAA
AACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTC
CGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCTGCCCTC
AAGCGCGGCTTGTGTGTTGGGCGTGGTCCCCCTGGCTTTGGCGGGGACCTGCCCGAAAGGCAGCGGCGACGTCCCGCCTAGT
CCTCGAGCGTATGGGGCTCTGTACGCGCTCGGGAGGGACTGGTGGGCGTTGGTCACCCCTTATTCTTTCTACGGTTGACCTC
GGATCAGGTAGGAGTTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA -3'
```

Le BLAST a permis de trouver que les séquences des souches LBVM Ba.0006 présente une homologie de 99 % (score = 979) avec la souche *Talaromyces assiutensis* NFML\_CH56\_421 (Séquence ID : KM458833.1) de la base de données GenBank. (Figure 11.4)



**Figure 11.4 :** Arbre présentant la position phylogénétique de la souche LBVM Ba.0006

Au terme de ce chapitre, l'identification moléculaire des champignons endophytes isolés du bananier plantain a permis de mettre en évidence deux groupes d'endophytes :

- Deux agents de biocontrôle potentiels : LBVM Ba.0001 (*Neosartorya laciniosa*) et LBVM Ba.0006 (*Talaromyces assiutensis*) ;
- Trois pathogènes potentiels du bananier plantain : LBVM Ba.0002, LBVM Ba.0003 (*Fusarium solani*) et LBVM Ba.0005 (*Nectria heamatococca*).

## CHAPITRE 12. Évaluation *in vitro* de l'effet de *Neosartorya laciniosa* et de *Talaromyces assiutensis* sur *Fusarium solani*

Cette étude vise à mettre en évidence l'activité potentielle de biocontrôle *in vitro* des souches *Neosartorya laciniosa* et *Talaromyces assiutensis* vis à vis des souches de *Fusarium solani*, pathogènes potentiels du bananier plantain.

### 12.1. Antagonisme en confrontation directe

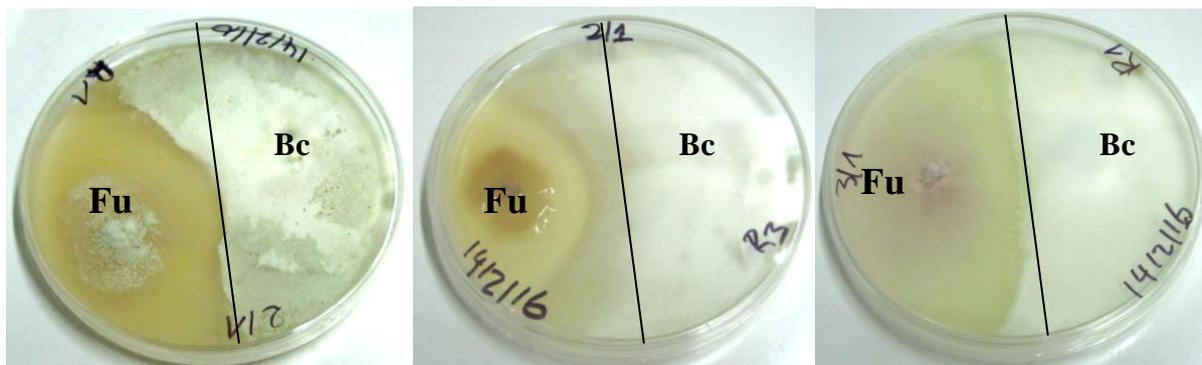
La colonisation de la souche *Neosartorya laciniosa* est en moyenne de 55 %, 62,5 % et de 75 % respectivement vis-à-vis des souches LBVM Ba.0002, LBVM Ba.0003 et LBVM Ba.0005.

La souche de *Talaromyces assiutensis* a des pourcentages de colonisation de 50,6 %, 58,3 % et 60,75 % respectivement en confrontation avec les souches LBVM Ba.0002, LBVM Ba.0003 et LBVM Ba.0005 (Tableau 12.1).

La Figure 12.1 montre quelques exemples d'inhibition de la croissance de *Fusarium solani* par un agent de biocontrôle.

**Tableau 12.1:** Valeurs de la colonisation des souches *Neosartorya laciniosa* et *Talaromyces assiutensis* lors de la confrontation directe

Souches	Colonisation (%)		
	LBVM Ba.0002	LBVM Ba.0003	LBVM Ba.0005
<i>Neosartorya laciniosa</i>	55 ± 2,5%	62,5 ± 3,25%	75 ± 2,75%
<i>Talaromyces assiutensis</i>	50,6 ± 1,5%	58,3 ± 3,5%	60,75 ± 1,75%
Rangs de Kruskal-Wallis			
<i>Neosartorya laciniosa</i>	15	14	15
<i>Talaromyces assiutensis</i>	6	7	6
	<b>p = 0,049</b>	p = 0,126	<b>p = 0,049</b>

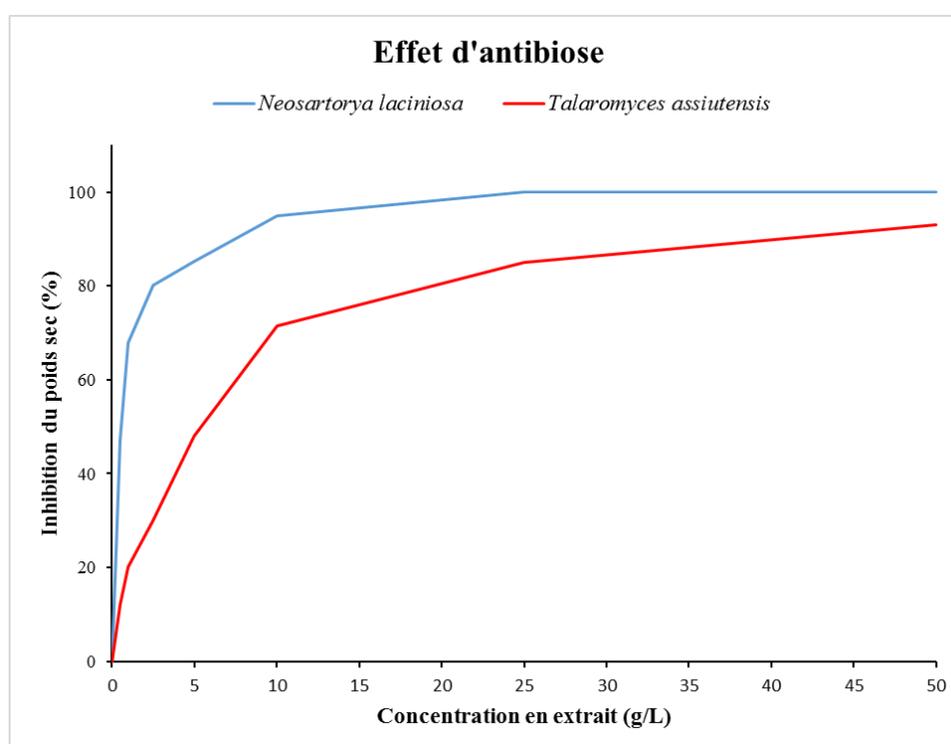


**Figure 12.1:** Confrontation directe entre une souche de biocontrôle (Bc) et la souche de *Fusarium* (Fu)

Bc : Biocontrôle ; Fu : Souche de *Fusarium*

## 12.2. Mise en évidence de l'effet d'antibiose

Après sept jours de culture, la concentration d'inhibition de 50 % (CI<sub>50</sub>) de la culture de *Fusarium solani* est de 0,8 g/L et la concentration d'inhibition de 90 % (CI<sub>90</sub>) de cette culture par la souche *Neosartorya laciniosa* est de 7,6 g/L. Quant à la souche *Talaromyces assiutensis*, les concentrations d'inhibition de 50 % et 90 % de la culture de *Fusarium solani* sont respectivement : CI<sub>50</sub> = 5,6 g/L et CI<sub>90</sub> = 40,5 g/L (Figure 12.2)



**Figure 12.2 :** Courbe de l'inhibition de la croissance de *Fusarium solani* par les souches de *Neosartorya laciniosa* et *Talaromyces assiutensis* après sept jours de culture.

Au terme ce chapitre portant sur l'évaluation *in vitro* de l'effet de *Neosartorya laciniosa* et de *Talaromyces assiutensis* sur *Fusarium solani*, il ressort que :

- En confrontation directe, Les deux souches de biocontrôle ont une meilleure colonisation de la boîte de Petri par rapport à aux pathogènes avec la présence d'une zone de réaction d'antibiose ;
- L'utilisation des extraits de culture des agents de biocontrôle permet d'inhiber la croissance de *Fusarium solani* : *Neosartorya laciniosa* (CI<sub>50</sub> = 0,8 g/L et CI<sub>90</sub> = 7,6 g/L) et *Talaromyces assiutensis* (CI<sub>50</sub> = 5,6 g/L et CI<sub>90</sub> = 40,5 g/L)

## **QUATRIÈME PARTIE : DISCUSSION**

Le présent travail de recherche se situe dans un contexte global de caractérisation des communautés de CMA associées au bananier plantain dans trois zones d'études (Abengourou, Azaguié et Bouaflé) en Côte d'Ivoire. Les sites choisis dans le cadre de l'étude sont situés dans des zones agroécologiques différentes à forte production de banane plantain (Traoré *et al.*, 2009). Une première approche se basant sur la morphologie des spores de CMA, réalisée par Fotso (2016), a montré une grande diversité de ces microorganismes. Cependant, l'analyse morphologique des spores de CMA isolées à partir de sols ne reflète pas nécessairement la diversité en CMA colonisant les racines des plantes (Clapp *et al.*, 1995; Stukenbrock & Rosendahl, 2005). Par ailleurs, les clés d'identification ne permettent pas toujours une identification des souches au niveau de l'espèce.

La présente étude est la première à caractériser la diversité des CMA associés au bananier plantain en Côte d'Ivoire en utilisant la technique de nouvelle génération de séquençage Illumina Miseq. Cette approche tient donc compte des espèces ayant sporulé aussi bien que de celles n'ayant pas sporulé au moment du prélèvement des échantillons de l'étude. Aussi, elle permet d'éviter les confusions au niveau taxons par l'utilisation de marqueurs moléculaires spécifiques (Van Tuinen *et al.*, 1998), et de bases de données génomiques régulièrement actualisées. La connaissance de la structure et de la diversité des CMA devrait aider dans la sélection des souches d'intérêt en vue de la constitution d'une banque de CMA, étape nécessaire pour une production ultérieure d'inoculum. Les CMA font partie du grand groupe des champignons endophytes. Les endophytes, dont un nombre important présente des potentialités avérées (Saikkonen *et al.*, 2004), pourraient jouer un rôle important dans les systèmes de culture de bananier plantain.

Dans cette première partie, il était primordial de commencer par une étude prospective au niveau de différentes zones de culture de bananier plantain en Côte d'Ivoire. Ainsi les caractéristiques physico-chimiques des différents échantillons de sols des rhizosphères de bananier plantain ont été déterminées afin de mieux appréhender le milieu de vie et de développement des communautés de CMA. Les sols limoneux sableux, en général ont une texture favorable à la culture du bananier plantain et au développement de CMA (Sreevani & Reddy, 2004). Au niveau du pH, les sols de la zone d'Azaguié sont généralement les plus acides. Les sols des sites échantillonnés sont pauvres à très pauvres en phosphore assimilable. La pauvreté en phosphore assimilable est caractéristique des sols tropicaux selon Bationo *et al.* (1986).

La mise en évidence de 359.945 séquences appartenant à 1115 OTU des 36 échantillons de sols démontre que les bananeraies ivoiriennes contiennent des communautés de CMA abondantes et diverses. Une des premières études, ayant utilisé les techniques avancées NGS pour l'identification des communautés de CMA, a été réalisée par Peyret-Guzzon (2014). La technique de pyroséquençage 454 a été adoptée avec l'utilisation du gène RPB1 codant pour la sous-unité de l'ARN polymérase II (Helgason *et al.*, 1999). Cette étude avait permis d'obtenir 51,106 séquences appartenant à 62 OTU de 8 échantillons racines analysés.

Vingt-sept espèces appartenant à 13 genres et 7 familles de CMA ont été identifiées. Les sols de la zone d'Abengourou contenant 19 espèces contre 20 pour la zone d'Azaguié et 24 pour la zone de Bouaflé. La famille des Glomeraceae est la plus représentée en termes d'espèces (11 espèces). Cependant la famille des Acaulosporaceae reste la plus abondante en termes de séquences (46 % du nombre total de séquences). L'étude morphologique menée par Fotso (2016) sur les mêmes échantillons avait permis d'identifier entre 30 et 40 espèces par zone d'étude, et d'observer une abondance des Glomeraceae suivies des Acaulosporaceae. Cette différence pourrait être due à la variation constante des clés d'identification des spores des CMA qui font l'objet de consensus au sein de la communauté scientifique (Morton, 2016).

La richesse relative des sols en communautés de CMA serait due aux conditions pédologiques favorables. En effet, selon Smith & Read (1997), le rôle de la symbiose mycorhizienne est d'autant plus important que le sol est pauvre en phosphore. Les pratiques agricoles à faibles intrants, adoptées par l'ensemble des paysans des zones prospectées, favoriseraient le développement de ces microorganismes. Ce, d'autant plus qu'en l'absence d'amendements réguliers, les plantes sollicitent plus les communautés CMA afin de combler leur déficit en éléments nutritifs.

L'ACP sur les paramètres physico-chimiques et les indices de richesse et de biodiversité a permis de grouper les sites des zones d'Azaguié et de Bouaflé, pendant que les sites d'Abengourou étaient dispersés dans le plan. Cela indiquerait que les sols de chacune des zones d'Azaguié et de Bouaflé contiennent des communautés de CMA dont les caractéristiques varient peu d'un site à un autre, ainsi que des caractéristiques physico-chimiques similaires d'un site à un autre. Cependant les sites de la zone d'Abengourou sont plus hétérogènes avec la plus grande richesse spécifique (Abengourou 2).

L'abondance et la grande diversité des Glomerales (11 espèces) serait dues à leur aptitude à développer un réseau d'hyphes rapidement ou à sporuler rapidement. En effet, les Glomerales forment rapidement des anastomoses entre les différentes branches mycéliennes du même

génotype ou de génotype voisin. Cela confère à ces espèces la capacité à rétablir un réseau interconnecté après une perturbation du sol (Voets *et al.*, 2006). De ce fait, les individus appartenant au réseau mycélien des Glomerales seront favorisés alors que l'établissement d'individus génétiquement différents sera restreint (Stukenbrock & Rosendahl, 2005). Il résulte de ces événements de recombinaison que les génotypes les mieux adaptés aux perturbations seront sélectionnés, et à leur tour continueront à réaliser des anastomoses. Ces informations peuvent avoir des conséquences importantes sur l'écologie des associations entre les champignons et leur plante hôte, car ces CMA peuvent conférer à leur hôte une « tolérance » passive à un certain nombre de stress environnementaux (Smith & Read, 1997).

La région LSU de l'ADNr constitue un marqueur intéressant dans la mesure où elle fournit une bonne approximation, d'autant plus que nous avons pu observer, une bonne cohérence de la structuration des communautés au niveau de l'OTU, de l'espèce ou du genre.

Les champignons mycorhiziens à arbuscules appartenant aux genres *Acaulospora* et *Rhizophagus* étaient plus abondants dans les sols échantillonnés en raison de leur aptitude à prospérer dans des conditions tropicales. Plusieurs études menées dans des champs de bananiers et de plantains ont révélé que les espèces *Acaulospora* et certaines espèces décrites plus tôt sous le nom de *Glomus* (appartenant actuellement au genre *Rhizophagus*) étaient les plus abondantes (Jaizme-Vega & Azcón, 1995 ; Fotso *et al.*, 2016).

Les souches de CMA - *Glomus clavisporum* (Fotso, 2016), *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora* sp – ont été isolées et purifiées afin de formuler des inocula qui ont fait l'objet d'évaluation dans les études ci après. En effet, ces souches sont présentes en proportions élevée au niveau des plantations de banane plantain de Côte d'Ivoire et sont adaptées certainement aux conditions climatiques et édaphiques locaux. Par ailleurs ces souches ont l'avantage de sporuler aisément sur des substrats locaux et de mycorhizer efficacement les racines de bananier plantain.

**L'hypothèse 1**, selon laquelle les zones de culture de bananier plantain présentent une grande diversité de souches de CMA, et ont en commun des souches capables de se multiplier rapidement et aisément, est donc vérifiée.

L'approche méthodologique adoptée dans la phase expérimentale de l'étude répond à un objectif de proposition de services écosystémiques basés sur la valorisation de souches locales de CMA. Il s'agit d'évaluer la capacité de ces souches à améliorer la technique du PIF de production de plants de bananier plantain ainsi que leur effet sur l'état sanitaire des plants

mycorhizés en champ et leur rendement en régimes frais, comparativement à celui d'une souche commerciale Myke Pro ®.

Dans un premier temps, la sélection de souches performantes parmi quatre souches isolées des bananeraies de Côte d'Ivoire (*Glomus clavisporum*, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora* sp) a été réalisée. Le niveau élevé de la colonisation des racines par les propagules de CMA (supérieure à 50 %), pendant la phase d'acclimatation, serait dû à l'efficacité des souches locales de CMA isolées de bananeraies. En outre, le bananier plantain est une plante présentant une bonne capacité mycorhizogène (Jaizme-Vega *et al.*, 2002). Le taux de colonisation des racines par les champignons mycorhiziens à arbuscules pourrait être déterminante dans la résistance de la plante contre les pathogènes telluriques du bananier plantain comme l'ont constaté Harrier & Watson (2004) et Li *et al.* (2006).

Le phosphore joue un rôle très important lors de la photosynthèse. Les teneurs plus élevées en chlorophylle a des plants mycorhizés (27,13-52,55 µg/cm<sup>2</sup>) seraient dues à un meilleur prélèvement du phosphore par les plantes mycorhizées (Tavasolee *et al.*, 2011; Birhane *et al.*, 2012). Il en résulterait une meilleure activité photosynthétique au niveau des plantes mycorhizées (Adolfsson *et al.*, 2015). L'amélioration de la croissance végétative observée chez les plantes mycorhizées serait le résultat combiné d'un meilleur prélèvement des nutriments d'une part et d'une bonne activité photosynthétique d'autre part (Valentine *et al.*, 2001). L'amélioration de la croissance végétative et de la biomasse par les champignons mycorhiziens a été constatée sur des vitroplants de bananier plantain par Tsané *et al.* (2005) au Cameroun et par Kavoo-mwangi *et al.* (2014) au Kenya. La variété Orischele (*Musa* AAB) a une meilleure réponse à l'inoculation mycorhizienne avec une dépendance relative à la mycorhization de 79,81%.

La souche *Glomus clavisporum*, bien qu'ayant eu un effet positif sur la résistance du bananier plantain au stress hydrique pendant l'étude menée par Fotso (2016), a été moins efficace que les souches *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum*. Les souches *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum* apparaissent comme les meilleures pour une production de plants mycorhizés ; elles ont été efficaces à la fois au niveau de la colonisation racinaire, de la physiologie et du développement végétatif des plantules cultivars Orischele et FHIA 21 issus du PIF. Ces souches sont par conséquent retenues pour l'essai en milieu réel.

Au vu de ce qui précède, **l'hypothèse 2**, selon laquelle l'inoculation utilisant des souches locales de CMA améliore la qualité et la vigueur des vivopants de bananier plantain pendant l'acclimatation, est donc vérifiée.

L'inoculation endomycorhizienne des vivoplants qui intervient pendant la phase d'enracinement permet d'obtenir des plants sains, plus vigoureux et plus développés à la fin de la phase d'acclimatation. Les travaux de Yano-Melo *et al.* (1999) et ceux de Tsané *et al.* (2005) sur des vitroplants de bananiers confirment cette observation. Les vivoplants ainsi obtenus sont mieux préparés à faire face aux conditions de stress biotique et abiotique, une fois transplantés en champ.

La teneur moyenne en phénols totaux des vivoplants sur le site de Yamoussoukro (0,88 mg EAG/g MS) est plus élevée que celle des plants du site de Bouaflé (0,24 mg EAG/g MS). En effet le sol de Yamoussoukro présente une pression parasitaire plus importante due au précédent cultural qui est une plantation d'igname, cette culture favorisant une concentration élevée de nématodes dans le sol. Contrairement au site de Bouaflé qui a pour précédent cultural, une vieille jachère de 15 ans. Les teneurs en phénols totaux élevés observés chez les vivoplants mycorhizés sur le site de Yamoussoukro pourraient aussi s'expliquer par le fait que la colonisation endomycorhizienne prédispose les plantes à réagir rapidement aux attaques de parasites (Dugassa *et al.*, 1996; Singh *et al.*, 2000). Cette protection indirecte pouvant se traduire au niveau des racines par une accumulation intercellulaire rapide de substances phénoliques mycotoxiques qui causent de fortes déformations morphologiques et cytologiques du pathogène (Benhamou *et al.*, 1994).

La croissance des plants de bananier plantain, ainsi que les rendements observés au niveau du site de Bouaflé sont plus importants par rapport à ceux observés sur le site de Yamoussoukro. En effet, le sol du site de Bouaflé est relativement plus fertile celui du site de Yamoussoukro. De plus, la faible pluviométrie observée sur le site de Yamoussoukro a certainement eu un effet sur la croissance des plants et leur rendement. Ce, d'autant que le bananier plantain est une plante présentant une importante dépendance en eau à certains stades phénologiques ; Le manque d'eau pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance de la plante (Lassoudière, 2007).

Les souches locales ont eu un meilleur effet sur la croissance et la production de biomasse des plants sur les deux sites d'expérimentation par rapport à l'inoculum commercial Myke Pro (*Rhizophagus intraradices*) formulé au Canada. La souche commerciale *Rhizophagus intraradices* utilisée a permis d'obtenir des stimulations de la croissance chez plusieurs plantes (MykePro, 2016). Cependant, la réponse des plantes à la mycorhization est non seulement fonction de l'espèce de champignon mycorhizien mais aussi de l'espèce de plante hôte dont la dépendance mycorhizienne est liée, principalement, à la fertilité du sol et à la morphologie du système racinaire (Willis *et al.*, 2013). Aussi, l'efficacité d'une souche

exotique dépend de la communauté de champignons mycorhiziens endogènes. La souche locale *Rhizophagus proliferum* apparaît comme la plus performante aussi bien sur la croissance que sur le rendement des plants en champ. Cela pourrait être dû à la grande adaptabilité des souches du genre *Rhizophagus* (Estrada *et al.*, 2013). En effet les souches appartenant à ce genre sont les plus utilisées pour formuler les inocula de champignons mycorhiziens à arbuscules.

Les résultats obtenus en champ montrent que : les vivoplants inoculés avec des souches locales en phase d'enracinement ont une meilleure vigueur, et une meilleure productivité en champ comparativement à la souche commerciale exotique. D'où la vérification de **l'hypothèse 3**.

Les souches *Neosartorya laciniosa* et *Talaromyces assiutensis* ont été mises en évidence. Les souches d'endophytes appartenant aux genres *Neosartorya* et *Talaromyces* ont montré une action de biocontrôle selon plusieurs études (Eamvijarn *et al.*, 2012; Boonsanga *et al.*, 2014; Kumla *et al.*, 2014; Dethoup *et al.*, 2015). En effet ces souches produisent des métabolites secondaires avec des activités biologiques intéressantes (Dethoup *et al.*, 2007; Eamvijarn *et al.*, 2012; 2013).

Les souches de *Fusarium solani* et leurs télomorphes *Nectria hematococca* sont connues comme des endophytes pouvant être, dans certains cas, des pathogènes pour le bananier plantain et causer la maladie du pourridié qui se traduit par un pourrissement des racines et du pseudo-tronc (David, 1997; Meddah *et al.*, 2011).

L'étude de la confrontation directe a montré que les souches de *Neosartorya laciniosa* et *Talaromyces assiutensis* ont colonisé une plus grande proportion du milieu de culture au détriment des souches de *Fusarium solani*, avec la présence d'une « zone de réaction » où le mycélium du pathogène ne peut croître. Cela suggère que les champignons de biocontrôle diffusent dans le milieu des substances chimiques ayant un effet sur la croissance des souches de *Fusarium solani*. D'où la nécessité d'évaluer l'effet d'antibiose des extraits éthanoïques de cultures des agents de biocontrôle sur la croissance mycélienne des antagonistes fongiques.

L'extrait de la souche *Neosartorya laciniosa* s'est révélé plus efficace ( $CI_{50} = 0,8$  g/L,  $CI_{90} = 7,6$  g/L) que celui de la souche *Talaromyces assiutensis* ( $CI_{50} = 5,6$  g/L et  $CI_{90} = 40,5$  g/L) sur la croissance mycélienne de la souche de *Fusarium solani*. Cela serait dû à une plus grande sensibilité de la souche de *Fusarium solani* vis-à-vis des métabolites secondaires produits par la souche *Neosartorya laciniosa* par rapport à ceux produits par la souche *Talaromyces*

*assiutensis*. Toutefois, contrairement à ce résultat, une étude menée par Dethoup *et al.* (2015) a montré une plus grande efficacité de la souche *Talaromyces trachyspermus* par rapport à la souche *Neosartorya pseudofischeri* pour le contrôle *in vitro* des souches de *Fusarium*.

Cette étude prouve qu'il existe des souches locales d'endophytes autre que les CMA associés au bananier plantain capables d'exercer un effet de biocontrôle potentiel contre les pathogènes du bananier plantain. **L'hypothèse 4** est donc vérifiée.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'étude de la communauté des champignons mycorhiziens à arbuscules a permis de mettre en évidence 1115 unités taxonomiques opérationnelles représentant 27 espèces de champignons endomycorhiziens regroupées en 13 genres appartenant à sept familles du phylum des Glomeromycota. Les sites Abengourou 2 et Azaguié 3 ont la plus grande richesse spécifique. Les indices de Shannon des sites Abengourou 1, Abengourou 2 et Azaguié 3 sont les plus élevés. Quant à l'indice de Simpson, les valeurs les plus basses sont observées au niveau des sites : Bouaflé 1, Azaguié 2 et Abengourou 3. Le pH est corrélé négativement à la richesse spécifique et à l'indice de Shannon et le Phosphore assimilable est corrélé négativement à l'indice de Shannon.

Les champignons mycorhiziens à arbuscules appartenant aux genres *Acaulospora* et *Rhizophagus* étaient les plus abondants dans les sols échantillonnés.

Le piégeage des champignons mycorhiziens à arbuscules a permis de mettre en évidence quatre souches dont la multiplication est rapide et aisée. Les souches ainsi multipliées et purifiées ont servi à mener des tests d'efficacité sur le développement et la protection du bananier plantain. La mycorhization a favorisé la croissance des plants inoculés et a permis d'augmenter significativement leur biomasse. Les souches *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora colombiana* ont induit une meilleure activité photosynthétique et une meilleure croissance végétative des cultivars de bananier plantain.

La mycorhization améliore l'état sanitaire en champ. En effet, trois mois après plantation, les plants mycorhizés ont des teneurs en phénols totaux plus élevées et des taux de mortalité plus faibles que les plants non inoculés. Aussi est-il montré une meilleure croissance des plants mycorhizés par rapport aux témoins, neuf mois après plantation. La souche *Rhizophagus proliferum* a les effets les plus importants en termes de gain sur la croissance des plants par rapport aux souches du champ (témoin). Au niveau de la biomasse sèche totale et du rendement, la souche locale *Rhizophagus proliferum* a le plus d'impact.

L'étude des champignons endophytes a permis d'isoler deux souches (*Neosartorya laciniosa* et *Talaromyces assiutensis*) ayant une action *in vitro* de biocontrôle sur des souches de *Fusarium solani*.

Les extraits des cultures de *Neosartorya laciniosa* et de *Talaromyces assiutensis* ont le potentiel d'être des substituts des fongicides de synthèse utilisés dans le processus de production des plants de bananier plantain par la méthode du PIF.

En perspectives, les souches locales *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum* dont l'efficacité a été démontrée dans la présente étude devront faire l'objet d'une production massive d'inoculum, en vue d'une vulgarisation en milieu paysan tant au niveau des pépinières qu'au niveau des bananeraies de plantain de Côte d'Ivoire. En effet une formulation utilisant des substrats locaux et accessibles serait adaptée au secteur de production de vivoplants de bananier plantain en pleine expansion.

Quant aux souches d'endophytes isolées, leur effet de biocontrôle devra être confirmé *in vivo* sur des plants de bananier plantain infectés. Aussi, l'extraction et la caractérisation des molécules bioactives des filtrats de ces différents endophytes permettra de mieux comprendre leur mode d'action sur les pathogènes.

En outre, une étude de l'effet combiné à base des inocula base de champignons endophytes et des huiles essentielles en culture de bananier plantain devra être menée ; afin d'offrir une alternative durable aux intrants chimiques.

En définitive, une étude élargie aux bananiers de type *Musa AAA* sur l'intégration des inocula, à base de champignons endophytes et de champignons mycorhiziens à arbuscules dans les systèmes traditionnels et conventionnels de gestion de la fertilité des sols et des nuisibles, devra être menée en vue d'optimiser ces derniers pour une agriculture durable et respectueuse de l'environnement.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adolfsson L., Solymosi K., Andersson M.X., Keresztes Á., Uddling J., Schoefs B., & Spetea C.** (2015). Mycorrhiza Symbiosis Increases the Surface for Sunlight Capture in *Medicago truncatula* for Better Photosynthetic Production. *Plos One*, *10*(1), 1–18. DOI: 10.1371/journal.pone.0115314
- Adriano-Anaya M.L., Solis-Domínguez F., Gavito-Pardo M.E., & Salvador-Figueroa M.** (2006). Agronomical and environmental factors influence root colonization, sporulation and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi at a specific phenological stage of banana trees. *Journal of Agronomy*, *5*, 11–15.
- Akiyama K.** (2007). Chemical identification and functional analysis of apocarotenoids involved in the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, *71*(6), 1405–1414.
- Al-Karaki G., McMichael B., & Zak J.** (2004). Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza*, *14*, 263–269.
- Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z., & Miller W.** (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, *25*, 3389–3402.
- Anderson J.M., & Ingram J.S.** (1993). *Tropical Soil Biology and Fertility: Handbook of Methods* (CAB Intern). Wallingford. 221 p.
- Angle I.S., Spiro M.A., Heggo A.M., El-Kherabawy M., & Chaney R.L.** (1988). Soil microbial - legume interacts in heavy metal contaminated at Palmerton, PA. In *Trace Substances in the Environment Health*. (pp. 321–336). St-Louis.
- Arnold A.E., Henk D.A., Eells R.L., Lutzoni F., & Vilgalys R.** (2007). Diversity and phylogenetic affinities of foliar fungal endophytes in loblolly pine inferred by culturing and environmental PCR. *Mycologia*, *99*(2), 185–206. DOI: 10.3852/mycologia.99.2.185
- Arnold A.E., & Lutzoni F.** (2007). Diversity and Host Range of Foliar Fungal Endophytes : *Ecology*, *88*(3), 541–549. DOI: 10.1890/05-1459
- Arnold A.E., Mejia L.C., Kyllö D., Rojas E.I., Maynard Z., Robbins N., & Herre E.A.** (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proc Natl Acad Sci*

- USA, 100(26), 15649–15654. DOI: 10.1073/pnas.2533483100
- Auge R.M., Schekel K.A., & Wample R.L.** (1986). Osmotic adjustment in leaves of VA mycorrhizal and non-mycorrhizal rose plant response of drought stress. *Plant Physiology*, 82, 765–770.
- Auge R.M., & Stodola, A.J.W.** (1990). An apparent increase in symplastic water contributes to greater turgor in mycorrhizal roots of droughted Rosa plants. *New Phytologist*, 115, 285–295.
- Baker A., Brooks R., & Reeves R.** (1988). Growing for gold and copper and zinc. *New Scientist*, 1603, 44–48.
- Barnett H., & Hunter B.** (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. St. Paul, Minnesota, USA: APS Press. (4<sup>ème</sup> édition). 218 p.
- Bationo A., Mugbogh S.K., & Mokuwunye A.U.** (1986). Agronomic evaluation of phosphate fertilizers in Tropical Africa. In P. L. G. Vleck (Ed.), *Management of nitrogen and phosphorus fertilizers in sub-saharian Africa* (Mokuwunye A, pp. 283–318). Netherlands.
- Benhamou N., Fortin J.A., Hamel C., St-Arnaud M., & Shatilla A.** (1994). Resistance responses of mycorrhizal Ri T-DNA-transformed carrot roots to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*. *Phytopathology*, 84, 958–968. DOI: 10.1094/Phyto-84-958
- Bentivenga S.P., & Morton J.B.** (1994). Stability and heritability of fatty acid methyl ester profiles of glomalean endomycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 98, 1419–1426.
- Birhane E., Sterck F.J., Fetene M., Bongers F., & Kuyper T.W.** (2012). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance photosynthesis, water use efficiency, and growth of frankincense seedlings under pulsed water availability conditions. *Oecologia*, 169(4), 895–904. DOI: 10.1007/s00442-012-2258-3
- Bischoff J., & White J.J.** (2005). Evolutionary development of the Clavicipitaceae. In J. Dighton, J. White, & P. Oudemans (Eds.), *The fungal community: Its organization and role in the ecosystem* (pp. 505–518). Boca Raton, FL, USA: Taylor & Francis.
- Blumenstein K.** (2015). *Endophytic fungi in Elms. Implications for the Integrated Management of Dutch Elm Disease*. Thèse de doctorat. Alnarp & Bangor University. 84 p.
- Bonte E., Verdonck R. & Grégoire L.** (1995). La multiplication rapide du bananier et du

- plantain au Cameroun. *Tropicultura*, 13(3). 109–116.
- Boonsanga N., Dethoup T., Singburadom N., Gomes N.G.M., & Kijjoa A.** (2014). *In vitro* antifungal activity screening of crude extracts of soil fungi against plant pathogenic fungi. *Journal of Biopesticides*, 7(2), 156–166.
- Borriello R., Lumini E., Girlanda M., Bonfante P., & Bianciotto V.** (2012). Effects of different management practices on arbuscular mycorrhizal fungal diversity in maize fields by a molecular approach. *Biology and Fertility of Soils*, 48, 911–922. DOI: 10.1007/s00374-012-0683-4
- Börstler B.** (2010). *Diversity of cultured isolates and field populations of the arbuscular mycorrhizal fungus “Glomus intraradices”*: development and application of molecular detection. Thèse de doctorat. Université de Basel. 164 p.
- Börstler B., Renker C., Kahmen A., & Buscot F.** (2006). Species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in two mountain meadows with differing management types and levels of plant biodiversity. *Biology and Fertility of Soils*, 42, 286–298. DOI: 10.1007/s00374-005-0026-9
- Boswell E.P., Koide R.T., Shumway D.L., & Addy H.D.** (1998). Winter wheat cover cropping, VA mycorrhizal fungi and maize growth and yield. *Agriculture Ecosystem and Environment*, 67, 55–65.
- Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., & Veau, P.** (1990). *Moisissures utiles et nuisibles: importance industrielle*. (Masson, Ed.) (2<sup>ème</sup> édition). Paris. 512 p.
- Bradley R., Burt A.J., & Read D.** (1982). Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Cattuna vulgaris*. *Nature*, 292, 335–337.
- Bremner J.M.** (1960). Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. *Journal of Agricultural Sciences*, 55, 1–33.
- Burke S.C., Angle J.S., Chaney R.L., & Cunningham S.D.** (2000). Arbuscular mycorrhizae effects on heavy metal uptake by corn. *International Journal of Phytoremediation*, 2, 23–30.
- Burrows R.L., & Pflieger F.L.** (2002). Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity. *Canadian Journal of Botany*, 80, 120–130.

- Calvet G., & Villemin P.** (1986). *Interprétation des analyses de terre*. France: SCPA. 24p.
- Carlier S., Waele D.D., & Esclant V.J.** (2003). Evaluation globale de la résistance du bananier à la fusariose aux maladies foliaires causées par les *Mycosphaerella* spp. et aux nématodes. *Infomusa*, 13(2), 6–9.
- Carmichael J., Kendrick B., Connors I., & Lynne S.** (1980). *Genera of Hyphomycetes*. Edmonton, Alberta CA. 386 p.
- Champion J.** (1963). *Le Bananier : Techniques agricoles et productions tropicales*. (Maisonneuve & Larose). 263 p.
- Champion R.** (1997). *Identifier les champignons transmis par les semences : Techniques et pratiques*. Editions Quae. 398 p.
- Chaussod R., Nouaïm R., Breuil M. C., & Boukcim H.** (1993). Effets du stress hydrique sur les populations microbiennes d'un sol d'arganeraie (sud-ouest marocain). In *Congrès Société Française de Phytopathologie* (p. 6). Dijon.
- CIRAD, & GRET.** (2006). *Mémento de l'agronome*. Ministère français de la Coopération. Paris. 960-974.
- Clapp J.P., Young J.P.W., Merryweather J.W., & Fitter A.H.** (1995). Diversity of fungal symbiontes in arbuscular mycorrhizae from a natural community. *New Phytologist*, 87, 259–265.
- Daniell T., Husband R., Fitter A., & Young J.** (2001). Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiology Ecology*, 36, 203–209.
- Davet P., & Rouxel F.** (1997). *Détection et Isolement des Champignons du Sol*. INRA : Paris. 203 p.
- David R.J.** (1997). Diseases of Banana and Plantain (*Musa* spp). Consultée le 19 janvier 2017. <http://www.apsnet.org/publications/commonnames/Pages/BananaandPlantain.aspx>
- De Waele D., & Davide R.G.** (1998). *Nématodes à galle des bananiers et plantains* (No. 3). INIBAP. 93 p.
- Declerck S.** (1996). *Biologie des champignons mycorrhiziens à arbuscules associés au bananier en Martinique*. Thèse de doctorat. Université d'Angers. 175 p.
- Declerck S., Plenchette C., & Strullu D.G.** (1995). Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant and Soil*, 176, 183–187.

- Dehn B., & Schüepp H.** (1989). Influence of VA mycorrhizae on the uptake and distribution of heavy metals in plants. Agriculture. *Ecosystems and Environment*, 29, 79–83.
- Deloné B.** (2014). *Alternatives agro-écologiques à l'usage des intrants chimiques dans les bananeraies plantains Le cas de deux régions de la Caraïbe : Guadeloupe et Haïti*. Thèse de doctorat. Université des Antilles et de la Guyane. France. 181 p.
- Dethoup T., Kumla D., & Kijjoa A.** (2015). Mycotoxic activity of crude extracts of marine-derived beneficial fungi against plant pathogenic fungi. *JBiopest*, 8(2), 107–115.
- Dethoup T., Manoch L., Visarathanonth N., Chamswarnng C., & Kijjoa A.** (2007). Morphology and distribution of *Talaromyces flavus* from soil and potential use as a biological control agent against plant pathogenic fungi. *Thai Journal of Agricultural Science*, 40(1–2), 37–50.
- Doss P., & Welty R.** (1995). A polymerase chain reaction based procedure for detection of *Acremonium coenophialum* in tall fescue. *Phytopathology*, 85, 913–917.
- Douds D.D., Galvez L., Janke R.R., & Wagoner P.** (1995). Effect of tillage and farming system upon populations and distribution of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 52, 111–118.
- Duchaufour P.H.** (1977). *Pédogenèse et classification pédologique*. (Masson, Ed.) (2<sup>ème</sup> édition). Paris. 477 p.
- Dugassa G.D., Vonalten H., & Schönbeck F.** (1996). Effects of arbuscular mycorrhiza (AM) on health of *Linum usitatissimum* L. infected by fungal pathogens. *Plant Soil*, 185, 173–182. DOI: 10.1007/BF02257522
- Eamvijarn A., Gomes N.M., Dethoup T., Buaruang J., Manoch L., Silva A., & Kijjoa A.** (2013). Bioactive meroditerpenes and indole alkaloids from the soil fungus *Neosartorya fischeri* (KUFC 6344), and the marine-derived fungi *Neosartorya laciniosa* (KUFC 7896) and *Neosartorya tsunodae* (KUFC 9213). *Tetrahedron*, 69(70), 8583–8591.
- Eamvijarn A., Kijjoa A., Brúyer C., Mathieu V., Manoch L., & Lefranc F.** (2012). Secondary metabolites from a culture of the fungus *Neosartorya pseudofischeri* and their *in vitro* cytostatic activity in human cancer cells. *Planta Medica*, 78, 1767–1776.
- Eamvijarn A., Kijjoa A., Bruyere C., Mathieu V., Manoch L., Lefranc F., & Herz W.** (2012). Secondary metabolites from a culture of the fungus *Neosartorya pseudofischeri* and their *in vitro* cytostatic activity in human cancer cells. *Planta Medica*, 78(16), 1767–1776.

- Edgar R.C.** (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26, 2460–2461.
- Edwards S.G., Fitter A.H., & Young J.P.W.** (1997). Quantification of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae* within plant root by competitive polymerase chain reaction. *Mycological Research*, 101, 1440–1444.
- Eldin M.** (1971). Le climat. In *Le milieu naturel de la Côte d'Ivoire* (pp. 73–108). Mémoire ORSTOM.
- Elsen A., Baimey H., Swennen R., & De Waele D.** (2003). Relative mycorrhizal dependency and mycorrhiza-nematode interaction in banana cultivars (*Musa* spp.) differing in nematode susceptibility. *Plant and Soil*, 256, 303–313.
- Elsen A., Beeterens R., Swennen R., & De Waele D.** (2003). Effect of an arbuscular mycorrhizal fungus and two plant-parasitic nematodes on *Musa* genotypes differing in root morphology. *Biology and Fertility of Soils*, 38, 367–376.
- Essalmani H., & Lahlou H.** (2002). Etude in vitro de l'activité antagoniste de quelques microorganismes à l'encontre de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*. *Micologie*, 23(2), 1–14.
- Estrada B., Barea J.M., Aroca R., & Ruiz-Lozano J.M.** (2013). A native *Glomus intraradices* strain from a Mediterranean saline area exhibits salt tolerance and enhanced symbiotic efficiency with maize plants under salt stress conditions. *Plant and Soil*, 366(1–2), 333–349. DOI: 10.1007/s11104-012-1409-y
- Faeth S.H., & Sullivan T.J.** (2003). Mutualistic Asexual Endophytes in a Native Grass Are Usually Parasitic. *American Society of Naturalists*, 161(2), 310–325. DOI: 10.1086/345937
- FAO.** (2011). Les Meilleures Pratiques Agricoles en Afrique de l'Ouest et du Centre. FAO, p.1. Consultée le 12 septembre 2015. <http://www.fao.org/agriculture/seed/cropcalendar>.
- FAO.** (2016). Food and agriculture data. Consultée le 20 Septembre 2016. <http://www.fao.org/faostat/en/#home>
- Fotso B.** (2016). *Evaluation de l'efficacité de souches endogènes de champignons mycorrhiziens à arbuscules dans la résistance du bananier au stress hydrique en Côte d'Ivoire*. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny.
- Fotso B., Amoa A.J., Séry D.J.-M., Nandjui J., Rosin B.D.R., & Zézé, A.** (2016). Effects of soil physico-chemical properties on occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi

- communities associated to plantain (*Musa* AAB, Musaceae) rhizosphere in Côte d'Ivoire. *African Journal of Agricultural Science and Technology*, 4(1), 580–594.
- Gamboa M., & Bayman P.** (2001). Communities of endophytic fungi in leaves of a tropical timber tree (*Guarea guidonia*). *Biotropica*, 33, 352–360.
- Garcia F., & Langenheim J.** (1990). The leaf fungal endophyte community of a coastal red wood population diversity and spatial patterns. *New Phytologist*, 116, 89–97.
- Gerdemann J.W.** (1975). Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In J. G. Clarkson & D. Torrey (Eds.), *The development and Function of Roots* (Academic P., pp. 575–591). New York and London.
- Gerdemann J.W., & Nicolson T.H.** (1963). Spores of endogone species from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 46, 235–244.
- Gharizadeh B., Eriksson J, Nourizad N., Nordstrom T., & Nyren P.** (2004). Improvements in pyrosequencing technology by employing sequenase polymerase. *Analytical Biochemistry*, 330, 272–280. DOI: 10.1016/j.ab.2004.03.018
- Gianinazzi-Pearson V., & Gianinazzi S.** (1986). The physiology of improved phosphate nutrition in mycorrhizal plants. In *Les mycorhizes, physiologie et génétique* (pp. 101–109). Paris: INRA.
- Giasson P., & Jaouich A.** (1998). La phytorestauration des sols contaminés au Québec. *Vecteur Environnement*, 31, 40–53.
- Gildon A., & Tinker P.B.** (1983). . Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 95, 247–261.
- Giovannetti M., Fortuna P., Citeresi A.S., Morini S., & Nuti M.P.** (2001). The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytologist*, 151, 717–724.
- Gobat J.M., Aragno M., & Matthey W.** (2003). *Le sol vivant*. (2<sup>ème</sup> édition). Lausanne : Presses Polytechniques Universitaires Romandes. 568 p.
- Godfroy O.** (2008). *Etudes génétique et moléculaire de deux gènes de Medicago truncatula, DMI3 et RPG, contrôlant l'établissement de symbioses racinaires*. Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier. Toulouse, France. 142 p.

- Gold S., & Messiaen S.** (2000). *Le charançon du bananier Cosmopolites Sordidus* (Parasites et ravageurs des *Musa* No. 4). 93 p.
- Gollotte A., Van Tuinen D., & Atkinson D.** (2004). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising roots of the grass species *Agrostis capillaris* and *Lolium perenne* in a field experiment. *Mycorrhiza*, 14(2), 111–117. DOI: 10.1007/s00572-003-0244-7
- Gosling P., Hodge A., Goodlass G., & Bending G.D.** (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113, 17–35.
- Goss M.J., & De Varennes A.** (2002). Soil disturbances reduces the efficacy of mycorrhizal associations for early soybean growth and N<sub>2</sub> fixation. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 1167–1173.
- Guo B., Dai J., Ng S., Huang Y., Leong C., Ong W., & Carte B.** (2000). Cytonic acids A & B: novel tridepside inhibitors of hCMV protease from the endophytic fungus *Cytospora* species. *Journal of Natural Products*, 63, 602–604.
- Hamilton M.A., Westermann D.T., & James D.W.** (1993). Factors affecting zinc uptake in cropping systems. *Soil Science American Journal*, 57, 1310–1315.
- Harrier L.A., & Watson C.A.** (2004). The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Management Science*, 60(2), 149–157. DOI: 10.1002/ps.820
- Hawas U.W., El-Beih A.A., & El-Halawany A.M.** (2012). Bioactive anthraquinones from endophytic fungus *Aspergillus versicolor* isolated from red sea algae. *Archives of Pharmacal Research*, 35(10), 1749–1756. DOI: 10.1007/s12272-012-1006-x
- Helgason T., Fitter A.H., & Young J.P.W.** (1998). Ploughing up the wood-wide web? *Nature*, 394, 431.
- Helgason T., Fitter A.H., & Young, J.P.W.** (1999). Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising *Hyacinthoides non-scripta* (bluebell) in a seminatural woodland. *Molecular Ecology*, 8, 659–666.
- Hempel S., Renker C., & Buscot F.** (2007). Differences in the species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in spore, root and soil communities in a grassland ecosystem. *Environmental Microbiology*, 9, 1930–1938. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01309.x

- Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., & Figge D.A.H.** (1994). The influence of mycorrhizal symbiosis and fertilizer amendments on establishment of vegetation in heavy metal mine spoil. *Environmental Pollution*, 86, 171–179.
- Hibbett D.S., Binder M., Bischoff J.F., Blackwell M., Cannon P.F., Eriksson O.E., & Zhang, N.** (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111(5), 509–547.
- Hijri I., Sýkorová Z., Oehl F., Ineichen K., Mäder P., Wiemken A., & Redecker D.** (2006). Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. *Molecular Ecology*, 15(8), 2277–2289. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2006.02921.x
- Hirsch A., & Kapulnik Y.** (1998). Signal Transduction Pathways in Mycorrhizal Associations: Comparisons with the Rhizobium-Legume Symbiosis. *Fungal Genetics and Biology*, 23(3), 205–212. DOI: 10.1006/fgbi.1998.1046
- Ho W., & Ko W.** (1997). A simple method for obtaining single-spore isolates of fungi. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 381(38), 41–43.
- Hosny M., Hijri M., Passerieux E., & Dulieu H.** (1999). rDNA units are highly polymorphic in *Scutellospora castanea* (Glomales, Zygomycetes). *Gene*, 226, 61–70.
- Huang S.P., & Cares J.E.** (2004). *Echantillonnage (Méthodes), Restitution du séminaire d'Embu, 23 au 27 février 2004*. Embu, Kenya. 7 p.
- Huang W., Cai Y., Surveswaran S., Hyde K., Corke H., & Sun M.** (2009). Molecular phylogenetic identification of endophytic fungi isolated from three *Artemisia* species. *Fungal Diversity*, 36, 69–88.
- Huang Y., Wang J., Li G., Zheng Z., & Su W.** (2001). Antitumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalataxus fortunei* and *Torreya grandis*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 31, 163–167.
- Huson D.H., Mitra S., Ruscheweyh H.-J., Weber N., & Schuster S. C.** (2011). Integrative analysis of environmental sequences using MEGAN4. *Genome Research*, 21, 1552–1560.
- Indira K., Jayaprabha N., & Srinivasan M.** (2015). Antimicrobial activity of endophytic fungi isolated and identified from salt marsh plant in Vellar Estuary. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 7(2), 13–20. DOI: 10.5897/JMA2014.0334

- Jaizme-Vega M.C., & Azcón R.** (1995). Responses of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 5, 213–217.
- Jaizme-Vega M.C., Esquivel D.M., Tenoury D.P., & Romero R.A.S.** (2002). Effet de la mycorrhization sur le développement de deux cultivars de bananier issus de micropropagation. *InfoMusa*, 11(1), 25–28.
- Jaizme-Vega, M.C., Rodriguez-Romero A.S., Hermoso C.M., & Declerck S.** (2003). Growth of micropropagated bananas colonized by root-organ culture produced arbuscular mycorrhizal fungi entrapped in Ca- alginate beads. *Plant and Soil*, 254, 329–335.
- Jaizme-Vega M.C., Tenoury P., Pinochet J., & Jaumot M.** (1997). Interactions between the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Glomus mosseae* in banana. *Plant and Soil*, 196, 27–35.
- Jansa J., Mozafar A., Anken T., Ruh R., Sanders I.R., & Frossard, E.** (2002). Diversity and structure of AM fungi communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza*, 12, 225–234.
- Jansa J., Mozafar A., Kuhn G., Anken T., Ruh. R., Sanders I., & Frossard, E.** (2003). Soil tillage affects the community structure of mycorrhizal fungi in maize roots. *Ecology Application*, 13, 1164–1176.
- Jasper D.A., Abbott L.K., & Robson A.D.** (1991). The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil from different vegetation types. *New Phytologist*, 118, 471–476.
- Jefwa J., Vanlauwe B., Coyne D., Van Asten P., Gaidashova S., Rurangwa E., & Elsen, A.** (2010). Benefits and potential use of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in banana and plantain (*Musa* spp.) systems in Africa. *Acta Horticulturae*, 879, 479–486. DOI: 10.17660/ActaHortic.2010.879.52
- Johnson N.C., Copeland P.J., Crookston R.K., & Pflieger F.L.** (1992). Mycorrhizae-possible explanation for yield decline with continuous corn. *Agronomy Journal*, 84, 387–390.
- Kabir Z.** (2005). Tillage or no-tillage : impact on mycorrhizae. *Canadian Journal of Plant Science*, 85, 23–29.
- Kabir Z., & Koide R.T.** (2000). The effects of dandelion or a cover crop on mycorrhizal inoculum potential, soil aggregation and yield of maize. *Agriculture, Ecosystem and*

*Environment*, 78, 167–174.

- Kavoo-mwangi A.M., Kahangi E.M., Ateka E., Onguso J., & Jefwa J.M.** (2014). Integration of Commercial Microbiological Products into Soil Fertility Practices as a Potential Option for Acclimatization and Growth of TC Banana in Kenya. *Open Journal of Soil Science*, 4, 259–271. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/ojss.2014.48028>
- Killham K., & Firestone M.K.** (1983). Vesicular arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to acidic and heavy metal depositions. *Plant and Soil*, 72, 39–48.
- Kohout P., Sudova R., Janouskova M., Ctvrtlikova M., Hejda M., Pankova H., & Sýkorová Z.** (2014). Comparison of commonly used primer sets for evaluating arbuscular mycorrhizal fungal communities: Is there a universal solution? *Soil Biology and Biochemistry*, 68, 482–493. DOI: 10.1016/j.soilbio.2013.08.027
- Konopka A.** (2009). What is microbial community ecology? *The ISME Journal*, 3, 1223–1230. DOI: 10.1038/ismej.2009.88
- Kothari S.K., Marschner H., & Römheld V.** (1990). Direct and indirect effects of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on acquisition of mineral nutrients by maize (*Zea mays* L.) in a calcareous soil. *New Phytologist*, 116, 637–645.
- Kouadio K.K.H., Doudou D.T., Tschannen A., Dao D., & Girardin O.** (2011). Techniques agroforestières à base de *Gliricidia sepium* à l'Est de la Côte d'Ivoire : impacts et perspectives. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 11(1), 1374–1379.
- Kouassi K.S., Gnonhoury G.P., Yao N.T., Kobenan K., & Assiénan A.B.** (2005). *Bien cultiver la banane plantain en Côte d'Ivoire*. 4p.
- Kra K.D., Diallo H.A., Kobenan K., & Kouadio D.K.Y.J.** (2011). Diagnostic de la fusariose du bananier sur les cultivars grande naine (*Musa* AAA) et corne 1 (*Musa* AAB) à la périphérie du District d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 5, 1501–1514.
- Kumar P.B.A.N., Dushenkov V., Motto H., & Raskin I.** (1995). Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science & Technology*, 29, 1232–1238.
- Kumla D., Dethoup T., Buttachon S., Singburadom N., Silva A.M.S., & Kijjoa A.** (2014). Spiculisporic acid E, a new spiculisporic acid derivatives from the marine-sponge associated fungus *Talaromyces trachyspermus* (KUFA 0021). *Natural Product Communications*, 9, 1147–1150.

- Kwa M.** (2002). *Techniques horticoles de production de masse de plants de bananiers. La technique des plants issus des fragments de tige (PIF)* (Fiche technique). Njombé, Cameroun. 4 p.
- Kwa M.** (2003). Activation de bourgeons latents et utilisation de fragments de tige du bananier pour la propagation en masse de plants en conditions horticoles *in vivo*. *Fruits*, 58(6), 315–328. DOI: 10.1051/fruits
- Lacap D., Hyde K., & Liew E.** (2003). An Evaluation of the fungal “morphotype” concepts based on ribosomal DNA sequence. *Fungal Diversity*, 12, 53–66.
- Lambert D.H., & Weidensaul T.C.** (1991). Element uptake by mycorrhizal soybean from sewage-sludge-treated soil. *Soil Science Society of America Journal*, 55, 393–398.
- Lanfranco L., Wyss P., Marzachi C., & Bonfante P.** (1995). Generation of RAPD-PCR primers for the identification of isolates of *Glomus mosseae*, an arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular Ecology*, 4, 61–68.
- Lassoudière A.** (2007). *Le bananier et sa culture*. Editions Quae. Paris. 383 p.
- Lassoudière A.** (2010). *Histoire du bananier (l')*. Editions Quae. Paris. 351 p.
- Latiffah Z., Muhamad I.M.J., & Intan S.M.A.** (2016). Molecular Characterisation of Endophytic Fungi from Roots of Wild Banana (*Musa acuminata*). *Tropical Life Sciences Research*, 27(1), 153–162.
- LCA.** (2008). *Guide pratique : comprendre et utiliser les analyses agro-environnementales*. Laboratoire de conseils et d'analyses. Bordeaux, France. 90 p.
- Le Tacon F., Mauron V., Rousseau Y., Backer M., & Bouchard D.** (1999). Fertilisation raisonnée et mycorhize. In *4ème rencontre de la fertilisation raisonnée* (pp. 211–222). Blois, novembre-décembre 1999.
- Li H., Yang G., & Shu H.** (2006). Mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* induces a defense response against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in the grapevine (*Vitis amurensis* Rupr.). *Plant and Cell*, 47(1), 154–163. DOI: 10.1093/pcp/pci231
- Ma L., Catramis C., Rogers S., & Starmer W.** (1997). Isolation and characterization fungi entrapped in glacial ice. *Inoculum*, 48, 23–24.
- Masella A., Bartram A., Truszkowski J., Brown D., & Neufeld J.** (2012). PANDAseq: paired-end assembler for Illumina sequences. *BMC Bioinformatics*, 13, 31.

- McDonald S., Prenzler P.D., Autolovich M., & Robards K.** (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chem*, 73, 73–84.
- Meddah N., Ouazzani T. A., Benkirane R., & Douira A.** (2011). Étude du pouvoir pathogène de quelques espèces de *Fusarium* sur le bananier sous serre au Maroc. *Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liège*, 80, 939–952.
- Mejia L.C., Rojas E.I., Maynard Z., Van Bael S.A., Arnold E.A., & Hebbar P.** (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biol. Control*, 46, 4–14. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.01.012
- Menge J., & Timmer L.** (1982). Procedure for Inoculation of Plants with Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae in Laboratory, Greenhouse and Field. In N. C. Schenck (Ed.), *Methods and Principles of Mycorrhizal Research* (p. 244).
- Merryweather J., & Fitter A.** (1998). The arbuscular mycorrhizal fungi of Hyacinthoides non-scripta : I. Diversity of fungal taxa. *New Phytologist*, 138, 117–129. DOI: 10.1046/j.1469-8137.1998.00888.x
- Millner P.D., Mulbry W.W., & Reynolds S.L.** (2001). Taxon-specific oligonucleotide primers for detection of *Glomus etunicatum*. *Mycorrhiza*, 10, 259–265.
- Mohammad M.J., Pan W.L., & Kennedy A.C.** (1995). Wheat responses to vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal inoculation of soils from eroded toposequence. *Soil Science Society of America Journal*, 59, 1086–1090.
- Morton J.** (2016). International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. Consultée le 30 août 2016. <http://invam.wvu.edu/>
- Morton J.B., & Benny G.L.** (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order Glomales and Gigasporineae and two new families Acaulosporaceae and Gigasporaceae with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*, 37, 471–491.
- Mosse B.** (1973). Advances in the study of Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza. *Annual Review of Phytopathology*, 11, 171–196.
- MykePro.** (2016). *Myke Pro research report*. Premier Tech. 41 p.
- Newman E.I., Devoy C.L.N., Easen N.J., & Fowles K.J.** (1994). Plant species that can be linked by VA mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 126(4), 691–693.

- Ngo-sammick E.L.** (2011). *Production améliorer du bananier plantain*. Collection PRO-AGRO. Wageningen, Pays-Bas. 24 p.
- Nilsson R.H., Veldre V., Hartmann M., Unterseher M., Amend A., & Bergsten J.** (2010). An open source software package for automated extraction of ITS1 and ITS2 from fungal ITS sequences for use in high-throughput community assays and molecular ecology. *Fungal Ecology*, 3, 284–287.
- Nwaga D., Tenkouano A., Tomekpe K., Fogain R., Kinack D.M., Tsané G., & Yombo O.** (2011). Multi-functional Properties of Mycorrhizal Fungi for Crop Production: The Case Study of Banana Development and Drought Tolerance. In A. Bationo (Ed.), *Innovations as Key to the Green Revolution in Africa* (Vol. 599, pp. 293–326). Springer Science Business Media. DOI: 10.1007/978-3-319-02904-7
- Oehl F., Goto B.T., & Sieverding E.** (2011). Glomeromycota: three new genera and glomoid species reorganized. *Mycotaxon*, 116, 75 – 120.
- Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Mader P., Boller T., & Wiemken A.** (2003). Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of central Europe. *Applied Environmental Microbiology*, 69, 2816–2824.
- Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Ris E.A., Boller T., & Wiemken A.** (2005). Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively and intensively managed agroecosystems. *New Phytologist*, 165, 273–283.
- Oehl F., Sieverding E., Mader P., Dubois D., Ineichen K., Boller T., & Wiemken A.** (2004). Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia*, 138, 574–583.
- Okalebo J.R., Gathna K.W., & Woomer P.L.** (2002). *Laboratory Methods for Soil and Plant Analysis* (TSBF-CIAT). Nairobi: Tropical Soil Fertility and Biology Program. 128 p.
- Olsen S.R.** (1952). Measurement of surface phosphore on hydroxylapatite and phosphate rock with radiophosphorus. *J. Phys. Chem.*, 56, 630–632.
- Öpik M., Metsis M., Daniell T., Zobel M., & Moora M.** (2009). Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest. *New Phytologist*, 184, 424–437. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2009.02920.x

- Öpik M., Moora M., Liira J., & Zobel M.** (2006). Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology*, *94*, 778–790.
- Pansu M., & Gautheyrou J.** (2003). *L'analyse du sol minéralogique, organique et minérale*. (Springer-Verlag, Ed.). Montpellier, France. 993 p.
- Pawlowska, T. E., & Taylor, J. W.** (2004). Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, *427*, 733–737.
- Perrin, A.** (2015). *Etude de la filière Banane Plantain en Côte d'Ivoire*. Abidjan. Comité Français pour la Solidarité Internationale. 66 p.
- Petrini, O., Petrini, O., Sieber, T. N., Toti, L., & Viret, O.** (1993). Ecology, metabolite production and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural Toxins*, *1*, 185–196. DOI: 10.1002/nt.2620010306
- Petrini O., Stone J., & Carroll F.** (1982). Endophytic fungi in evergreen shrubs in western Oregon: a preliminary study. *Canadian Journal of Botany*, *60*, 789–796.
- Peyret-Guzzon M.** (2014). *Etudes moléculaires de la diversité des communautés et populations de champignons mycorrhiziens à arbuscules (Glomeromycota)*. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne, France. 190 p.
- Phillips J.M., & Hayman D.S.** (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, *55*, 158–161.
- Pinochet J., Fernández C., Jaizme-Vega M.C., & Tenoury P.** (1997). Micropropagated banana infected with *Meloidogyne javanica* responds to *Glomus intraradices* and phosphorus. *HortScience*, *32*, 101–103.
- Plenchette C., Fortin A., & Furlan V.** (1983). Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil*, *70*, 199–209.
- Prompttha I., Jeewon R., Lumyong S., McKenzie E., & Hyde K.** (2005). Ribosomal DNA fingerprinting in the identification of non sporulating endophytes from *Magnolia liliifera* (Magnoliaceae). *Fungal Diversity*, *20*, 167–186.
- Ranghoo V., Hyde K., Liew E., & Spatafora J.** (1999). Family placement of Ascotaiwanian and Ascolacicola based on DNA sequences from the large subunit rRNA

- gene. *Fungal Diversity*, 2, 159–168.
- Redecker D.** (2000). Specific PCR primers to identify arbuscular mycorrhizal fungi within colonized roots. *Mycorrhiza*, 10, 73–80.
- Redecker D., Hijri M., Dullieu H., & Sanders I. R.** (1999). Phylogenetic analysis of a dataset of fungal 5.8S rDNA sequences shows that highly divergent copies of internal transcribed spacers reported from *Scutellospora castanea* are of ascomycete origin. *Fungal Genetic Biology*, 28, 238–244.
- Redecker D., & Raab P.** (2006). Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia*, 98, 885–895.
- Redecker D., Schüßler A., Stockinger H., Stürmer S.L., Morton J.B., & Walker C.** (2013). An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza*, 23(7), 515–531. DOI: 10.1007/s00572-013-0486-y
- Redecker D., Thierfelder H., Walker C., & Werner D.** (1997). Restriction analysis of PCR-amplified internal transcribed spacers of ribosomal DNA as a tool for species identification in different genera of the order Glomales. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 1756–1761.
- Rodriguez R.J., Henson J., Van Volkenburgh E., Hoy M., Wright L., Beckwith F., & Redman, R.S.** (2008). Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *The ISME Journal*, 2(4), 404–416. DOI: 10.1038/ismej.2007.106
- Rodriguez R.J., White J.F., Arnold A.E., & Redman, R.S.** (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2), 314–330. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x
- Rollo F., Sassaroli S., & Ubaldi M.** (1995). Molecular phylogeny of the fungi of the Iceman's grass clothing. *Current Genetics*, 28, 289–297.
- Ronaghi M.** (2001). Pyrosequencing sheds light on DNA sequencing. *Genome Research*, 11, 3–11. DOI: 10.1101/gr.11.1.3.
- Rosendahl S.** (1989). Comparisons of spore-cluster forming *Glomus* species (Endogonaceae) based on morphological characteristics and isoenzyme banding pattern. *Op Bot*, 100, 215–223.
- Ryan M.H., & Ash J.** (1999). Effects of phosphorus and nitrogen on growth of pasture plants

- and VAM fungi in SE Australian soils with contrasting fertiliser histories (conventional and biodynamic). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 73, 51–62.
- Ryan M.H., Kirkegaard R.M., McCormick J.A., Knights K.M., & Augus S.E.** (2002). Increasing mycorrhizal colonisation does not improve growth and nutrition of wheat on vertosols in south-eastern Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 53, 1173–1181.
- Sadasivan S., & Manickam A.** (1996). Pigments. In *Biochemical Methods (2nd Edition)* (New Age, pp. 190–191). New Delhi.
- Sadom L., Tomekpé K., Folliot M., & Côte F.-X.** (2010). Comparaison de l'efficacité de deux méthodes de multiplication rapide de plants de bananier à partir de l'étude des caractéristiques agronomiques d'un hybride de bananier plantain (*Musa* spp.). *Fruits*, 65(1), 3–9. DOI: 10.1051/fruits/2009036
- Saikkonen K., Wali P., Helander M., & Faeth S.H.** (2004). Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends Plant Sci*, 9(6), 275–280. DOI: 10.1016/j.tplants.2004.04.005
- Saitou N., & Nei M.** (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular and Biological Evolution*, 4(4), 406–425. DOI: citeulike-article-id:93683
- Salido A.L., Hasty K.L., Lim J.-M., & Butcher D.J.** (2003). Phytoremediation of arsenic and lead in contaminated soil using Chinese brake ferns (*Pteris vittata*) and Indian mustard (*Brassicajuncea*). *International Journal of Phytoremediation*, 5, 89–103.
- Sanders I.R., Alt M., Groppe K., Boller T., & Wiemken A.** (1995). Identification of ribosomal DNA polymorphisms among and within spores of the Glomales: application to studies on the genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *New Phytologist*, 130, 419–427.
- Sarah J.L., Pinochet J., & Stanton J.** (1996). *Radopholus Similis COBB, Nématode parasite des bananiers* (Parasites et ravageurs des *Musa* No. 1). 93 p.
- Schardl C.L., & An Z.** (1993). Molecular biology and genetics of protective fungal endophytes of grasses. *Genet Eng*, 15, 191–212.
- Schulz B., & Boyle C.** (2005). The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109(6), 661–686.

- Schüßler A.** (1999). Glomales SSU rRNA gene diversity. *New Phytologist*, *144*, 205–207.
- Schüßler A., Schwarzott D., & Walker C.** (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, *105*, 1413–1421. DOI: 10.1017/S0953756201005196
- Schwarzott D., & Schüßler A.** (2001). A simple and reliable method for SSU rRNA gene DNA extraction, amplification and cloning AM fungal spores. *Mycorrhiza*, *10*, 203–207.
- Selosse M.A., Baudoin E., & Vandenkoornhuysen P.** (2004). Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. *C R Biol*, *327*(7), 639–648.
- Selosse M., Vohník M., & Chauvet E.** (2008). Out of the rivers: are some aquatic hyphomycetes plant endophytes? *New Phytologist*, *178*, 3–7.
- Sieber T.** (2002). Fungal root endophytes. In Y. Waisel, A. Eshel, & U. Kafkafi (Eds.), *Plant roots: The hidden half* (pp. 887–917). New York/Basel: Marcel Dekker.
- Sieverding E.** (1981). Influence of soil water regimes on VA Mycorrhiza. *Pflanzenbau*, *150*, 400–411.
- Simon L., Bousquet J., Lévesque R.C., & Lalonde M.** (1993). Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, *363*, 67–69.
- Simon L., Lalonde M., & Bruns T.H.** (1992). Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular arbuscular Endomycorrhizal fungi colonizing roots. *Applied and Environmental Microbiology*, *58*, 291–295.
- Singh H., Uma S., Selvarajan R., & Karihaloo J.** (2011). *Micropropagation for production of quality banana planting material in Asia-Pacific*. Delhi, India. 92 p.
- Singh R., Adholeya A., & Mukerji K.G.** (2000). Mycorrhiza in control of soil-borne pathogens. In K. G. Mukerji, B. P. Chamola, & J. Singh (Eds.), *Mycorrhizal biology* (pp. 173–196). New York: Kluwer Academic/Plenum. DOI: 10.1007/978-1-4615-4265-0\_12
- Smith S.E., & Read D.J.** (2008). *Mycorrhizal symbiosis* (3<sup>ème</sup> édition). London: Academic Press. 787 p.
- Sreevani A., & Reddy B.N.** (2004). Arbuscular mycorrhizal fungi associated with tomato (*Lycopersicon esculantum* Mill.) influenced by soil physicochemical properties. *Philipp. J. Sci.*, *133*, 115–129.
- Stone J., Polishook J., & White J.** (2004). Endophytic fungi. In F. M. Mueller G, Bills GF

- (Ed.), *Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods* (pp. 241–270). Burlington, MA, USA: Elsevier.
- Strobel G., & Daisy B.** (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol Mol Biol Rev*, 67(4), 491–502.
- Stukenbrock E., & Rosendahl S.** (2005). Clonal diversity and population genetic structure of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) studied by multilocus genotyping of single spores. *Molecular Ecology*, 14, 743–752.
- Swennen R., & Vuylsteke D.** (2001). Bananier. In H.R (Ed.), *Agriculture en Afrique Tropicale*. (RAEMARKERS, p. 611–636). Bruxelles: DGCI.
- Tadych M., Bergen M.S., & White J.F.** (2014). *Epichloe* spp. associated with grasses: new insights on life cycles, dissemination and evolution. *Mycologia*, 106(2), 181–201.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., & Kumar S.** (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725–2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197
- Tavasolee A., Aliasghar Zad N., Salehijouzani G., Mardi M., & Asgharzadeh A.** (2011). Interactive Effects of Arbuscular mycorrhizal Fungi and rhizobial Strains on Chickpea Growth and Nutrient Content in Plant. *African Journal of Microbiology*, 10, 7585–7591.
- Tezenas du Montcel H.** (1989). *Le bananier plantain* (Maisonneuve). Paris: Centre technique de Coopération agricole et rurale. 144 p.
- Tinker P.B.** (1984). The root microorganisms in mediating and facilitating the uptake of plant nutrients from soil. *Plant Soil*, 76, 77–91.
- Tomekpe K., Kwa M., Dzomeku B.M., & Ganry J.** (2011). CARBAP and innovation on the plantain banana in Western and Central Africa. (Special Issue: Sustainable intensification: increasing productivity in African food and agricultural systems.). *International Journal of Agricultural Sustainability*, 9(1), 264–273. DOI: <http://dx.doi.org/10.3763/ijas.2010.0565>
- Traoré S., Kobenan K., Kouassi K.S., & Gnonhour G.** (2009). Systèmes de culture du bananier plantain et méthodes de lutte contre les parasites et ravageurs en milieu paysan en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 19, 1094–1101.
- Troeh Z.I., & Loynachan T.E.** (2003). Endomycorrhizal fungal survival in continuous corn,

- soybean, and fallow. *Agronomy Journal*, 95, 224–230.
- Trouvelot A., Kough J.L., & Gianinazzi-Pearson V.** (1986). Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes de destination ayant une signification fonctionnelle. In V. Gianinazzi-Pearson & S. Gianinazzi (Eds.), *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae* (pp. 101–109). Paris: INRA.
- Tsai H.F., Liu J.S., Staben C., Christensen M.J., Latch G.C., Siegel M.R., & Schardl C.L.** (1994). Evolutionary diversification of fungal endophytes of tall fescue grass by hybridization with *Epichloe* species. *Proc Natl Acad Sci*, 91(7), 2542–2546.
- Tsané G., Ogain R., Chard R., & Oko J.** (2005). Impact de la mycorrhization arbusculaire sur la croissance de vitroplants de plantain testé sur des sols de fertilité différente en conditions contrôlées au Cameroun. *Cambridge Journals Online*, 60(5), 303–309. DOI: 10.1051/fruits
- U'Ren J.M., Lutzoni F., Miadlikowska J., & Arnold A.E.** (2010). Community Analysis Reveals Close Affinities Between Endophytic and Endolichenic Fungi in Mosses and Lichens. *Microbial Ecology*, 60(2), 340–353. DOI: 10.1007/s00248-010-9698-2
- Umesh K.C., Krishnappa K., & Bagyaraj D.J.** (1988). Interaction of burrowing nematode *Radophulus similis* (Cobb 1893) Thorne 1949 and VA mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* (Thaxt) Gerd and Trappe in banana (*Musa acuminata* Colla). *Indian Journal of Nematology*, 18, 6–11.
- Valentine A., Osborne B.A., & Mitchell D.T.** (2001). Interactions between phosphorus supply and total nutrient availability on mycorrhizal colonization, growth and photosynthesis of cucumber. *Scientia Horticulturae*, 88, 177 – 189.
- Van Tuinen D., Zhao B., & Gianinazzi-Pearson V.** (1998). PCR in studies of AM fungi: from primers to application. In A. K. Varma (Ed.), *Mycorrhiza Manual* (pp. 387–399). Heidelberg: Springer-Verlag.
- Vandenkoornhuysen P., Leyval C., & Bonnin I.** (2001). High genetic diversity in arbuscular mycorrhizal fungi: evidence for recombination events. *Heredity*, 87, 243–253.
- Vasiliauskas R., Menkis A., Finlay R., & Stenlid J.** (2007). Wood-decay fungi in fine living roots of conifer seedlings. *New Phytologist*, 174, 441–446.
- Vestberg M., Saari K., Kukkonen S., & Hurme T.** (2005). Mycotrophy of crops in rotation and soil amendment with peat influence the abundance and the effectiveness of indigenous

- arbuscular mycorrhizal fungi in field soil. *Mycorrhiza*, 15, 447–458.
- Vinayak K., & Bagyaraj D.J.** (1990). Vesicular-arbuscular mycorrhizae screened for troyer citrange. *Biology and Fertility of Soils*, 9, 311–314.
- Voets L., De La Providencia I.E., & Declerck S.** (2006). Glomeraceae and Gigasporaceae differ in their ability to form hyphal networks. *New Phytologist*, 172, 185–188.
- Walkley A., & Black I.A.** (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.*, 37, 29–38.
- Wani S.P., McGill W.B., & Tewari J.P.** (1991). Mycorrhizal and common root-rot infection and nutrient accumulation in barley grown on Breton loam using N from biological fixation or fertilizer. *Biology and Fertility of Soils*, 12, 46–54.
- White T.J., Bruns T., Lee S., & Taylor J.** (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR protocols, a guide to methods and applications* (pp. 315–322). San Diego: Academic.
- Wille P., Aeschbacher R., & Boller T.** (1999). Distribution of fungal endophyte genotypes in doubly infected host grasses. *Plant Journal*, 18, 349–358.
- Willis A., Rodrigues B. F., & Harris P.J.C.** (2013). The Ecology of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32(1), 1–20. DOI: 10.1080/07352689.2012.683375
- Yano-Melo A.M., Júnior O.J.S., Lima-Filho J.M., Melo N.F., & Maia L.C.** (1999). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the acclimatization of micropropagated banana plantlets. *Mycorrhiza*, 9, 119–123.
- Yano-Melo A.M., Maia L.C., Saggin Jr. O.J., Lima-Filho J.M., Melo N.F., & Júnior O.J.S.** (1999). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the acclimatization of micropropagated banana plantlets. *Mycorrhiza*, 9(2), 119–123. DOI: 10.1007/s005720050009
- Zézé A., Sulistyowati E., Ophelkeler K., Barker S., & Smith S.** (1996). Intersporal genetic variation of *Gigaspora margarita*, a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus, revealed by M13 minisatellite-primers PCR. *Applied Environment Microbiology*, 63, 676–678.

**Zhang X.H., Lin A.J., Chen B.D., Wang Y.S., Smith S.E., & Smith F.A.** (2006). Effects of *Glomus mosseae* on the toxicity of heavy metals to *Vicia faba*. *Journal of Environmental Sciences*, 18, 721–726.

**Zuccaro A., Lahrman U., & Langen G.** (2014). Broad compatibility in fungal root symbioses. *Current Opinion in Plant Biology*, 20, 135–145. DOI: 10.1016/j.pbi.2014.05.013

# **ANNEXES**

## Annexe 1: Coordonnées géographiques des sites d'étude

Zones	Sites	Echantillons	N	W	Alt(m)
<b>ABENGOUROU</b>	Ab1	Ab1/1	06°41.556'	003°41.698'	147
	Ab1	Ab1/2	06°41.551'	003°41.671'	148
	Ab1	Ab1/3	06°41.521'	003°41.737'	161
	Ab2	Ab2/1	06°40.350'	003°38.837'	170
	Ab2	Ab2/2	06°40.344'	003°38.852'	165
	Ab2	Ab2/3	06°40.347'	003°38.834'	166
	Ab3	Ab3/1	06°42.676'	003°36.960'	152
	Ab3	Ab3/2	06°42.674'	003°36.934'	147
	Ab3	Ab3/3	06°42.654'	003°37.021'	161
	Ab4	Ab4/1	06°42.913'	003°37.220'	177
	Ab4	Ab4/2	06°42.903'	003°37.200'	176
	Ab4	Ab4/3	06°42.892'	003°37.184'	176
	<b>AZAGUIE</b>	Az1	Az1/1	05°40.352'	004°02.385'
Az1		Az1/2	05°40.410'	004°02.397'	48
Az1		Az1/3	05°40.324'	004°02.386'	47
Az2		Az2/1	05°37.221'	004°03.354'	77
Az2		Az2/2	05°37.231'	004°03.394'	74
Az2		Az2/3	05°37.260'	004°03.415'	70
Az3		Az3/1	05°31.947'	004°03.712'	74
Az3		Az3/2	05°31.970'	004°03.712'	70
Az3		Az3/3	05°31.944'	004°03.692'	63
Az4		Az4/1	05°39.169'	004°07.317'	52
Az4		Az4/2	05°39.147'	004°07.325'	52
Az4		Az4/3	05°39.150'	004°07.287'	53
<b>BOUAFLE</b>	Bo1	Bo1/1	06°57.581'	005°50.737'	195
	Bo1	Bo1/2	06°57.588'	005°50.773'	194
	Bo1	Bo1/3	06°57.585'	005°50.809'	195
	Bo2	Bo2/1	06°55.746'	005°48.553'	213
	Bo2	Bo2/2	06°55.711'	005°48.545'	216
	Bo2	Bo2/3	06°55.691'	005°48.533'	217
	Bo3	Bo3/1	06°55.814'	005°48.121'	231
	Bo3	Bo3/2	06°55.879'	005°48.128'	234
	Bo3	Bo3/3	06°55.791'	005°48.147'	234
	Bo4	Bo4/1	06°55.411'	005°40.752'	168
	Bo4	Bo4/2	06°55.445'	005°40.807'	162
	Bo4	Bo4/3	06°55.486'	005°40.820'	162

**Annexe 2** : Article publié (Potentialities of native arbuscular mycorrhizal fungi strains to improve the quality of macropropagated seedlings of plantain cv Orishele and FHIA 21)

Full Length Research Paper

## Potentialities of native arbuscular mycorrhizal fungi strains to improve the quality of macropropagated seedlings of plantain cv Orishele and FHIA 21

AMOA Amoa Jésus<sup>1</sup>, FOTSO Beaulys<sup>2</sup> and \*ZEZE Adolphe<sup>3</sup>

Laboratoire de Biotechnologies végétale et microbienne, Unité Mixte de Recherche et d'Innovation en Sciences Agronomiques et Génie Rural, INP-HB, P.O Box 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

E-mail: amoapv@gmail.com<sup>1</sup>, Phone: (+225) 49 11 45 34  
 E-mail: fbeaulys@yahoo.fr<sup>2</sup>, Phone: (+225) 57 40 10 45

\*Corresponding author's email: youhe.deba@gmail.com<sup>3</sup>, Phone: (+225) 09 77 43 26

### Abstract

In order to assess the effect of native arbuscular mycorrhizal fungi strains on plantain seedlings obtained by tissue multiplication technique, two cultivars of plantain (Orishele and FHIA 21) were inoculated with *Glomus clavisporum*, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus proliferum* and *Acaulospora* sp isolated from Côte d'Ivoire plantain fields. This study was conducted for twelve weeks in a greenhouse. Root colonization, growth, physiological and biomass parameters were assessed. It was shown that mycorrhization enhanced photosynthetic activity and growth of the macropropagated seedlings. Seedlings inoculated with *Rhizophagus proliferum* had the highest rate of mycorrhization (Orishele: 83%; FHIA 21: 92.33%). A better biomass production resulting from a relative mycorrhizal dependency of 79.81% for the Orishele cultivar and 42.55% for FHIA 21 cultivar was observed. The hierarchical cluster analysis showed that *Acaulospora colombiana* and *Rhizophagus proliferum* strains induced higher photosynthetic activity and a better growth of the seedlings. These strains have therefore important potential for mycorrhizal plantain seedlings production.

**Keywords:** Arbuscular mycorrhizal fungi, Côte d'Ivoire, Native strains, Plantain seedlings, Tissue multiplication technique.

### Introduction

The production of good quality planting materials is one of the main concerns for many plantain smallholders (Perrin, 2015). To solve this problem, an innovative and affordable technique for plantain seedlings production based on macropropagation was then developed by CARBAP (African Center for Research on Bananas and Plantain). This technique called "seedlings resulting from stem fragments" (Kwa, 2003; Sodom *et al.*, 2010) which allows the quick production of large quantities of planting materials, in soil-less culture conditions, is a good response to the issues faced by Côte d'Ivoire plantain sector (Traoré *et al.*, 2009). However, macropropagated plantlets obtained by this technique are exposed to declining soil fertility and attacks from pests and diseases; which can cause significant morbidity and mortality rate. To face this situation, chemical fertilizers and pesticides could be used to increase the production and the quality of plantain seedlings. But such practices

can endanger nurseryman and the environment. It is therefore necessary and urgent to develop biofertilization and bioprotection strategies to improve the quantity and the quality of the plantain seedlings production. The use of AMF (arbuscular mycorrhizal fungi) could be an alternative for good growth and better protection of macropropagated plantlets. *In vivo* mycorrhization improves growth, plant nutrition and plant protection against ground pathogens (Jefwa *et al.*, 2010; Willis *et al.*, 2013). The inoculation with AMF during the plantain seedlings acclimatization is therefore a key step to obtain vigorous seedlings resistant to soil pathogens attacks.

This work was conducted in order to study the impact of four AMF native strains (*Glomus clavisporum*, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus proliferum*, *Acaulospora* sp) on the quality of macropropagated seedlings of plantain cultivars Orishele and FHIA 21.

## Materials and methods

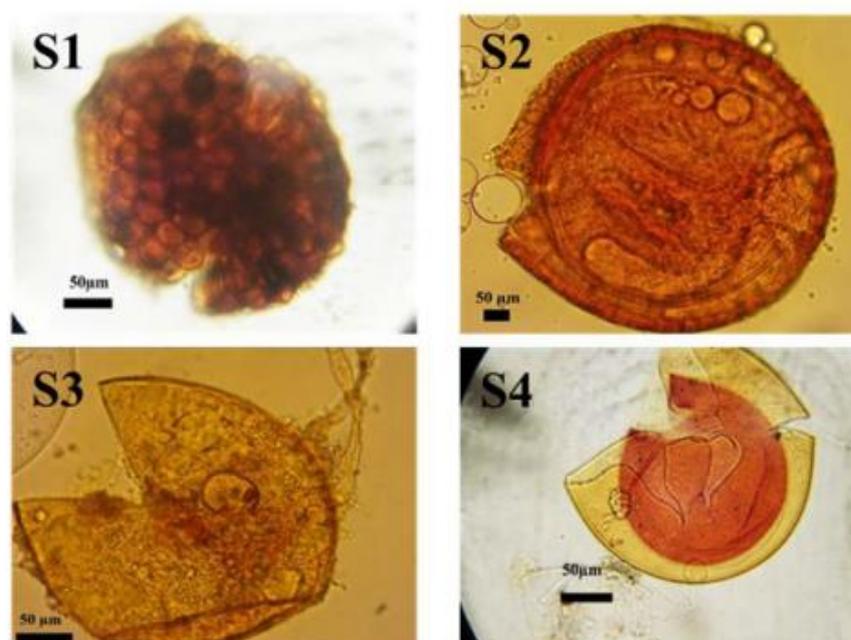
### Source of plant materials

Plantain seedlings cv. Orishele (*Musa* AAB) and FHIA 21 (*Musa* AAAB) were obtained from National Center for Agricultural Research in Côte d'Ivoire (CNRA). Seedlings were produced by macropropagation using the "seedlings from stem fragments" technique (Kwa, 2003).

### Isolating native mycorrhizal strains

Soil samples were randomly collected from plantain fields of three agro-ecological areas of Côte d'Ivoire (Fotso *et al.*, 2016). The soil samples collected were bulked and brought to the laboratory in well labeled polyethylene bags. Pot-cultures were established in

greenhouse using original soil samples mixed with autoclaved sand 1:3 (v/v) as the substrate for growth of cowpea (*Vigna unguiculata*) to propagate AMF strains. Plants were watered and fertilized with Long Ashton's no-P fertilizer. The most abundant AMF spore morphotypes were recovered and used to start monospecific culture on 10 days old cowpea seedlings grown in a sterile mix of sand-perlite 2:1 (v/v). Watering and fertilization were done similarly as for the AMF trapping. The best isolates were selected according to their abundance, their ubiquity and their ability to colonize efficiently plantain roots. After six months of trapping culture and purification, four strains of arbuscular mycorrhizal fungi: *Glomus clavisporum*, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus proliferum*, *Acaulospora* sp (Figure 1) were isolated. The inoculum was a homogeneous mixture of spores, root soil and host plant roots.



**Figure 1:** Spores of arbuscular mycorrhizal fungi strains used in the study (stained with Melzer's reagent). S1: *Glomus clavisporum*, S2: *Acaulospora colombiana*, S3: *Rhizophagus proliferum* and S4: *Acaulospora* sp

### Soil characteristics

The characteristics of the substrate are described in Table 1. Soil nutrient composition (nitrogen, phosphorous, potassium, carbon, magnesium, calcium,

sodium), CEC (Cation Exchange Capacity) and pH were determined according to standard procedures (Anderson & Ingram 1993; Okalebo *et al.* 2002).

**Table 1:** Physico-chemical parameters of substrates

	pH <sub>H2O</sub>	C (%)	N (%)	P (ppm)	CEC (cmol.kg <sup>-1</sup> )	Ca <sup>2+</sup> (cmol.kg <sup>-1</sup> )	Mg <sup>2+</sup> (cmol.kg <sup>-1</sup> )	K <sup>+</sup> (cmol.kg <sup>-1</sup> )	Na <sup>+</sup> (cmol.kg <sup>-1</sup> )
Sand	6.7	0.1	0.01	2	0.48	0.217	0.139	0.106	0.13
Soil	7.1	1.63	0.15	55	11.4	4.215	0.973	0.197	0.132

### Inoculation process

After deflasking, plantain seedlings were acclimatized for 4 weeks on a coconut fiber substrate. They were then transplanted into 5-liter-container with sterilized soil at 120 ° C under 1 bar for 1 hour. Inoculation of the plantlets occurred during the transplantation. Inoculation was done on 3-leaves stage plantlets with a height of 5 ± 1 cm. Three replicates were considered per treatment. Control experimental units (without inoculation) were also included with three replicates. The experimental units were arranged in a completely randomized design under greenhouse conditions.

### Assessment of growth parameters

Every two weeks, shoot height (from base), area of the second leaf from the sword shoot and the girth (at two cm from the base) of the stem were recorded. Eight weeks after inoculation, chlorophyll a was extracted from the second leaf with ethanol (80%) (Sadasivan & Manickam, 1996) and assessed using a spectrophotometer (JENWAY 7315). Then twenty pieces (1 cm) of fine roots were collected for each plantlet and stained with trypan blue (Phillips & Hayman, 1970), in order to determine the root colonization (Trouvelot *et al.*, 1986). At the end of the experiment, shoots and roots were harvested and dried at 80°C for 72 hours. Dry biomass weight was then assessed. The relative mycorrhizal dependency (RMD) were calculated for each treatment according to the following formula (Gerdemann, 1975):

$$RMD = \frac{\text{Dry weight of inoculated seedlings} - \text{Dry weight of control seedlings}}{\text{Dry weight of control seedlings}} \times 100$$

### Data analysis

In order to assess the effects of mycorrhizal strains, data collected were subjected to analyses of variance (Generalized Linear Models). Means found to be significantly different at  $p \leq 0.05$  were separated using Fisher's LSD (Least Significant Difference) test. Hierarchical cluster analysis based on all measured parameters was performed to classify treatments; the Ward clustering method with Euclidean distance was used.

### Results

#### Root colonization

The root colonization analysis showed that all treated seedlings were colonized by mycorrhizal structures. The strain *Rhizophagus proliferum* had the highest root colonization frequencies regardless the cultivars (Orishele: 83%; FHIA 21: 92.33%) (Table 2). The control seedlings showed no mycorrhizal structure.

**Table 2:** Plantain root colonization frequencies eight weeks after inoculation with native AMF strains

Treatments	Root colonization frequency (%)	
	Orishele	FHIA 21
Control	-	-
<i>Glomus clavisporum</i>	63.33 ± 20.28 a	66.67 ± 17.64 a,b
<i>Acaulospora colombiana</i>	83.33 ± 8.82 a	36.67 ± 21.86 a
<i>Rhizophagus proliferum</i> .	83.33 ± 16.67 a	92.33 ± 2.62 a
<i>Acaulospora sp</i>	40 ± 25.17 b	63.33 ± 23.33 a,b
Cultivars		p = 0.9498 F=0.0041
Treatments		p = 0.0004 F=8.2256
Cultivars×Treatments		p = 0.2777 F=1.3760

(Values within the same column with different letters are significantly different)

### Effects of AMF native strains on plantain seedlings growth

Eight weeks after inoculation, plants of the Orishele cultivar had significantly higher average height (18.66 cm) than the FHIA 21 cultivar. However, the girth of the FHIA 21 seedlings was significantly higher (2.08 cm) than the girth of Orishele cultivar (Table 3). Overall, inoculated seedlings had significantly better growth performance compared to control. Seedlings treated

with mycorrhizal strains had higher height ( $p = 0.0027$ ), girth ( $p < 0.0001$ ) and leaf area ( $p < 0.0001$ ) than non-treated plants (Table 3). *Acaulospora colombiana* had the most significant effect on seedlings height (Orishele: 20.57 cm, FHIA 21: 18.83 cm) and leaf area regardless the cultivar. Seedlings inoculated the strains *Glomus clavisporum* and *Acaulospora sp* showed the highest girth respectively for Orishele (2.05 cm) and FHIA 21 (2.35 cm).

**Table 3:** Growth parameters of plantain seedlings eight weeks after inoculation with native AMF strains

Treatments	Height (cm)		Girth (cm)		Leaf area (cm <sup>2</sup> )	
	Orishele	FHIA 21	Orishele	FHIA 21	Orishele	FHIA 21
Control	16.83 ± 0.33 c	16.6 ± 0.46 b	1.5 ± 0.09 b	1.78 ± 0.06 c	135.89 ± 15.65 b	163.29 ± 16.33 c
<i>Glomus clavisporum</i>	18.833 ± 0.60 a,b,c	17.13 ± 0.52 a,b	2.05 ± 0.08 a	1.98 ± 0.08 b,c	260.16 ± 15.04 a	247.93 ± 29.16 b
<i>Acaulospora colombiana</i>	20.57 ± 0.81 a	18.83 ± 1.09 a	1.92 ± 0.07 a	2.17 ± 0.09 a,b	307.28 ± 22.76 a	313.92 ± 27.27 a
<i>Rhizophagus proliferum</i>	17.83 ± 0.83 b,c	16.67 ± 0.44 a,b	1.97 ± 0.09 a	2.1 ± 0.06 a,b	258.61 ± 19.18 a	261.11 ± 11.58 a,b
<i>Acaulospora sp</i>	19.23 ± 0.64 a,b	18 ± 0.76 a,b	2.03 ± 0.02 a	2.35 ± 0.13 a	308.96 ± 2.07 a	293.85 ± 12.18 a,b
Cultivars	p = 0,0109 F=7.866		p = 0,002 F=12.604		p = 0,8781 F=0.024	
Treatments	p = 0,0027 F=5.841		p <0,0001 F=12.535		p <0,0001 F=23.366	
Cultivars×Treatments	p = 0,8113 F=0.393		p = 0,1640 F=1.823		p = 0,7963 F=0.414	

(Values within the same column with different letters are significantly different)

#### Effects of AMF native strains on plantain seedlings physiological and biomass dry weight

Control seedlings had significantly ( $p = 0.0015$ ) lower chlorophyll a content compared to seedlings treated with mycorrhizal strains. *Rhizophagus proliferum* increased significantly the chlorophyll a content of Orishele seedlings ( $51.74 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). While *Glomus clavisporum* increased significantly the chlorophyll a content of FHIA 21 seedlings ( $52.55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Biomass analysis showed that inoculation with mycorrhiza increased significantly plants dry weight ( $p = 0.0138$ ). Orishele plants

inoculated with *Acaulospora colombiana* and *Glomus clavisporum* strains had the highest plants dry weight, increasing respectively biomass by 90.18% and 90.02% compared to control. However, *Rhizophagus proliferum* and *Acaulospora sp* improved more significantly FHIA 21, respectively by 62.67%, 69.60% compared to control. (Table 4). The cultivar Orishele showed more dependency to mycorrhiza inoculation than to the FHIA 21 cultivar. The relative mycorrhizal dependency of Orishele cultivar was 79.81% and 42.55% for FHIA 21 cultivar.

**Table 4:** Physiological and biomass parameters of plantain seedlings eight weeks after inoculation with native AMF strains

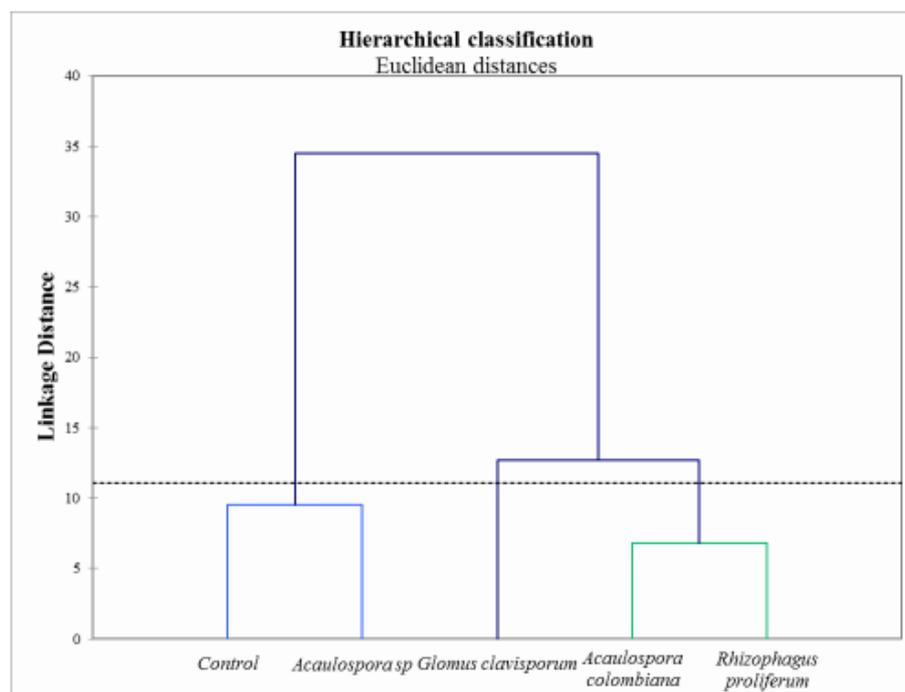
Treatments	Chlorophyll a ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )		Biomass dry weight (g)		RMD (%)	
	Orishele	FHIA 21	Orishele	FHIA 21	Orishele	FHIA 21
Control	31.65 ± 1.71 b,c	33.32 ± 2.59 b	8.35 ± 3.06 b	12.45 ± 4.25 b	-	-
<i>Glomus clavisporum</i>	45.79 ± 6.77 a,b	52.55 ± 0.86 a	15.86 ± 1.91 a	14.03 ± 3.85 b	90.02	12.72
<i>Acaulospora colombiana</i>	40.97 ± 3.78 a,b,c	43.78 ± 1.19 a,b	15.87 ± 2.87 a	15.58 ± 5.63 a,b	90.18	25.20
<i>Rhizophagus proliferum</i>	51.74 ± 2.40 a	37.98 ± 2.62 a,b	14.69 ± 0.28 a,b	20.25 ± 4.05 a	76.04	62.67
<i>Acaulospora sp</i>	27.13 ± 5.78 c	31.02 ± 1.21 b	13.61 ± 1.41 a,b	21.11 ± 5.93 a	63.02	69.60
Cultivars	p = 0.9267 F=0.0087		p = 0.0285 F=5.5758		p <0,0001 F=26.2564	
Treatments	p = 0.0015 F=6.6051		p = 0.0138 F=4.0968		p = 0,0033 F=5.6488	
Cultivars×Treatments	p = 0.2427 F=1.4904		p = 0.1470 F=1.9162		p = 0,0878 F=2.3618	

(Values within the same column with different letters are significantly different)

#### Hierarchical clustering of AMF native strains

The hierarchical clustering of AMF strains based on growth, physiological and biomass parameters revealed three clear clusters of performance. Cluster I, *Rhizophagus proliferum* and *Acaulospora colombiana* strains; cluster II, *Glomus clavisporum* strain; and cluster

III, *Acaulospora sp* and control (Figure 2). Seedlings inoculated with *Rhizophagus proliferum* and *Acaulospora colombiana* strains had the same behavior. Only seedlings inoculated with *Acaulospora sp* strain had the same characteristics as control seedlings.



**Figure 2:** Hierarchical clustering of AMF inoculants based on growth, physiological and biomass parameters of plantain seedlings

## Discussion

Knowledge on the status of AMF in plantain cropping systems is limited but increasing due to recent rising interest. Mainly conducted in East and Central Africa, research on bananas and plantain mycorrhization showed that AMF offer significant promise to help address soil fertility and pests and disease constraints. While most studies in Africa on the effect of mycorrhiza on growth of plantain and bananas seedlings were focused on micropropagated plantlets (Jefwa *et al.*, 2010), the present study investigates the effect of those microorganisms on macropropagated plantain seedlings.

The high level of colonization of roots by AMF strains (higher than 40%) is due to the efficiency of native AMF strains isolated from plantain fields. In addition, plantain plants appear to be highly mycorrhizal (Msiska, 2001; Jaizme-Vega *et al.*, 2002). The highest colonization frequencies were observed on plants inoculated with *Rhizophagus proliferum* belonging to the Glomeraceae family. The study conducted by Declerck *et al.* (1995) confirms these observations, showing that the species of the Glomeraceae family had the best root colonization efficiency. The root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi could be determinant in plants vigor improvement as observed by Harrier & Watson (2004) and Li *et al.* (2006).

The high levels of chlorophyll a content of inoculated plants could be due to a good phosphorus uptake by inoculated plants (Tavasolee *et al.*, 2011; Birhane *et al.*, 2012). This would result in better photosynthetic activity in inoculated plants (Adolfsson *et al.*, 2015). The improvement of vegetative growth (Osorio *et al.*, 2008)

observed in mycorrhizal plants would be the combined result of better nutrient uptake on the one hand and good photosynthetic activity on the other (Valentine *et al.*, 2001). The improvement of vegetative growth and biomass by mycorrhizal fungi was also reported on micropropagated plantain seedlings by Tsané *et al.* (2005) in Cameroon and by Kavoo-mwangi *et al.* (2014) in Kenya.

The local cultivar Orishele (*Musa* AAB) had a higher relative mycorrhizal dependency. The cultivar FHIA 21 (*Musa* AAAB), established a symbiosis with the mycorrhizal fungi, but showed less dependency to mycorrhiza. This could be caused by the difference between the two genotypes, the local strain showing more sensibility to inoculation with native strains. *Acaulospora colombiana* and *Rhizophagus proliferum* appeared to be the best strains for plantain seedlings production in Côte d'Ivoire. They were more effective in terms of root colonization, physiology and growth parameters of the Orishele and FHIA 21 cultivars seedlings. The efficiency of *Acaulospora colombiana* was also reported on cassava (Sery *et al.*, 2016).

## Conclusion

Our results showed that native AMF strains isolated from Côte d'Ivoire plantain fields have good mycorrhizal ability as well as significant effect on the growth, physiological and biomass parameters on macropropagated plantain seedlings. The *Rhizophagus proliferum* and *Acaulospora colombiana* strains induced a better photosynthetic activity and a better vegetative growth of macropropagated plantain seedlings.

## References

- Adolfsson L, Solymosi K, Andersson MX, Keresztes Á, Uddling J, Schoefs B, Spetea C (2015). Mycorrhiza Symbiosis Increases the Surface for Sunlight Capture in *Medicago truncatula* for Better Photosynthetic Production. *Plos One*, 10(1), 1–18. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0115314>
- Anderson JM, Ingram JS (1993). *Tropical Soil Biology and Fertility: Handbook of Methods* (CAB Intern). Wallingford.
- Birhane E, Sterck FJ, Fetene M, Bongers F, Kuyper TW (2012). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance photosynthesis, water use efficiency, and growth of frankincense seedlings under pulsed water availability conditions. *Oecologia*, 169(4), 895–904. <http://doi.org/10.1007/s00442-012-2258-3>
- Declerck S, Plenchette C, Strullu DG (1995). Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant and Soil*, 176, 183–187.
- Fotso B, Amoa AJ, Sery DJM, Nandjui J, Voko BRDR, Kouadio ANMS, Gbongue LR, Niemenak N, Zézé A (2016). Effects of soil physico-chemical properties on occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi communities associated to plantain (*Musa* AAB, Musaceae) rhizosphere in Côte d'Ivoire. *African Journal of Agricultural Science and Technology*, 4(1), 580–594.
- Gerdemann JW (1975). Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In J. G. Clarkson & D. Torrey (Eds.), *The development and Function of Roots* (Academic P, pp. 575–591). New York and London.
- Harrier LA, Watson CA (2004). The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Management Science*, 60(2), 149–57. <http://doi.org/10.1002/ps.820>
- Jaizme-Vega MC, Esquivel DM, Tenoury DP, Romero RAS (2002). Effet de la mycorrhization sur le développement de deux cultivars de bananier issus de micropropagation. *InfoMusa*, 11(1), 25–28.
- Jefwa J, Vanlauwe B, Coyne D, Asten PV, Gaidashova S, Rurangwa E, Eisen A (2010). Benefits and potential use of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in banana and plantain (*Musa* spp.) systems in Africa. *Acta Horticulturae*, 879, 479–486. <http://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.879.52>
- Kavoo-mwangi AM, Kahangi EM, Ateka E, Onguso J, Jefwa JM (2014). Integration of Commercial Microbiological Products into Soil Fertility Practices as a Potential Option for Acclimatization and Growth of TC Banana in Kenya. *Open Journal of Soil Science*, 4, 259–271. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.4236/ojss.2014.48028>
- Kwa M (2003). Activation of latent buds and use of banana stem fragments for mass propagation of plants under horticultural conditions in vivo. *Fruits*, 58(6), 315–328. <http://doi.org/10.1051/fruits>
- Li H, Yang G, Shu H (2006). mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* induces a defense response against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in the grapevine (*Vitis amurensis* Rupr.). *Plant and Cell*, 47(1), 154–163. <http://doi.org/10.1093/pcp/pci231>
- Msiska Z (2001). Arbuscular Mycorrhizal Fungi of Uganda banana plantation soils. University of Pretoria, Pretoria.
- Okalebo JR, Gathna KW, Woome PL (2002). *Laboratory Methods for Soil and Plant Analysis (TSBF-CIAT)*. Nairobi: Tropical Soil Fertility and Biology Program.
- Orosio ECU, Sánchez ADC, Molano EFA, Velásquez AFG, Agudelo CAL (2008). Effect of mycorrhizae and fertilization in biomass accumulation in banana plants. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellin*, 61(1), 4269–4278.
- Perrin, A. (2015). Study of the banana plantain sector in Côte d'Ivoire. RONGEAD. Abidjan.
- Phillips JM, Hayman DS (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 55, 158–161.
- Sadasivan S, Manickam A (1996). Pigments. In *Biochemical Methods* (2nd Edition) (New Age, pp. 190–191). New Delhi.
- Sadom L, Tomekpé K, Folliot M, Côte FX (2010). Comparison of the efficiency of two methods of rapid multiplication of banana plants from the study of the agronomic characteristics of a plantain hybrid (*Musa* spp.). *Fruits*, 65(1), 3–9. <http://doi.org/10.1051/fruits/2009036>
- Sery DJM, Kouadjo ZCG, Voko BRR Zézé A (2016). Selecting native arbuscular mycorrhizal fungi to promote cassava growth and increase yield under field conditions. *Front. Microbiol.*, 2063. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02063>
- Tavasolee A, Aliasgharzarad N, Salehijouzani G, Mardi M Asgharzadeh A (2011). Interactive Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and rhizobial Strains on Chickpea Growth and Nutrient Content in Plant. *African Journal of Microbiology*, 10, 7585–7591.
- Traoré S, Kobenan K, Kouassi KS, Gnonhour G (2009). Plantain cultivation systems and methods for controlling pests and pests in Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 19, 1094–1101.
- Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986). Mesure du taux de mycorrhization VA dun systeme racinaire. Reserche de methodes destination ayant une signification fonctionelle. In V. Gianinazzi-Pearson & S. Gianinazzi (Eds.), *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae* (pp. 101–109). Paris: INRA.
- Tsané G, Ogain R, Chard R, Oko J (2005). Impact of arbuscular mycorrhization on the growth of plantain vitroplants, tested on soils of different fertility under controlled conditions in Cameroon. *Cambridge Journals Online*, 60(5), 303–309. <http://doi.org/10.1051/fruits>
- Valentine A, Osborne BA, Mitchell DT (2001). Interactions between phosphorus supply and total nutrient availability on mycorrhizal colonization, growth and photosynthesis of cucumber. *Scientia Horticulturae*, 88, 177 – 189.
- Willis A, Rodrigues BF, Harris PJC (2013). The Ecology of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32(1), 1–20. <http://doi.org/10.1080/07352689.2012.683375>.

## RÉSUMÉ

Le bananier plantain, culture de grande consommation en Côte d'Ivoire, est confronté aux difficultés d'accès au matériel végétal, d'utilisation de variétés non améliorées et de techniques agricoles peu performantes. Pour pallier ces insuffisances, la technique de « Plants issus de fragments de tiges » a été développée et constitue la méthode clé pour la production de plantules de bananier plantain en Côte d'Ivoire. La présente étude est menée afin de mettre au point une ingénierie biologique à base de champignons endophytes pour améliorer cette technique. Dans un premier temps, la structure des communautés des champignons mycorhiziens arbusculaires indigènes de trois zones agroécologiques - Abengourou, Azaguié et Bouaflé - a été étudiée en utilisant la technique Illumina Miseq. Cette étude a montré que les champs de bananier plantain contiennent une communauté diversifiée de champignons mycorhiziens. Les genres *Acaulospora* et *Rhizophagus* ont été les plus abondants et les plus ubiquitaires. Quatre souches indigènes - *Glomus clavisporum*, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus proliferum* et *Acaulospora sp* - ont été isolées et leur efficacité sur l'amélioration de la qualité de deux cultivars de plantain, Orishele et FHIA 21, a été évaluée. La mycorhization a permis d'accroître l'activité photosynthétique et la croissance des vivoplants issus du PIF. Les vivoplants inoculés avec *Rhizophagus proliferum* ont le taux de mycorhization le plus élevé. Une dépendance relative à la mycorhization de 79,81 % pour le cultivar Orishele et de 42,55 % pour le cultivar FHIA 21 a été observée. Les souches *Acaulospora colombiana* et *Rhizophagus proliferum* ont été les plus performantes. Ces souches ont donc un potentiel de production de plants endomycorhizés de plantain. Par la suite, l'effet de ces deux souches locales sur la croissance et le rendement de vivoplants de bananier plantain en champ a été comparé à l'inoculum commercial Myke Pro®. Les inoculants mycorhiziens ont amélioré la croissance du bananier plantain ainsi que le rendement de 20,86 - 40,17 % à Yamoussoukro et de 11,45 - 54,29 % à Bouaflé. Globalement, les souches indigènes, plus adaptées aux conditions environnementales, ont eu le meilleur effet sur la croissance et le rendement de plantain. Ces souches présentent donc un grand potentiel pour la formulation d'inoculum commercial à base de mycorhizes locaux. Les endophytes *Neosartorya laciniosa* et *Talaromyces assiutensis* ainsi que trois souches de *Fusarium solani* ont été isolés des tissus de bananier provenant de la zone d'Azaguié. La souche *Neosartorya laciniosa* a l'effet de biocontrôle le plus efficace ( $CI_{50} = 0,8$  g/L et  $CI_{90} = 7,6$  g/L) sur les souches de *Fusarium solani*.

**Mots-clés :** Champignons mycorhiziens à arbuscules, Côte d'Ivoire, Endophytes, Ingénierie biologique, Plantain, Souches locales, Vivoplants.

## ABSTRACT

Plantain, an important staple crop in Côte d'Ivoire, is facing issues such as lack of planting material, varieties and inefficient agricultural techniques. To overcome these issues, the technique of "Stem fragments" has been developed and is the key method for the production of plantain seedlings in Côte d'Ivoire. The present study is conducted to develop biological engineering based on endophytic fungi to improve this technique. First, the community structure of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi from three agroecological zones - Abengourou, Azaguié and Bouaflé - was studied using illumina Next Generation Sequencing. This study showed that plantain fields contain an important community of mycorrhiza. The genera *Acaulospora* and *Rhizophagus* were most abundant and broad. Four indigenous strains - *Glomus clavisporum*, *Acaulospora colombiana*, *Rhizophagus proliferum* and *Acaulospora sp* - was isolated and their efficiency on improving the quality of two cultivars of plantain, Orishele and FHIA 21, was assessed. This study was conducted for twelve weeks in a greenhouse. Root colonization, growth, physiological and biomass parameters were assessed. Mycorrhization enhanced photosynthetic activity and growth of the macropropagated seedlings. Seedlings inoculated with *Rhizophagus proliferum* had the highest rate of mycorrhization. A relative mycorrhizal dependency of 79.81% for the Orishele cultivar and 42.55% for FHIA 21 cultivar was observed. The hierarchical cluster analysis showed that *Acaulospora colombiana* and *Rhizophagus proliferum* strains induced higher photosynthetic activity and a better growth of the seedlings. These strains have therefore a potential for mycorrhizal plantain seedlings production. Then, the effect of the indigenous mycorrhiza isolates on plantain growth and yield was compared to an exotic commercial strain of *Rhizophagus intraradices*. The mycorrhizal inoculants improved plantain growth as well as plantain yield by 20.86-40.17 % in Yamoussoukro and by 11.45 - 54.29 % in Bouaflé. Overall indigenous strains, more adapted to environmental conditions, had the best effect on plantain growth and yield. These strains showed a great potential for commercial inoculant formulation based on local mycorrhiza. The endophytic fungi *Neosartorya laciniosa* and *Talaromyces asiutensis* as well as three *Fusarium solani* strains were isolated from plantain tissue harvested in Azaguié. The strain *Neosartorya laciniosa* had the best biocontrol effect on *Fusarium solani* strains ( $IC_{50} = 0.8$  g/L et  $IC_{90} = 7.6$  g/L).

**Keyword :** Biological Engineering, Côte d'Ivoire, Endophytes, Indigenous strains, Macropropagated seedlings, Mycorrhiza, Plantain.

