

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I
THE UNIVERSITY OF YAOUNDE
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



FACULTÉ DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

LABORATOIRE DE BIO-CONTROLE ET MICROBIOLOGIE APPLIQUEE (IRAD)
BIOLOGICAL CONTROL AND APPLY MICROBIOLOGIE LABORATORY (IRAD)

Biodiversité des champignons mycorhiziens de la rhizosphère de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) : influence du mildiou dans deux zones agroécologiques du Cameroun

Mémoire présenté et soutenu en vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie.

Option : Sol et environnement.

Par :

DONGMO VOUKENG Thierry Landry

Licencié (ès) Sciences

Matricule : 12Q0458

Sous la direction

NGONKEU MANGAPTCHE Eddy Léonard

Maître de Conférences



Année académique 2018 / 2019

DEDICACE

A toute ma famille, en particulier mes parents M. DONGMO Boniface et Mme ZANGHO Odette. Trouvez ici le fruit des longues années de sacrifices et l'expression de ma profonde gratitude. À mes frères et sœurs, Et surtout à tous ceux qui ont cru en moi.

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce mémoire a été possible par le concours de plusieurs personnes que je souhaite mentionner dans ce document. Je tiens à remercier les institutions qui ont permis la réalisation de ce travail. Il s'agit de: l'Université de Yaoundé I et l'Institut de Recherche Agricole pour le Développement (IRAD) à travers leurs laboratoires. Je remercie également le Chef du Département de Microbiologie, en la personne du Pr ETOA François Xavier, pour le cadre idéal qui règne au sein du Département. Je remercie avant tout :

- Tous les enseignants dudit Département pour les efforts et sacrifices consentis pour que nous puissions avoir une formation de qualité ;
- Pr. NGONKEU MANGAPTCHÉ Eddy L. Maître de Conférences au Département de Biologie et Physiologie Végétales, qui a accepté de diriger ce travail. Ses conseils, ses corrections et les moyens humains, matériels et financiers qu'il a mobilisé pour que mon stage se déroule dans les meilleures conditions ;
- Le Président et les membres du jury pour leur disponibilité à examiner et à détecter les lacunes dans ce document afin de me permettre de l'améliorer ;
- Mlle TCHETCHOUA Rosine, étudiante en thèse de doctorat PhD, pour avoir accepté travailler avec moi dans le cadre des deux projets dont elle a reçu des financements ;
- Dr. BEGOUDE Didier, Maître de Recherche à l'IRAD, Chef de Laboratoire Régional de lutte Biologique et de Microbiologie Appliquée de l'IRAD ;
- L'équipe de travail des laboratoires d'analyses de sols, plantes, eaux, aliments (ISO 17025), de Phytopathologie et de Lutte Biologique de l'IRAD en particuliers, Mme MAHOT chercheur, pour son soutien, M. MESSI, M. CHATUE pour leur confiance et leur support inestimable ;
- M. OWONA Alexie assistant technique, pour son expertise en technique microbiologiques ;
- La famille SONKÉ pour leur assistance leurs conseils et leurs encouragements ;
- Tous mes amis en particuliers, DJOUGNE, NJIKI, MOUBOU, ATANGANA, BAPA, BOYOMO, MEDZI, MBOHOU, TCHECHOUA Yves, Dr. TEKEU Honoré, MAM Charly, KAMKO. Par leur talent, leur originalité, leur courage et leur persévérance, m'ont procuré le meilleur des soutiens ;
- L'équipe de terrain (Nord-Ouest ; Ouest et Extrême-Nord) en particuliers, M. MADRA VAYA André, et ses collègues sans oublier tous les producteurs qui ont bien voulu discuter avec nous dans leur champ et rendu notre séjour dans ses différents villages agréable ;
- Tous ceux dont le nom ne figurent pas ici et qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS	iii
SOMMAIRE	iv
LISTE DES FIGURES	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES ABREVIATIONS	viii
RESUME.....	ix
ABSTRACT	x
CHAPITRE I. GENERALITES	1
I.1 Introduction.....	1
I.2. Revue de la littérature.....	3
I.2.1. Biologie de la pomme de terre	3
I.2.1.1. Historique de la pomme de terre	3
I.2.1.2. Taxonomie de la pomme de terre.....	3
I.2.1.3. Description botanique de la pomme de terre.....	3
I.2.1.4. Importance et production de la pomme de terre dans le monde	5
I.2.1.5. Etat des lieux de la pomme de terre au Cameroun.....	5
I.2.1.6. Contraintes liées à la production de la pomme de terre	6
I.2.2. Généralités sur le mildiou de la pomme de terre.....	8
I.2.2.1. Origine de <i>Phytophthora infestans</i>	8
I.2.2.2. Biologie de <i>Phytophthora infestans</i>	8
I.2.2.3. Description des symptômes du mildiou de la pomme de terre	10
I.2.2.4. Lutte contre <i>Phytophthora infestans</i>	11
I.2.3. Généralités sur la symbiose mycorhizienne	12
I.2.3.1. Définition et concept de mycorhize	12
I.2.3.2. Typologie des mycorhizes.....	12
I.2.3.3. Taxonomie et classification des champignons mycorhiziens à arbuscules.....	14
I.2.3.4. Importance des mycorhizes à arbuscules	15
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	17
II.1. Matériel.....	17
II.1.1. Présentation du site expérimental	17
II.1.2. Matériel biologique.....	18
II.2. Méthodes	18

II.2.1. Échantillonnage et traitement des sols et des racines	18
II.2.1.1. Échantillonnage des sols	18
II.2.1.2. Traitement des racines et des sols	19
II-2-2. Analyses des sols.....	19
II.2.2.1. Piégeage des champignons mycorhiziens.....	19
II.2.2.2. Isolement et comptage des spores des sols de la rhizosphère.....	20
II.2.2.3. Caractérisation morphologique des CMA	21
II.2.2.4. Comptage des spores de CMA.....	22
II.2.2.5. Coloration des racines des plantes	22
II.2.2.6. Détermination de la diversité des CMA des sols	24
II.2.2.7. Criblage et sélection les isolats de CMA	26
II.2.3. Analyses statistiques	29
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	30
III.1. RESULTATS	30
III.1.1. Diversité et abondance des spores de CMA dans les différents sols étudiés.....	30
III.1.1.1. Diversité et abondance relative	30
III.1.2. Caractérisation morphologique et identification des CMA.....	31
III.1.2.1. Variation de l'incidence de la maladie en fonction de l'abondance relative des spores de CMA et leurs richesses spécifiques dans la zone agroécologique I.....	37
III.1.3. Indices de diversité des CMA	38
III.1.4. Colonisation racinaire de <i>Solanum tuberosum</i> et des plantes pièges	38
III.1.4.2. Colonisation des racines de pomme de terre en fonction des sites d'études .	39
III.1.4.3. Colonisation des racines des plantes piège en fonction des sites d'études....	40
III.1.5. Germination des spores de CMA sur milieu gélosé	41
III.1.6. Purification des spores de CMA prégermées	41
III.1.7. Criblage et sélection des isolats de CMA en fonction des types de multiplication.....	43
III.2. Discussion	46
CHAPITRE IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	50
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	51
ANNEXES	58

LISTE DES FIGURES

Fig. 1. Morphologie d'une plante de pomme de terre.	3
Fig. 2. Demande, production, importation et exportation de la pomme de terre au Cameroun sur les 15 dernières années.	6
Fig. 3. Cycle biologique de <i>Phytophthora infestans</i> ,	9
Fig.4. Symptôme du mildiou de la pomme de terre..	10
Fig.5. Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens à arbuscules.....	13
Fig.6. Types de symbiose mycorhizienne représentés sur une coupe transversale de racine. .	14
Fig.7. Carte des cinq zones agro-écologiques du Cameroun.....	17
Fig. 8. Symptômes du mildiou en champs	18
Fig. 9. Illustration d'un pot de piégeage.....	19
Fig. 10. Dispositif de piégeage des CMA 3 mois après : pots sur les étagères.	20
Fig. 11. Boîte de Pétri quadrillée.....	22
Fig.12. Etape de la coloration racinaire des CMA	23
Fig.13. Echelle d'évaluation de la colonisation racinaire	24
Fig.14. Dispositif expérimental de purification et de multiplication des spores de CMA.	28
Fig. 15. Variation de l'abondance relative (AR) et de la richesse spécifique des CMA (zone III). a : dans les échantillons de sols infectés ; b : dans les échantillons de sols non infectés.....	30
Fig. 16. Variation de l'abondance relative (AR) et de la richesse spécifique des CMA.....	31
Fig.17. Structures morphologiques des spores des champignons mycorhiziens à arbuscules.	35
Fig.18. Diversité des structures membranaires et contenu des spores des champignons mycorhiziens à arbuscules.....	36
Fig.19.a. Abondance relative des spores en fonction de l'incidence de la maladie. Zone I.....	37
Fig.20. Coloration racinaire des plantes pièges (sorgho et du niébé). H : hyphes; S : spore; Ar : arbuscules; V : vésicules.	40
Fig.21. Germination et croissance des spores sur milieu gélosé: 1. Spores ; 2. Hyphes ; 3. Réseau mycélien après 10 jours	41
Fig. 22. Effets des morphotypes et du nombre de spores de CMA sur la longueur de la tige.	43
Fig. 23. Effets des morphotypes et du nombre de spores de CMA sur le nombre de feuilles..	44
Fig. 24. Effets des morphotypes et du nombre de spores de CMA sur la surface foliaire.	44
Fig. 25. Effets des morphotypes et du nombre de spores de CMA sur le diamètre au collet...	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Taxonomie de la pomme de terre	3
Tableau II. Valeur nutritionnelle de la pomme de terre	5
Tableau III. Classification de <i>Phytophthora infestans</i>	8
Tableau IV. Mode de lutte contre <i>Phytophthora infestans</i> de la pomme de terre.	11
Tableau V. Classification des champignons mycorhiziens à arbuscules.	15
Tableau VI. Coordonnées des sites de la zone I.....	17
Tableau VII. Coordonnées des sites de la zone III.....	17
Tableau VIII Caractéristiques morphologiques des spores de CMA.	22
Tableau IX. Récapitulatifs des morphotypes de CMA en fonction des zones agro-écologiques	31
Tableau X. Confrontation des différents morphotypes d'intérêt et sols témoins isolés.....	36
Tableau XI. Récapitulatif des indices de diversité des CMA en fonction des zones	38
Tableau XII. Fréquence et l'intensité de colonisation racinaire de la pomme de terre	39
Tableau XIII. Fréquence et l'intensité de colonisation racinaire des plantes pièges.....	40
Tableau XIV. Résultats de la multiplication des CMA à partir d'une spore.....	42
Tableau XV. Résultats de la multiplication des CMA à partir de 10 spores.....	42
Tableau XVI. Potentiel des isolats de CMA en fonction des paramètres agronomiques.....	42

LISTE DES ABREVIATIONS

CA :	Colonisation des Arbuscules.
CEIPS :	Centre d'Étude, d'Instruction et de Production des Semences.
CEMAC :	Communauté Économique et Monétaire de l'Afrique Centrale.
CH :	Colonisation des Hyphes
CIP :	Centre International pour la Pomme de terre.
CIPRE	Centre International de Promotion de la Récupération.
CMA :	Champignons Mycorhiziens à Arbuscules.
CP :	Compost.
CPG :	Casamino acide, Peptone, Glucose.
CV :	Colonisation des Vesicules
FAO :	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture.
H' :	Indice de Shannon Weaver
HR	Humidité Relative
IRAD :	Institut de Recherche Agricole pour le Développement
ISR	Induction des Systèmes de Résistance de la plante
MINADER :	Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
OEPP :	Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes.
PRFPT :	Programme d'appui à la Relance de la Filière Pomme de terre.
CSp :	Colonisation des spores
PVLG :	Acide Polyvinylique-acide Lactique-Glycérine
SDN	Système de Défense Naturel de la plante

RESUME

Le mildiou est la plus dévastatrice des contraintes du répertoire des maladies affectant les Solanacées, et plus précisément *Solanum tuberosum*. Dans le but d'éradiquer cette maladie, une investigation menée dans les grands bassins de production de cette plante au Cameroun, nous a permis de constater que, dans les mêmes champs, pour les mêmes variétés, certaines plantes présentaient les symptômes de la maladie et d'autres n'en présentaient pas. Pour atteindre ce but, la lutte biologique est la plus appropriée pour des raisons économiques et écologiques. C'est pourquoi il est nécessaire de se concentrer sur l'optimisation de la relation microorganismes rhizosphériques plantes notamment les CMA (Champignons Mycorhiziens à Arbuscules). La présente étude est menée dans le but d'étudier la biodiversité de CMA de la rhizosphère de la pomme de terre infectée et non infectée par *P. infestans*. Pour cela, 23 sols sont échantillonnés dans 12 sites, appartenant à deux zones agro-écologiques (zone I : Soudano-sahélienne et zone III : des Hauts plateaux de l'Ouest) avec 12 sols, présentant les symptômes de la maladie et 11, ne présentant pas ces symptômes. Le recensement des CMA s'est fait après piégeage pour compter et inventorier les différents morphotypes. La caractérisation morphologique des isolats, la purification, la multiplication et l'évaluation du potentiel des isolats sont effectuées. Les résultats obtenus montrent que, des 18 morphotypes (8 genres) recensés dans la rhizosphère de la pomme de terre, 10 se présentent comme des morphotypes appartenant préférentiellement à la rhizosphère de la pomme de terre. Des 10, 8 sont uniquement présents dans la rhizosphère de la pomme de terre non infectée. Il s'agit des genres *Glomus* (T3, T7, T16, T17) *Rhizophagus* (T6) *Clarodeoglomus* (T18) *Acaulospora* (T9) et *Entrophospora* (T8). De plus, l'abondance relative des spores entre les sites varie très peu ($P > 0.05$). Mais, la diversité des spores varie significativement ($P < 0.05$) en fonction des sites et en fonction de l'aspect sanitaire de l'échantillon. Et les indices de diversité de Shannon-Weaver compris entre 0,51 et 0,99 pour la rhizosphère des plantes malades ; entre 0,68 et 1,04 pour la rhizosphère des plantes non malades, confirment cette variabilité de la diversité avec 78,8% et 68,8% des cas de variation de l'incidence de la maladie qui s'explique par la diversité en champ respectivement dans les zones III et I. La présence des structures fongiques des CMA dans les racines de pomme de terre des différents sites montre que cette plante peut être colonisée jusqu'à 44% mais il y'a pas de différence significative entre les échantillons malades et non malades. Le potentiel des isolats testés sur la croissance du sorgho est 2 à 4 fois plus important par rapport au témoin non inoculé. Par ailleurs, ce même potentiel varie significativement ($P < 0.05$) en fonction des isolats. Ainsi, les traitements T7, et T9 sont les meilleurs pour la croissance du sorgho.

Mots clés : *Solanum tuberosum*, CMA, *Phytophthora infestans*, zones agroécologiques

ABSTRACT

Mildew is among the most important diseases, causing great loss in the *Solanaceae* family, precisely to *Solanum tuberosum*. An investigation carried out in the main potato production zone of Cameroon revealed for the same fields and the same varieties, some plants presented symptoms of the disease while others did not. To eradicate this disease, biological control seems to be the most appropriate method, both for economic and ecological reasons. To carry out this, it is necessary to focus on the optimization of plant-rhizospheric microorganisms' relationship, principally arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). In order to do this, domestication of these microorganisms is necessary. The aim of this study was to evaluate the biodiversity of the AMF present in the rhizosphere of potato infected with *Phytophthora infestans* and non-infected potato. To do this, 23 soils samples were collected from 12 sites belonging at two agroecological zones (Zone I: Sudano-Sahelian and Zone III: Western Highlands). Out of these samples, 12 showed symptoms of the disease while 11 did not. Screening of AMF was done by trapping. Morphological characterization, purification, multiplication and evaluation of pure and composite isolates was then carried out. Results showed that, out of the 18 morphotypes belonging to 8 genera screened in potato rhizosphere, 10 seem to be potato related. Among these 10, 8 are only present in the rhizosphere of the non-infected potato. These are *Glomus* (T3, T7, T16, T17), *Rhizophagus* (T6), *Clarodeoglomus* (T18), *Acaulospora* (T9) and *Entrophospora* (T8). Also, the relative abundance of spores between sites varied very little ($P>0.05$). However, spore diversity varied significantly ($P<0.05$) depending on the site and the sanitary aspect of the sample. The Shannon-Weaver diversity indice between 0.51 and 0.99 for disease related CMA spores, and between 0.68 and 1.04 for non-diseased related ones, confirm this diversity variability with 78.8% and 68.8% of cases of variation of the incidence of the disease which is explained by the diversity in field respectively in zones III and I. The presence of the fungal structures of the AMF in the potato roots of the different sites shows that this plant can be colonized up to 44% but there is no significant difference between the disease relates and non-diseased ones. The potential of tested isolates on sorghum growth is 2 to 4 times higher compared to the uninoculated control. Moreover, this same potential varies significantly ($P<0.05$) depending on the isolates. In this case, the treatments T7 and T9 revealed to be the best for sorghum growth.

Keywords: *Solanum tuberosum*, AMF, *Phytophthora infestans*, agroecological zone.

CHAPITRE I. GENERALITES

I.1 Introduction

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est une plante herbacée tubéreuse originaire d'Amérique latine. Elle est la plante la plus importante de la famille des *Solanaceae* sur le plan alimentaire et économique (Anonyme 1, 2008). Avec une production mondiale estimée à 385 millions de tonnes en 2017, elle occupe le quatrième rang de culture mondiale après le riz, le blé et le maïs et la première non céréalière (Anonyme 4, 2018). Elle est cultivée sur presque tous les continents et dans tous les environnements de haute altitude. Elle représente une bonne source d'énergie grâce à l'amidon renfermé dans son tubercule, environ 90 kcal/100 g (Oswaldo, 2010).

Au Cameroun la pomme de terre est cultivée par excellence dans les régions de l'Ouest et du Nord-ouest où les conditions écologiques sont idéales (15-25°C et en moyenne 1200 m). Elle représente la deuxième plante à tubercule du pays après le manioc, et rentre dans l'alimentation quotidienne de près de 5 millions de camerounais (4-10 kg/an/habitants) (Anonyme 3, 2014). Sa production nationale, estimée à 377.257 tonnes en 2017 sur une superficie de 43.281 hectares, ne représente que les un tiers de la demande nationale estimée à 1 millions de tonnes et moins de un cinquième de la demande sous régionale estimée à 2,5 Mt (Anonyme 4, 2018). De plus, 17 % de cette production est exportée vers les pays de la sous-région, et Cette faible production malgré la demande importante, pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs dont les plus saillants sont d'ordre biotique (Anonyme 2, 2012).

En effet, les facteurs biotiques causent des pertes estimées à 50% (Anonyme 3, 2014) et la contrainte biotique majeure est le mildiou, causée par *Phytophthora infestans* (Sébastien, 2012). Ce micro-organisme tellurique de la classe des Oomycètes est responsable des pourritures brunes d'un grand nombre d'espèces végétales surtout chez les dicotylédones à travers le monde (Vierstra, 2012). Ubiquiste, il est présent dans les zones tropicales, subtropicales et tempérées (Vierstra, 2012) et considéré comme agent potentiel de bioterrorisme aux USA et agent en quarantaine en Europe (Lambert, 2002 ; Cellier et *al.*, 2010). Il cause des pertes économiques estimées à plus d'1 milliard US \$ par an (Haverkort et *al.*, 2011). Au Cameroun, en plus de la pomme de terre, il attaque la tomate, le piment, l'aubergine, le tabac (Anonyme 3, 2014).

Plusieurs stratégies de luttes contre le mildiou ont été jusqu'ici proposées à savoir: la lutte chimique, la lutte prophylactique, les pratiques culturales et l'utilisation des variétés résistantes. Mais aucune d'entre elle n'a été jusqu'ici économiquement et écologiquement satisfaisante (Sébastien, 2012). Ceci en raison de la diversité de plantes hôtes, leur répartition géographique, leur capacité de survie, et leur diversité (Sandesh, 2016 ; EPPO, 2015). Quel système de contrôle

du *Phytophthora* adopter afin de réduire les pertes de rendements de pommes de terre dues au mildiou au Cameroun ? Sur les plans économique et écologique, la lutte biologique représente une approche de solution écologique et durable (Sebastien, 2012).

En effet la lutte biologique, par l'optimisation des potentialités des microorganismes rhizosphériques permet de booster le développement des plantes (Biais et *al.*, 2006). De ces microorganismes, les CMA font partie des plus fréquents de la rhizosphère. Ces derniers, jouent un rôle dans la production des phytohormones telles que l'auxine naturelle (AIA) et la Zeatine Riboside (ZR) (Ludwig-Müller et Güther, 2007) et dans la protection (Johansson et *al.*, 2004) de la plante. Les CMA obtiennent la totalité de leur carbone de leur partenaire végétal (Bago et *al.*, 2000). En retour, ils puisent plus loin dans le sol l'eau, et augmentent les ressources nutritionnelles de leur hôte, notamment en phosphore et en azote (Helgason et Fitter, 2005 ; Veresoglou et *al.*, 2012) rendant les plantes ainsi plus résistantes aux pathogènes et aux stress de l'environnement. (Sannazzaro et *al.*, 2007 ; St-Arnaud, 2007).

Les travaux réalisés respectivement par Adrien et *al.*, (2011) en Belgique, Carolina et *al.*, (2015) en Allemagne et par Sonna, (2017) au Cameroun, ont révélé que la pomme de terre est mycotrophe. Alors, il serait nécessaire d'identifier les CMA impliqués dans cette symbiose, en marquant un arrêt sur les CMA caractéristiques de la rhizosphère des plantes non infectées par *P. infestans*. Plus tard rechercher le rôle de ceux-ci dans le contrôle du mildiou de la pomme de terre. D'où la question de recherche :

quelle est la biodiversité mycorhizienne de la pomme de terre infectée et non infectée par *P. infestans* ? Les hypothèses qui en découlent sont les suivantes :

1 la rhizosphère de la pomme de terre infectée et non infectée ne possèdent pas la même biodiversité de CMA.

2 certains isolats de CMA sont présents dans la rhizosphère de la pomme de terre non infectée et absents dans la rhizosphère de la pomme de terre infectée.

3 les isolats de CMA présents dans les différentes rhizosphères de la pomme de terre n'ont pas les mêmes fonctions.

L'objectif général est d'étudier la biodiversité mycorhizienne de la pomme de terre infectée et non infectée par *Phytophthora infestans* dans le but de développer une alternative de lutte biologique. De façon spécifique, il s'agit de :

- recenser les CMA associés à la pomme de terre infectée et non infectée.
- caractériser sur le plan morphologique les CMA de la pomme de terre.
- cribler et sélectionner les isolats de CMA pour une lutte contre le mildiou.

I.2. Revue de la littérature

I.2.1. Biologie de la pomme de terre

I.2.1.1. Historique de la pomme de terre

La pomme de terre est entrée dans l'histoire il y a environ 8000 ans près du lac Titicaca, à 3800 mètres d'altitude, dans la cordillère des Andes, à la frontière entre la Bolivie et le Pérou (Anonyme 1, 2008)

I.2.1.2. Taxonomie de la pomme de terre

Le nom botanique de la pomme de terre est *Solanum tuberosum* L. Elle a été donnée par Gaspar Bauhier (1560- 1624), naturaliste suisse en 1595 (Oswaldo, 2010). La classification de la pomme de terre est présentée par le tableau I selon Cronquist (1981).

Tableau I. Taxonomie de la pomme de terre (Cronquist, 1981)

Règne	Plantae
Embranchement	Magnoliophita
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	<i>Solanum</i>
Espèce	<i>Solanum tuberosum</i> Linné 1595

I.2.1.3. Description botanique de la pomme de terre

Les différentes espèces et variétés de pomme de terre ont des caractéristiques botaniques différentes les uns des autres. C'est la raison pour laquelle il est important de bien maîtriser les différentes parties de la plante (Fig. 1) (Anonyme 5, 1999).

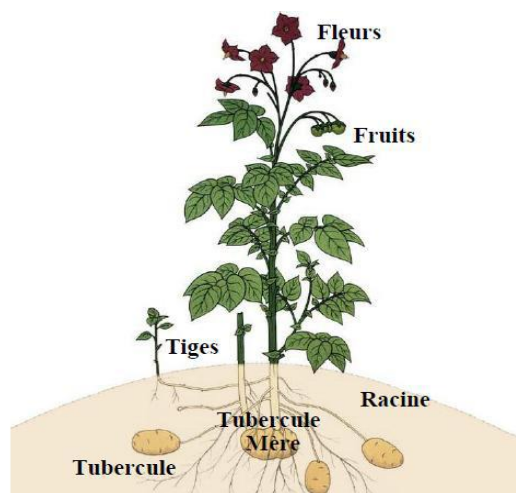


Fig. 1. Morphologie d'une plante de pomme de terre (Oswaldo, 2010).

I.2.1.3.1. Racines

La pomme de terre forme des racines à partir des nœuds situées sur la partie basse de la tige. Les racines servant à l'absorption de l'eau et des nutriments forment également des stolons qui sont des rameaux souterrains avec une croissance plagiotrope et dont les extrémités se développent en tubercules. Les stolons et les tubercules sont des organes souterrains avec, la capacité de formation de chlorophylle sous l'influence de la lumière (Nyabyenda,2005). Le système racinaire de la pomme de terre est chétif comparé à celui des autres cultures (Lamara, 2015).

I.2.1.3.2. Tiges

La plante qui germe à partir de la graine, ne forme qu'une seule tige principale, tandis que celle qui germe à partir du tubercule peut en produire plusieurs. Les tiges latérales se ramifient sur les tiges principales. En coupe transversale, les tiges sont rondes, anguleuses et sur les bords forment souvent des ailes ou des côtes. La couleur de la tige est généralement verte mais il arrive qu'elle soit rouge-brun ou pourpre. Les tiges portent les feuilles et les bourgeons axillaires. Les feuilles peuvent se développer et former des tiges latérales, des stolons, des inflorescences ou même des tubercules aériens (Sauer,1972).

I.2.1.3.3. Feuilles

Les feuilles de la pomme de terre sont normalement composées (possède une nervure centrale (rachis) et de plusieurs folioles). Chaque rachis peut comporter plusieurs paires de folioles, plus une foliole terminale (Sauer, 1972).Les feuilles sont alternes, disposées sur la tige en suivant une phyllotaxie spiralée avec une spirale génératrice tournant le plus souvent dans le sens senestre. Le port de la feuille, qui dépend de son angle d'insertion sur la tige, est un caractère variétal relativement stable. Dans toutes les parties vertes de la pomme de terre et principalement les feuilles, il y a présence de glycoalcaloïde toxique comme la solanine (Rousselle et *al.*,1996).

I.2.1.3.4. Tubercules

Les tubercules de pomme de terre sont des tiges modifiées qui représentent l'organe principal de réserve de la plante. Ils sont généralement de formes (rond oblong, à long et plus ou moins aplati), de tailles et de grosseurs variables a deux extrémités chacune ; le talon est rattaché au stolon et à l'opposé se trouve l'extrémité apicale ou distale ou couronne (Sauer, 1972). Ils se développent à partir des bourgeons situés au niveau des yeux du tubercule. Les germes peuvent être blancs ou colorés partiellement à la base ou à l'extrémité, par la suite ils prennent une couleur caractéristique de la variété (vert, rouge, violet,...) s'ils sont exposés à la lumière diffuse (Anonyme 5, 1999).

I.2.1.4. Importance et production de la pomme de terre dans le monde

La culture de la pomme de terre prend une importance économique et géostratégique majeure. De par son potentiel économique estimé à 3.948×10^{12} milliards de fcfa par an (FAOSTAT, 2018), Elle peut contribuer à apporter une réponse à la pénurie des denrées alimentaires dans certaines régions du monde. Cette culture, présente un rendement à l'hectare très élevé (25-60 tonnes dans le monde) moyenne (10-25 tonnes en Afrique) faible (3-11t au Cameroun). Elle est également utilisée dans d'autres domaines comme celui de la chimie, la pharmacie ou la papeterie (Anonyme 4, 2018). Sur le plan alimentaire elle est riche en plusieurs éléments essentiels au bon fonctionnement de l'organisme. (Tableau II)

Tableau II. Valeur nutritionnelle de la pomme de terre (Marie et *al.*, 2007)

Pomme de terre cuite à l'eau sans peau.	Valeur nutritionnelle moyenne pour 100g
Eau	78g
Valeur calorique	85kcal
Protides	2g
Glucides	19g
Lipides	0,1g
Vitamines B complexe ; C ; E.	1,5mg ; 13mg ; 0,1mg
Fe ; Cu ; K ; Mn ; Zn ; Mg	0,4 ; 0,09 ; 376 ; 18,6 ; 0,28 ; 0,14 (mg)
Acides gras	Présent
Acides aminés essentiels	Présent
Fibres	1g

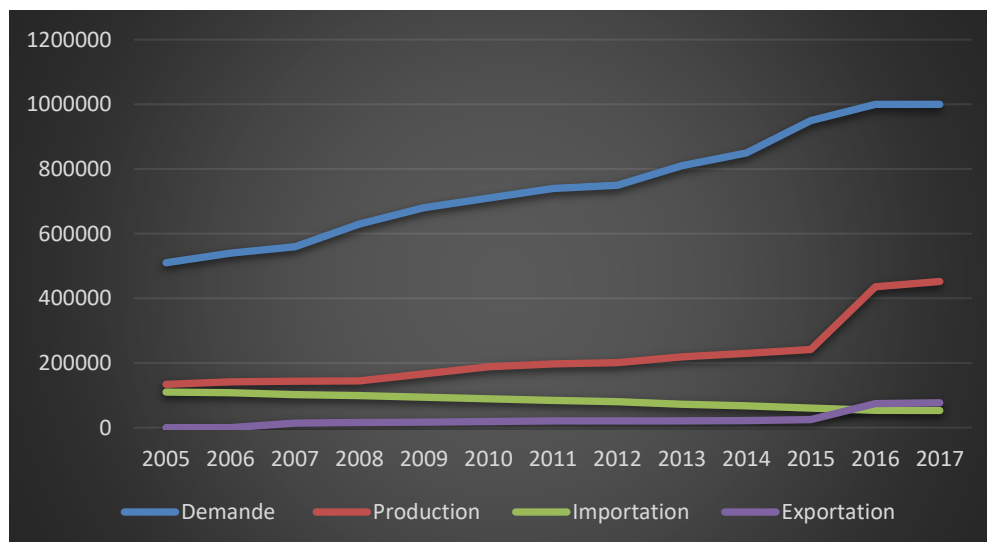
La production mondiale a été évaluée en 2017 à plus de 385 millions de tonnes sur 20 millions hectare avec un potentiel économique de 6 milliards d'euro par an (Sandesh, 2016). En général, la pomme de terre peut être cultivée deux fois par an, et occupe une place importante dans l'agriculture (Rolot et Vanderhofstadt, 2014). Cependant, si sa culture compte parmi les plus prometteuses son développement reste entravé par différentes contraintes.

I.2.1.5. Etat des lieux de la pomme de terre au Cameroun

La culture de la pomme de terre a été introduite au Cameroun depuis les années 1940. Avec une production nationale de 229.570 tonnes en 2014 le Cameroun est le 84^{ème} producteur mondial et le 15^{ème} producteur en Afrique (Anonyme 4, 2018). Elle est cultivée de façon importante dans sept des dix régions du Cameroun, surtout par les ruraux et essentiellement par les femmes (Anonyme 2, 2014). Elle constitue une source de revenu importante pour les paysans car les excédents de production sont soit vendus dans le marché local ou exportés vers les pays voisins (Anonyme 4, 2018). Les régions du Nord-ouest et l'Ouest sont les plus grandes régions productrices de pomme de terre au Cameroun avec une production de 80 % de la

production nationale qui est estimée à 450.000 de tonnes. Elle est aussi cultivée dans les hautes terres de l'Adamaoua, de l'extrême Nord et les régions du Sud - ouest et du Littoral du pays (Anonyme 3,2014). La pomme de terre occupe une place importante dans l'économie et l'alimentation nationale, malheureusement la production nationale aujourd'hui estimée à 377.257, reste en dessous des besoins réels nationaux qui avoisinent les 1 millions de tonnes et sous régionaux estimé à 2,5Mt (Anonyme 4, 2018). Plusieurs facteurs sont à l'origine de cette faible production il s'agit : De utilisation du matériel local ou des variétés à faible potentiel de production ; La prédominance de certaines maladies (mildiou, flétrissement bactérien, les maladies virales) et les pratiques culturales inadaptées (Anonyme 3, 2014).

Fig. 2. Demande, production, importation et exportation de la pomme de terre au Cameroun sur les 15 dernières années (FAO Stat, 2019).



Face au déficit de production, le gouvernement Camerounais va instruire la création en 1967 du Centre d'Etudes, d'Instruction et de Production de Semence (CEIPS) à Dschang. Cela a fortement influencé la production de la pomme de terre dans les zones de hauts plateaux. Malgré cela, les rendements restent bas comparés à ceux de certains pays d'Afrique et de l'Europe. Le gouvernement camerounais a également financé plusieurs projets (le projet IRAD/CIP en 1987 ; Le Centre Agricole de Meng (TDC-projet MIDENO à Santa) en 1997 ; le PRFPT en 2008 et le projet C2D pomme de terre en 2012 qui avaient pour mission première de booster la production nationale de la pomme de terre ceci par la mise au point de plusieurs variétés de pomme de terre à haut rendement et mieux résistantes aux (Anonyme 3, 2014).

I.2.1.6. Contraintes liées à la production de la pomme de terre

I.2.1.6.1. Contraintes abiotiques

Les contraintes abiotiques majeures influençant les cultures de la pomme de terre sont : les exigences pédoclimatiques (climat, température, lumière, alimentation en eau) ; les exigences édaphiques (structure et texture du sol, potentiel hydrogène, salinité et acidité) la pomme de terre pousse mieux sur des sols bien riches, profonds et bien drainés avec un pH entre 5-6,5 ; les exigences en éléments nutritifs (fertilisation) qui ne sont pas encore maîtrisées et de qualité ; les exigences techniques (production des semences) ; les désordres physiologiques (verdissement, repousse) et les itinéraires techniques (Lamara, 2015). Tous ces contraintes sont capables d'occasionner les pertes de productions de 20-30% sur les cultures de la pomme de terre (Anonyme 1, 2008).

I.2.1.6.2. Contraintes biotiques

Les pertes totales que subit la culture de la pomme de terre sont de 59,3 % dont 43,8 % sont imputables aux maladies fongiques, bactériennes et virales ; 9,5% sont attribuées aux insectes et 6% sont occasionnées par les adventices (Cramer, 1997). Plus de 200 maladies s'attaquent à la pomme de terre tant en végétation qu'en conservation (Anonyme 6, 2010). Les contraintes biotiques majeures sont : celles dues aux insectes et aux acariens qui peuvent entraîner des pertes pouvant atteindre 20%. Il s'agit des coccinelles, mouches blanches, courtilières, criquets et sautereaux, termites, acarien rouge ; aux mauvaises herbes dont l'impact peut atteindre 10% ; aux maladies virales (virus de l'enroulement, virus X, virus Y, virus A.) ; aux maladies bactériennes (gâle commune, flétrissement bactérien, jambe noire, pourriture molle) aux maladies fongiques (mildiou, alternariose, sclérotiniose, rhizoctoniose, verticilliose, gangrène, gâle poudreuse) donc l'ensemble des pertes peut dépasser les 60% (Cramer, 1997); aux nématodes (nématode doré ; nématode blanc ; nématode cécydogène du Nord et celui responsable de la maladie vermiculaire de la pomme de terre...) ; (Anonyme 7, 2008 ; Anonyme 8, 2008). D'autres ravageurs atypiques sont observés sur les cultures de pomme de terre. Il s'agit des oiseaux et des margouillats qui s'attaquent aux jeunes pousses. Les rongeurs attaquent les tubercules au champ et au cours du stockage. Si aucune protection n'était apportée à la culture de la pomme de terre, les pertes qui lui seraient occasionnées par ses différents ennemis pourraient atteindre 80% au Cameroun et dans certains pays grands producteurs de cette plante (Oerke & Dehne, 2004).

I.2.2. Généralités sur le mildiou de la pomme de terre

I.2.2.1. Origine de *Phytophthora infestans*

La plupart des chercheurs sont unanimes que *P. infestans* naît au Mexique pays montagneux. Cela à cause de la population de *P. infestans* trouvée dans cette région, qui présentait une diversité tant phénotypique que génétique (Goodwin et Drenth, 1997; Grünwald et al., 2001). Aussi, les nombreuses espèces indigènes de Solanacée résistantes à *P. infestans* trouvées dans le Mexique Central indiquent que cette région est la région d'origine du pathogène (Niederhauser, 1991).

I.2.2.2. Biologie de *Phytophthora infestans*

A l'origine, le mildiou était considéré par la plupart des chercheurs comme une maladie fongique. Plus tard, les chercheurs se sont rendu compte que, le genre *Phytophthora* n'est pas rattaché à de vrais champignons. Il appartient à l'embranchement des Oomycota du règne *Straminopiles*. Les Oomycètes, incluent les Pythiacées (*Pythium* et *Phytophthora*) sont caractérisés par leur capacité de libérer des zoospores asexuées formées dans les sporanges (Nwaga, 1988). Leur paroi cellulaire est constituée de cellulose alors que les vrais champignons contiennent de la chitine (Rekad, 2018). Les Oomycètes sont diploïdes pour la partie importante de leur cycle de vie, et la reproduction sexuelle se produit par le développement d'oospores (Nwaga, 1988). C'est le résultat de l'assemblage d'oogones et anthéridies, rencontre aussi chez le genre *Pythium* (Harrison, 1992; Judelson et Blanco, 2005).

Tableau III. Classification de *Phytophthora infestans* (Nwaga, 1988).

Domaine	<i>Eukaryota</i>
Règne	<i>Stramenopiles</i>
Embranchement	<i>Oomycota</i>
Classe	<i>Oomycetes</i>
Ordre	<i>Peronosporales</i>
Famille	<i>Peronosporaceae</i>
Genre	<i>Phytophthora</i>
Espèce	<i>Phytophthora infestans</i>

Pendant la phase épidémique, *P. infestans* est disséminé par sporanges aéroportés qui sont formés sur les plantes infectées. Dans les conditions de température modérée (~20°C) et

d'humidité de l'air élevée ($RH > 90\%$) un nombre massif de sporanges augmente dans une récolte infectée. Les sporanges sont d'habitude libérés le matin où la température montant provoque une diminution pointue dans l'humidité de l'air (de Bary, 1876; Lacey, 1965; Andrivon, 1995). Les sporanges sont alors étendus par les mouvements aériens. (Fig.3) La propagation rapide et efficace, ainsi que l'infection et la colonisation de la plante hôte offre le potentiel de détruire toutes les parties souterraines. Quand cela arrive, le résultat peut être des pertes de production quantitatives très élevées.

Les tubercules de pomme de terre peuvent aussi être infectés si les sporanges sont enfoncés dans le sol (de Bary, 1876; Lacey, 1965; Andrivon, 1995). L'infection de tubercule réduira la qualité de la récolte et si la grande proportion des tubercules est infectée. Un autre aspect très important est que les tubercules infectés peuvent fonctionner comme inoculum pour une autre épidémie à la saison suivante (Fig.3) (Andrivon, 1995). *P. infestans* a deux types s'accouplant désigné A1 et A2 qui peuvent d'habitude subir la reproduction sexuelle seulement si les deux types s'accouplant sont présents.

Les pertes de rendement dues au mildiou sont assez difficiles à chiffrer. Néanmoins, James et *al.*, (1972) ont enregistré des pertes de rendement de 24 à 53%, alors que Shtienberg et *al.*, (1983) rapportent des pertes de 50 à 60% aux Etats-Unis. Pour sa part, Carlisle et *al.*, (2002) estime entre 80 et 90% les pertes maximales imputables au mildiou au Cameroun les pertes dues au mildiou sont difficiles à chiffrés à cause de l'absence des données et répertoriées. Néanmoins les ressentis données du minader font état des pertes estimées à environ 50%.

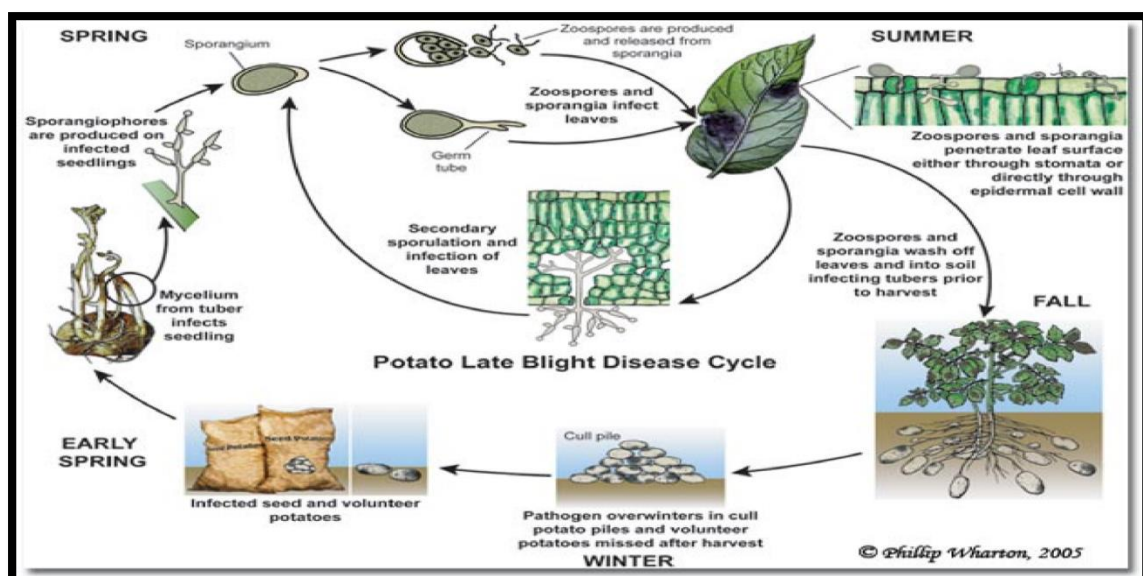


Fig. 3. Cycle biologique de *Phytophthora. infestans*, (Judelson et Blanco, 2005)

I.2.2.3. Description des symptômes du mildiou de la pomme de terre

Les symptômes du mildiou peuvent être observés sur l'ensemble des organes de la pomme de terre

1- Les jeunes pousses attaquées sont couvertes d'un duvet blanchâtre (fructification du parasite) elles sont en générales détruites très rapidement ; ces taches brunissent rapidement, et s'entourent d'un liseré jaune à la face supérieure des limbes (Fig.4). Sur la face inférieure, le pourtour de la zone nécrosée laisse apparaître, en condition de forte humidité, les fructifications du parasite (James et *al.*, 1972) et les mêmes types de symptômes, nécroses affectent les pétioles. Les attaques sur bouquets terminaux se manifestent par un brunissement et un léger recroquevillaiement des feuilles apicales (Fig.4).

2- Sur les tiges, le symptôme typique est une nécrose brune violacée, qui s'entend sur 2 à 10 cm à partir d'un nœud. Par temps humide, cette nécrose couvée d'une pulvérulence reste souvent rigide (Fig.4).

3- Sur tubercules, les attaques surviennent en cas de précipitation abondante de la phase de grossissement. A la récolte ou quelque semaine après, le mildiou se révèle par des plages superficielles irrégulières, gris bleuâtres, violacées ou brunes. En saison, on remarque des zones marbrées, rouillées ou brunâtres, s'entendant de manière diffuse de l'épidémie vers l'intérieur du tubercule. Il s'ensuit une pourriture sèche n'évoluant pas en cours de conservation (Fig.4).

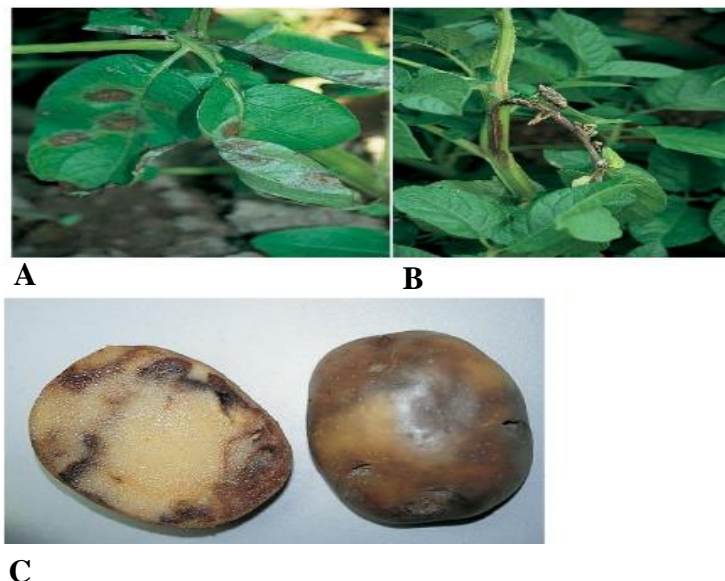


Fig.4. Symptôme du mildiou de la pomme de terre sur : A. feuilles; B. tiges ; C. tubercule. (Dagdas et *al.*, 2016).

I.2.2.4. Lutte contre *Phytophthora infestans*

La lutte contre *Phytophthora infestans* fait intervenir plusieurs modes de lutttes (Tableau IV).

Tableau IV. Mode de lutte conte *P. infestans* de la pomme de terre.

Mode de lutte	Agents de lutte	Mode d'action	Durée d'action	Références
Lutte chimique	Groupe1 : Dithiocarbamates ; phtalimides ; phthalonitriles ;	Produits de contact. Inhibe la germination des spores en bloquant divers enzymes du pathogène	7 à 8jours	(Norme OEPP, 1994)
	Groupe2 : Cymoxanil	Pénètre dans les organes infectés et détruit le mycélium du champignon	3jours environ	(Norme OEPP, 1994)
	Groupe3 : Phénylamines ; carbamates ; acide cinnamique.	Action curative et préventive	Inconnu	(Norme OEPP, 1994)
Lutte génétique	Les variétés de pomme de terre résistante ayant reçu des gènes de résistance dénommés R1 à R11.	Réduire l'incidence et la sévérité de la maladie en mettant en jeu des gènes de résistance induit	Jusqu'à ce que la résistance disparaisse	(Watie, 1991) (Norme OEPP, 1994)
Lutte biologique	Trichoderma	-Antibiose (Viridine, Gliotoxine...) -Mycoparasitisme (cellulase, chitinase qui lyse le pathogène) -Induction des SDN (polyphénols polysaccharides...);	Un cycle complet et même plus	(Davet ,1996) (Gary.1998)
	Pseudomonas (PGPR) P. <i>fluorescens</i> P. <i>putuda</i>	-Anti-biose (fongicides, enzymes) -Antagonisme (réduction de l'infection 30-55%) -Protectrice (sidérophores, antibiotiques)	Vie dans les racines de la pomme de terre	(Chin, Woeng et al, 1997) (Spielman, 1991) (Leong 1986)
	Champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA)	-Antagonisme (réduction de l'infection 50-75%) -Induit les SDN (local et systématique) -Compétition (pour les nutriments, l'espace, le partenaire...)	Vie associée aux racines des plantes	(Adrien. et al., 2011)

I.2.3. Généralités sur la symbiose mycorhizienne

I.2.3.1. Définition et concept de mycorhize

Le terme mycorhize du grec « *mukês* » champignon et « *rhiza* » racine, désigne une association symbiotique à bénéfice mutuel en général entre les champignons et les racines de la majorité des plantes vasculaires qui leur permet de survivre et croître plus efficacement (Gosling et *al.*, 2006). Dans ces associations de manière générale, la plante pourvoie le champignon en sucres issus de la photosynthèse et en contrepartie elle bénéficie de l'eau et des sels minéraux que le champignon extrait du sol et le transporte vers les racines. Les mycorhizes sont les associations symbiotiques les plus communes et les plus répandues du globe terrestre (Bagyaraj et *al.*, 2015). Ce type de symbioses se rencontre chez près de 90% des plantes terrestres (Smith et Read, 2008). Cependant, diverses formes d'associations mycorhiziennes peuvent se former chez les végétaux (Fortin et *al.*, 2008)

I.2.3.2. Typologie des mycorhizes

I.2.3.2.1. Ectomycorhizes

Les ectomycorhizes, résultent de l'association du mycélium d'un champignon supérieur tel que les Ascomycètes et Basidiomycètes avec les racines d'une plante (Angiospermes ou Gymnospermes) (Harley, 1987). Environ 5% d'espèces végétales sont concernées par cette symbiose. Visibles à l'œil nu pour la plupart, ces champignons agissent de manière spécifique ne s'associant qu'à certaines espèces ou à certains genres d'arbres appartenant aux familles des *Pinaceae*, *Myrtaceae*, *Fabaceae*, (Duponnois, 2013). Dans les associations ectomycorhiziennes, les hyphes pénètrent la racine, se ramifient autour des cellules sans y pénétrer en formant dans le cortex un système intercellulaire complexe (réseau de Hartig). Les filaments mycéliens forment un manteau compact qui gaine et couvre les fines racines des plantes. Ce manteau forme une barrière continue qui permet de contrôler tous les échanges entre le sol et les racines des plantes.

I.2.3.2.2. Endomycorhizes

Les endomycorhizes sont caractérisés par l'absence de manchon fongique mycélien externe et par la pénétration des hyphes fongiques dans les cellules corticales (Pozo et *al.*, 2013). On distingue :

- Les endomycorhizes des orchidées formées par les Basidiomycètes et les endomycorhizes des Ericacées associées aux Ascomycètes. Dans ces associations le mycélium forme des pelotons à l'intérieur des cellules du parenchyme cortical ;

- Les endomycorhizes des Cistacées pérenne où les pénétrations endocellulaires ont une forme coralloïde. Les champignons impliqués sont les ascomycètes hypogés (Gavériaux, 2012) ;

- Les mycorhizes à arbuscules (CMA) qui sont caractérisées par les hyphes intraracinaires qui pénètrent à l'intérieur des cellules corticales et/ou des épidermes racinaires (Gavériaux, 2012). Parmi les endomycorhizes, les mycorhizes à arbuscules constituent le type de symbiose le plus important et le plus répandu dans la nature (Gavériaux, 2012 ; Pozo et *al.*, 2013). Les CMA sont présentes sur 80% des plantes notamment, les Angiospermes, les Gymnospermes, les Bryophytes et les Ptéridophytes (Smith et Read, 2008). Leur nom découle des structures qu'elles forment à l'intérieur des cellules racinaires des plantes: les arbuscules (Fig.5). Les arbuscules sont des structures finement ramifiées dans la cellule des racines qui servent des sites d'échanges métaboliques entre la plante et le champignon. Malgré leur situation intracellulaire, ils ne sont pas intra cytoplasmique. Les arbuscules se situent entre la paroi et la membrane plasmique de la cellule qui l'héberge (Chiffлот, 2008).

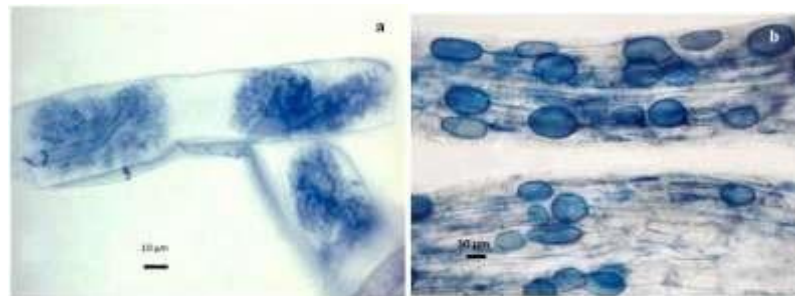


Fig.5. Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens à arbuscules (Nabila, 2014).

I.2.3.2.3. Ectendomycorhizes

Les ectendomycorhizes représentent le type intermédiaire entre les ecto et les mycorhizes à arbuscules et renferment à la fois des caractéristiques structurales de ces deux types de symbioses mycorhiziennes. Par ailleurs, plusieurs autres types de mycorhizes ont été décrits et nommées suivant l'espèce de plantes colonisées. Parmi ces associations, les plus importantes sont des Ericoïdes, les Monotropoides et les mycorhizes Arbutoides (Smith and Read, 1997). Parmi les familles de plantes communément non mycorhizées pour des raisons peu connues, on compte les Azoaceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, Caryophyllaceae, Crassulaceae, Cyperaceae, Juncaceae, Pinaceae, Proteaceae, Restionaceae et le genre *Lupinus*, malheureusement, il s'agit d'un phénomène assez rare (Harley et Harley, 1987).

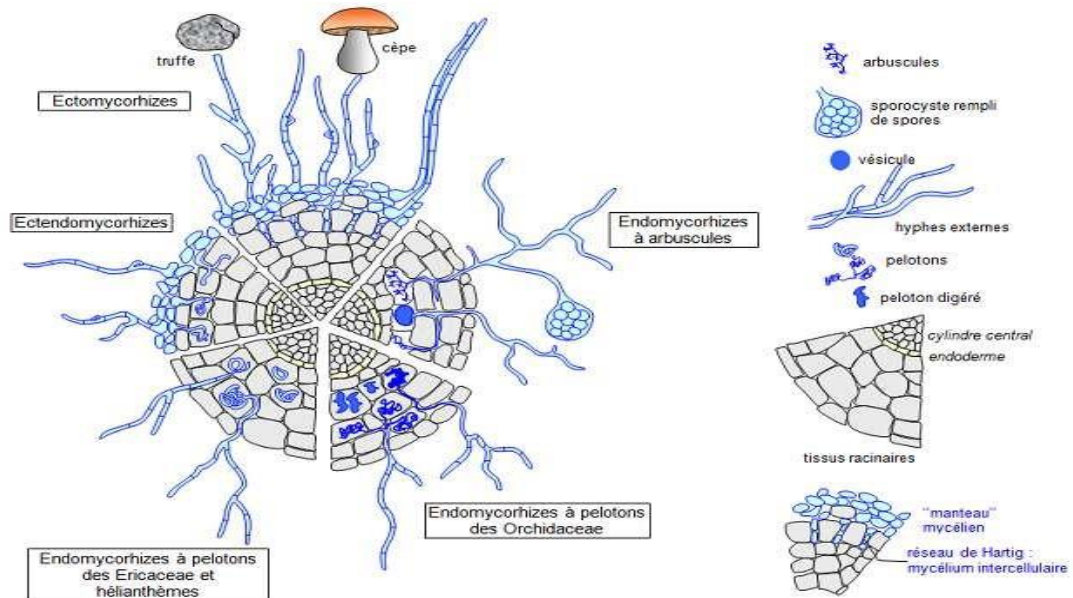


Fig.6. Types de symbiose mycorhizienne représentés sur une coupe transversale de racine (Le Tacon, 1985).

I.2.3.3. Taxonomie et classification des champignons mycorhiziens à arbuscules

La taxonomie des CMA a d'abord été construite par morphotypage des spores, en tenant compte à la fois des similitudes structurales entre les spores mais aussi des caractères ayant une importance phylogénétique (Morton et Benny, 1990). Elle a au préalable conduit à classer les CMA dans l'ordre paraphylétique des *Glomales* (Morton et Benny, 1990), parmi les *Zygomycètes* qui se subdivisent en deux sous-ordres *Glomineae* et *Gigasporineae*, trois familles et six genres. Les études phylogénétiques ont conduit à la création d'un phylum bien individualisé, celui des *Glomeromycota* (Schüssler et al., 2001). Dans les *Glomeromycota* on distingue actuellement quatre ordres : les *Glomerales* autrefois appelées *Glomales* ; les *Diversisporales* ; les *Paraglomerales*, et les *Archaeosporales* anciens *Geosiphonales*, parmi lesquelles se trouve la famille des *Geosiphonaceae*, monospécifique, contenant le *Geosiphon* autrefois considéré comme étant une espèce lichénisée (Nwaga et al., (2013). Sur la base des critères morphologiques des spores ou des structures associées aux spores, environ 200 espèces de champignons CMA ont été décrites (Nwaga et al., (2013). Plusieurs études basées sur la biologie moléculaire se sont consacrées à la systématique des mycota. Dans ces études, sont acceptées 3 classes, 5 ordres, 14 familles et 29 genres pour environ 230 espèces (Oehl et al., 2011) (Tableau V).

Tableau V. Classification des champignons mycorrhiziens à arbuscules (Nwaga et al., (2013).

Ordres	Familles	Genres
Archaeosporales	Archaeosporaceae	<i>Archaeospora, Intraspora</i>
	Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
	Ambisporaceae	<i>Ambispora Appendicispora</i>
Diversisporales	Acaulosporaceae	<i>Acaulospora, Kuklospora</i>
	Diversisporaceae	<i>Diversispora, Tricispora, Otopora, Redeckera</i>
	Sacculosporaceae	<i>Sacculospora</i>
	Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>
Gigasporales	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i>
	Dentiscutataceae	<i>Dentiscuta, Quatunica, Fuscutat</i>
	Racocetraceae	<i>Racocetra, Cetraspora</i>
	Scutellosporaceae	<i>Scutellospora, Orbispora</i>
Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus, Septoglomus, Funelliformis, Simiglomus</i>
	Entrophosporaceae (Claroideoglomeraceae)	<i>Claroideoglomus, Viscospora, Entrophospora, Albahypha</i>
Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>

I.2.3.4. Importance des mycorhizes à arbuscules

Les hyphes fongiques améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante hôte, grâce à l'augmentation du volume de sol prospecté et à la production des divers enzymes extracellulaires, en particulier les phosphatases susceptibles de libérer le phosphore à partir de certains composés organiques et inorganiques du sol (Smith et al., 2011). La mise à la disposition de la plante d'éléments nutritifs très peu mobiles du sol, en particulier le phosphore est le rôle primordial des mycorhizes à arbuscules. En effet, la plante absorbe le phosphore sous deux formes : par minéralisation du phosphore organique à travers l'activité des phosphatases localisées dans les arbuscules matures et hyphes extracellulaires et, par la solubilisation du phosphore insoluble grâce à la production d'acides (Ngonkeu et Nwaga, 1998). Les besoins de la plante en sels minéraux ne se limite pas au phosphore ; d'autres éléments tels que l'azote, le soufre, et certains oligoéléments comme le cuivre, le manganèse, le zinc, le fer difficilement mobilisables bénéficient également de l'aide fongique suite à une meilleure exploration du sol par les hyphes extra racinaires (Thorunn et Fitter, 2009 ; Gavériaux, 2012).

L'intérêt des CMA a tendance à se concentrer beaucoup plus sur leur rôle direct dans la nutrition de la plante hôte. Néanmoins, ils ont aussi un effet direct sur la structure du sol, qui reste particulièrement important dans le contexte agricole (Gosling et al., 2006). Dans ce sol, le filament fongique peut explorer un volume de sol plus considérable. En effet, le mycélium

grandit, se déplace pour s'alimenter, forme un réseau dans le sol qui agit comme une extension du système racinaire qui permet de maintenir la stabilité du sol (Chiffot, 2008 ; Fortin et *al.*, 2008). Ce filament fongique est connu pour son effet bénéfique sur la structure du sol, à travers la production de la glomaline, glycoprotéine qui par ses caractéristiques chimiques, favorise l'agrégation des particules dont on connaît le rôle fondamental dans la fertilité du sol (Fortin et *al.*, 2008).

Les CMA sont également utilisés comme agent de lutte biologique (Carolina et *al.*, 2015). En effet, ils permettent de réduire les dommages causés par de nombreux pathogènes du sol sur une variété d'espèces des plantes cultivées. Les champignons endomycorhiziens permettent à ces végétaux de résister contre les pathogènes du sol par le phénomène d'antibiose et, en induisant la formation du tanin qui intervient dans les mécanismes de défenses chez la plante hôte (Ngonkeu et Nwaga, 1998 ; Pozo et *al.*, 2013). Les travaux de Herre et *al.*, (2007), de Nwaga et *al.*, (2013) et de Tchameni, (2014) ont montrés que les CMA associés à certains endophytes foliaires ont permis de réduire les dommages causés par *Phytophthora palmivora* et *Phytophthora megakarya* sur les cacaoyers. En effet, les CMA induisent les mécanismes de défense des plants du cacaoyer au niveau du sol et au niveau de la surface foliaire. Les deux principaux mécanismes sont probablement le déclenchement des réactions de défense des plantes suite à la signalisation impliquée dans l'autorégulation de la symbiose et la modification des communautés microbiennes de la mycorrhizosphère créant ainsi des conditions défavorables pour l'installation des organismes pathogènes (Tchameni et *al.*, 2011 ; Tchameni, (2014)). En inoculant certaines souches de CMA (*Acaulospora tuberculata* et *Gigaspora margarita*) et de *Trichoderma asperellum* PR11, les plants de cacaoyers en pépinière ont montré le plus faible niveau de sensibilité à *Phytophthora. megakarya* (Tchameni et *al.*, 2011).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Présentation du site expérimental

L'étude a été menée dans deux zones agro-écologiques à savoir la zone soudano-sahélienne (zone I) et la zone des Hauts plateaux de l'ouest (zone III). La zone I, est comprise entre 8°36" à 12°54" de latitude Nord, et 12°30" à 15°42" de longitude Est. Elle recouvre approximativement les régions du nord et de l'Extrême Nord. Le climat est caractérisé par une pluviométrie de type monomodale de durée et d'intensité variables (de 400 à 1200 mm par an). Le climat chaud et humide est du type tropical avec une moyenne annuelle de température de 28° C. Les sols sont très diversifiés et on y trouve des sols ferrugineux, lessivés, hydromorphes, alluvionnaires, lithosols, vertisols. Les cultures sont principalement céréalières mais on peut y trouver du coton, la pomme de terre, les oignons. La zone III (zone des Hauts plateaux de l'ouest) est quant à elle comprise entre 4°54" à 6°36" de latitude Nord et 9°18" à 11°24" de longitude Est. Elle couvre les régions de l'Ouest et du Nord-Ouest. Elle offre une grande diversité de reliefs : vers 1 240 m à 2 740 m d'altitude. Le climat est de type "camerounien d'altitude", marqué par deux saisons d'inégales longueurs. Les températures moyennes sont basses (19° C), et les pluies abondantes (1500 -2000 mm). Toutes sortes de cultures y sont pratiquées : café, thé, banane, maïs, arachide, riz, pomme de terre, cultures maraîchères. Les sols sont volcaniques. Dans chaque zone nous nous sommes rendus dans les grands bassins de production de la pomme de terre à savoir, le département de la Menoua et du Bamboutos pour la région de l'ouest, le département du Mezang dans le Nord-Ouest pour la zone III tandis que dans la zone I il s'agit du département du Mayo Tsanaga dans la région de l'Extrême-Nord. Dans chaque zone, nous avons retenus six sites séparés de 7 km les uns des autres et dont les coordonnées sont contenues dans le Tableau VIII et IX (MINRESI/IRAD, 2008).

Tableau VI. Coordonnées des sites de la zone I

Zone agro-écologique I			
Sites	Longitude	Latitude	Altitude
Barrage M	13,5901°	10,5907°	966m
Kwambété	13,5838°	10,5772°	995m
Roumki	13,5957°	10,6225°	949m
Zimi	13,6157°	10,6299°	917m
Metresse	13,6172°	10,6374	917m
Mbougrou	13,6290°	10,6651	883m

Tableau VII. Coordonnées des sites de la zone III

Zone agro-écologique III			
Sites	Longitude	Latitude	Altitude
IRAD Bambili	10,3092°	6,0283°	1958m
Santa	10,150°	5,833°	1988m
Abonghen	10,2847°	6,0672°	1943m
Ntah	10,2438°	5,9519°	2197m
Foto	10,0629°	5,5591°	1829m
Ballessing	10,0983°	5,5684°	1945m

II.1.2. Matériel biologique

Les graines de sorgho (*Sorghum bicolor*) et de niébé (*Vigna unguiculata*) ont constitué le matériel végétal utilisé comme plantes pièges et plants de purifications des CMA. Les échantillons des sols des différents sites de prélèvement sont utilisés comme inoculum lors du piégeage. Les racines des plantes de pomme de terre récoltées en champs sont utilisées pour les colorations

II.2. Méthodes

II.2.1. Échantillonnage et traitement des sols et des racines

II.2.1.1. Échantillonnage des sols

La méthode de prélèvement des sols utilisée est celle de Sieverding (1991). En effet, pour chaque site, une superficie d'un hectare subdivisée en 100 quadrants de dimension 10 x 10 m chacun est délimitée. Dans chacun de ces quadrants, 100 plantes de pomme de terre sont comptées aléatoirement pour évaluer l'incidence de la maladie du mildiou selon les symptômes décrits par Dagdas et *al.*, (2016) (Fig.4.). Dix (10) pieds sont choisis de manière aléatoire suivant les paramètres présence ou absence des symptômes du mildiou (Fig.8.). Dans la rhizosphère de chaque plante, le prélèvement de sol et des racines est effectué entre 0 et 25 cm dans le sol à l'aide d'une tarière. En chacun de ces points, 100 g de sol sont prélevés et mélangés en fonction des paramètres présence ou absence des symptômes du mildiou, avec les sols des autres plantes faisant ainsi un total de 1000 g pour chaque quadrant. Pour chaque site, ces 1000 g de sol par quadrants sont mélangés pour les 100 quadrants afin de constituer un échantillon composite d'environ 100 kg. Les fines racines des plantes présentant les symptômes et ne présentant pas sont récupérées au même moment que les sols à raison 2 g par plante conservées dans de l'alcool à 50 %.

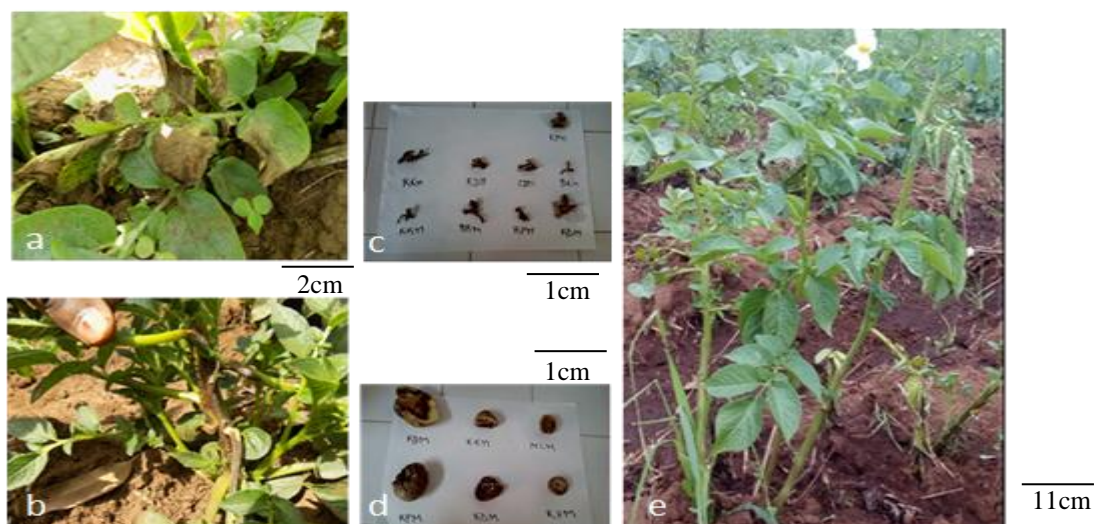


Fig. 8. Symptômes du mildiou en champs : **a.** sur feuilles ; **b.** sur tiges ; **c.** sur racines ; **d.** sur tubercules ; **e.** plantes ne présentant pas les symptômes (cliché de l'auteur)

II.2.1.2. Traitement des racines et des sols

Tous les échantillons de racines et de sols sont ramenés au laboratoire Régional de Lutte Biologique et de Microbiologie Appliquée de l'IRAD. (Institut de Recherche Agronomique pour le Développement) de Nkolbisson. Les sols sont séchés séparément à l'air libre et à l'ombre afin d'éliminer l'eau contenue dans le sol. 500g de sol sont ensuite prélevés pour les analyses physico-chimiques au Laboratoire des Sols de la FASA de l'université de Dschang. La quantité de sol restante est tamisée avec un tamis de 2 mm de maille pour éliminer les débris. Le sol recueilli est conservé dans des sachets plastiques à température ambiante (25 °C).

II-2-2. Analyses des sols

II.2.2.1. Piégeage des champignons mycorhiziens

II.2.2.1.1. Plante hôte

Deux plantes pièges sont utilisées dans cet essai. Le niébé (*Vigna unguiculata*) et le sorgho (*Sorghum bicolor*) pour leur capacité à établir les associations symbiotiques avec divers types de champignons mycorhiziens à arbuscules. Les graines sont stérilisées à l'hypochlorite de sodium à 10 % pendant 15 minutes et laissées prégermer à l'obscurité pendant 2 jours (Ngonkeu, 2003).

II.2.2.1.2. Substrat de culture

Le mélange du sable Sanaga et de terre noir est le substrat utilisé, pris dans les proportions 3:1(V/V). Chacun des deux est tamisé à l'aide d'un tamis de 2,5mm de mailles mélangé et doublement stérilisé à l'autoclave pendant 1 heure à 121 °C. pour éliminer toutes traces de microorganisme susceptibles de contaminer l'inoculum (Sieverding, 1991 ; Brundrett et *al.*, 1996).

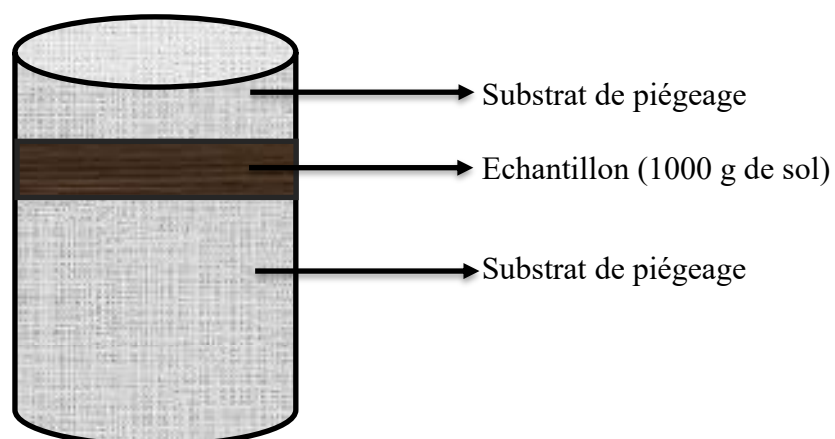


Fig. 9. Illustration d'un pot de piégeage (5L) (Sieverding, 1991)

II.2.2.1.3. Etapes du piégeage des mycorhizes à arbuscules

Dans les sols directement échantillonnés, toutes les spores ne sont pas toujours représentées. Il est donc nécessaire d'utiliser ces sols comme inoculum en vue de permettre la production éventuelle de toutes les spores (Zeze et *al.*, 2007). Après le piégeage, les spores obtenues sont plus abondantes et plus uniformes du point de vue morphologique (Ngonkeu, 2003). 1000g de chaque échantillon de sols sont pris en sandwich entre deux couches de substrat stérilisées contenues dans des pots de 5L. Cette opération est répétée 5 fois de suite pour un même échantillon de sol. Les graines de sorgho et de niébé stérilisées à l'hypochlorite de sodium et pré-germées à l'obscurité sont ensemencées dans ces pots à raison de 4 graines par espèce de plante (Brundrett et *al.*, 1996). Puis, la capacité au champ des sols est déterminée et les sols sont arrosés deux fois par semaine avec 350 ml d'eau de robinet chacun représentant la capacité au champ. Deux semaines après semis, les plants sont démariés et 2 plants par espèce sont retenus. La solution nutritive de Rorison sans phosphore est ensuite appliquée à raison d'un apport par semaine (200 ml par pot). En général, les apports en fertilisants phosphatés sont ajoutés à la solution nutritive lorsque la plante montre des symptômes de carence. Après 6 (six) mois (deux cycles) de culture, l'arrosage est stoppé et les sachets sont soumis à un stress pendant 2 semaines à température ambiante dans le but de provoquer la production massive des spores (sporulation) (Fig.10).



Fig. 10. Dispositif de piégeage des CMA 3 mois après : pots sur les étagères.

II.2.2.2. Isolement et comptage des spores des sols de la rhizosphère

II.2.2.2.1. Extraction des spores du sol issu du piégeage

II.2.2.2.1.1. Extraction simple des spores

L'extraction simple des spores est effectuée suivant la méthode rapide (Walker, 1992 ; Brundrett et *al.*, 1996). Les étapes de cette méthode consistent à : Introduire 200 g de sol dans

un erlenmeyer d'un litre et compléter avec de l'eau de robinet (au moins 800 ml) puis homogénéiser le mélange. Laisser ensuite reposer pendant 15 s avant le tamisage successif à travers quatre tamis de 710 µm, 250 µm, 125 µm et 45 µm de mailles. Répéter 3 fois au moins les deux étapes précédentes puis transférer par lavage le contenu de chaque tamis dans une boîte de Pétri quadrillée et observer les spores à l'aide d'un stéréo-microscope de marque WILD M3B (Heerbrugg Switzerland).

II.2.2.2.1.2. Extraction des spores par centrifugeuse




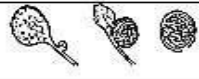

200 g de sol sont introduits dans un erlenmeyer. Environ 800 ml d'eau de robinet est ajouté et le mélange est homogénéisé pendant 30 à 60 secondes. Le mélange est ensuite laissé au repos pendant 15 secondes avant le tamisage successif à travers 2 tamis de mailles 710 µm et de 45 µm. Le processus de lavage et décantation et tamisage est répété trois fois au moins. Le sol retenu dans le tamis de 45 µm est transféré séparément par lavage dans des tubes à centrifugation de 50 ml et équilibrés par pesage sur une balance. Les tubes sont ensuite centrifugés à 2000 tours par minute pendant 5 minutes et les surnageants sont éliminés. La solution de saccharose (50 %) est introduite dans les tubes qui sont de nouveau équilibrés et homogénéisés. Les tubes sont une fois de plus centrifugés à 2000 tours par minute pendant 5 minutes. Le surnageant qui contient les spores des CMA est immédiatement versé dans les boîtes contenant de l'eau distillée pour éviter l'éclatement des spores. Ce mélange est ensuite rincé 3 fois de suite dans le tamis de 45 µm pour éliminer l'excès de sucre. Le mélange est enfin conservé dans les tubes pour comptage (Ngonkeu, 2003; Charvat, 2008).

II.2.2.3. Caractérisation morphologique des CMA

Dans chaque méthode d'extraction, le surnageant versé dans les boîtes de Pétri est observé à la loupe binoculaire. Ainsi les spores détectées sont récoltées au moyen d'une pince et leur morphologie décrite par observation microscopique. Les morphotypes sont montés entre lames et lamelle dans une goutte des réactifs biochimiques (l'acide polyvinylique, alcool-acide lactiqueglycérol) (PVLG) et du réactif de Melzer. Une petite pression est appliquée sur la lamelle afin d'écraser délicatement et faire rompre leur paroi, pour mettre en évidence au mieux leur structure (Morton, 1988). L'identification des spores décrit par Morton (1988) est basée sur leur taille, leur couleur, l'ornementation de leur hyphe suspenseur ou de leur bulbe suspenseur, les saccules sporifères, et la boucle de germination.

La caractérisation morphologique s'est réalisée à l'aide des spécimens types sur le site de collection internationale des CMA (<http://invam.caf.wvu.edu>), des travaux de Ngonkeu (2003, 2009) et Morton (1988) (Tableau VIII).

Tableau VIII Caractéristiques morphologiques des spores de CMA (Morton, 1988).

structures distinctives	schéma correspondant	genres correspondants
Hyphe suspenseur		<i>Glomus</i> ; <i>Diversispora</i> et <i>Paraglomus</i>
Bulbe suspenseur		<i>Gigaspora</i>
Bulbe suspenseur ; boucle de germination		<i>Scutellospora</i>
Sacculé sporifère		<i>Acaulospora</i>
		<i>Entrophospora</i>

II.2.2.4. Comptage des spores de CMA

Après extraction simple ou centrifugation, le surnageant est versé dans une boîte de Pétri de 69,4 cm² de surface. Le comptage est effectué sur 10 carreaux rangés en deux groupes de 5 carreaux de 2,5 cm² de surface totale. Si n est le nombre de spore comptées dans 10 carreaux alors, le nombre de spores dans 200 g est égale à $69,4/2,5 \times n = 27,76 \times n$ (Ngonkeu, 2003) (Fig.11).

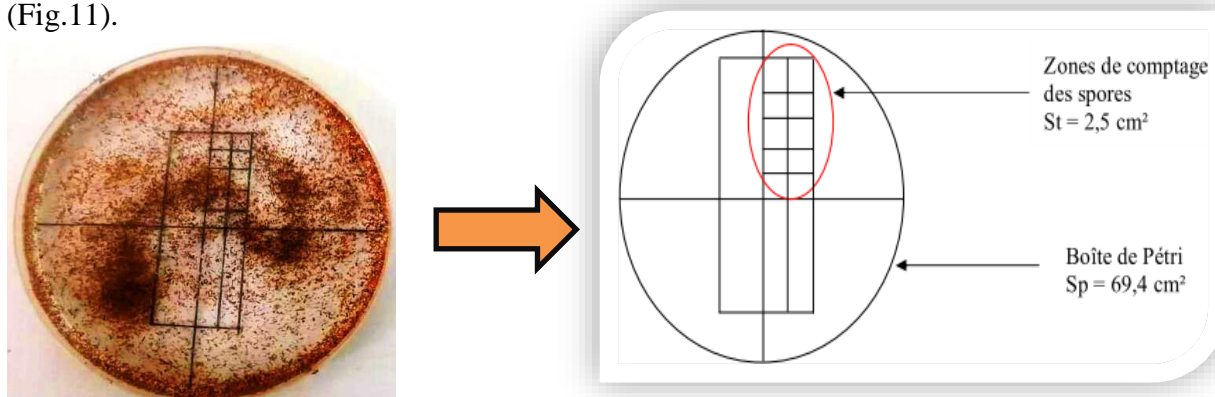


Fig. 11. Boîte de Pétri quadrillée. **St** = surface de la zone de comptage, **Sp** = surface de la boîte.

II.2.2.5. Coloration des racines des plantes

Les racines conservées dans l'alcool à 50 % sont lavées à l'eau de robinet 3 fois de suite, afin de les débarrasser des particules de sol et des débris végétaux. Puis, environ 1 g de racines est découpé en petits fragments de 1 à 2 cm, et introduit dans des tubes à essai contenant une solution d'hydroxyde de potassium à 2,5 % pendant 24 heures. Ensuite la solution d'hydroxyde de potassium est éliminée des tubes sans rinçage des racines. Cette solution permet en effet, de détruire le cytoplasme des cellules végétales, des inclusions et la majorité des pigments pariétaux en laissant intact les structures racinaires et fongiques. Après, environ 10 ml de peroxyde d'hydrogène 20 volume (20%) est ajoutée dans les tubes et laissé pendant 5 minutes (Birhane et al., 2010), afin de retirer une quantité de pigments racinaires. Elles sont rincées à l'eau distillée, 03 fois de suite, puis acidifiées dans la solution d'acide chlorhydrique à 10 %

pendant 15 à 20 minutes. La coloration proprement dite a consisté à imbiber les fragments de racines ainsi traitées d'une solution contenant le glycérol (500 ml), l'eau distillée (450 ml) d'acide chlorhydrique 1% (50 ml), et du bleu de méthyle (0,01 g) pendant au moins 24 heures à température ambiante. Les racines sont enfin décolorées dans une solution identique à la solution de coloration mais dépourvue de colorant (le bleu de méthyle) pendant 1 heure (Charvat, 2008). Après décoloration de fragments de racines, seules les structures des CMA restent en général colorées. Ces fragments de racines décolorés vont permettre l'observation microscopique des structures caractéristiques des CMA (Fig.12).

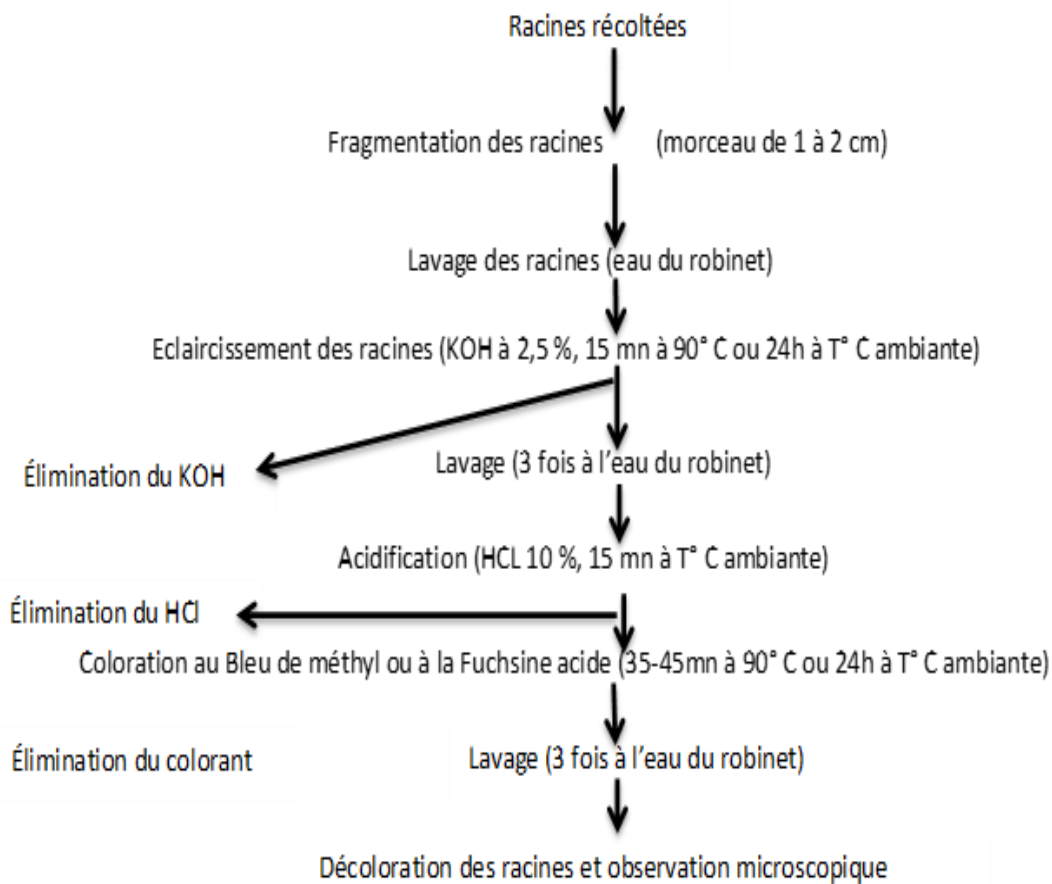


Fig.12. Etape de la coloration racinaire des CMA (Trouvelot et *al.*, 1986)

La technique de Trouvelot et *al.*, (1986) a été utilisée pour l'évaluation du statut qualitatif et quantitatif de la colonisation mycorhizienne des racines. Après coloration, 30 fragments de racines d'environ 1 à 2 cm de chaque végétal échantillonné sont montés sur lame en raison de 10 fragments par lame. Puis ils sont examinés au microscope optique afin d'identifier les structures des CMA présentes dans la racine. Cela a permis de les annoter selon un barème de classification et d'estimer ainsi le degré de la colonisation mycorhizienne de chaque fragment au moyen de six classes notées de 0 à 5 (Fig.13.a) et la richesse arbusculaire par quatre classes

notées A0, A1, A2 et A3 (Fig.13.b). Cette technique a permis de calculer deux paramètres d'infection endomycorhizienne :

Des calculs simples effectués sur les données obtenues permettent d'estimer quatre paramètres principaux (Trouvelot et *al.*, 1986):

- Fréquence de mycorhization F

$$F\% = 100 (N - n_0) / N$$

Où N est le nombre de fragments observés et n₀ le nombre de ces fragments sans trace de mycorhization. F reflète l'importance de la contamination.

- intensité de mycorhization M, du cortex :

$$M\% = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / N$$

Où n₅, n₄ ... n₁ désignent respectivement les nombres de fragments notés 5, 4,1

- teneur en arbuscules, a, de la partie mycorhizée

$$a\% = (100 m_{A//} + 50 m_{A/} + 10 m_A) / 100$$

Où m_{A//}, m_{A/} et m_A sont les pourcentages de mycorhization de qualité arbusculaire

Donnée, calculés suivant le modèle:

$$m_A = (95n_{5A} + 70n_{4A} + 30n_{3A} + 5n_{2A} + n_{1A}) \times F/M (N - n_0).$$

Où n_{5A}, n_{4A}, n_{1A} sont respectivement les nombres de fragments notés 5A, 4A...1A

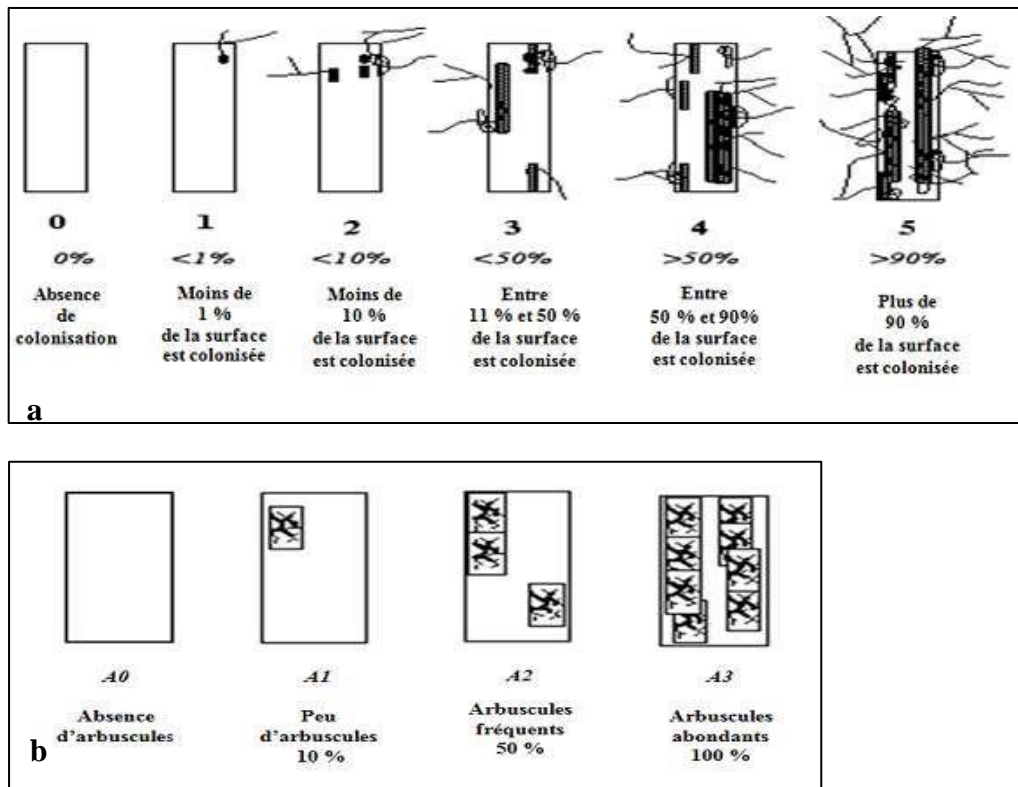


Fig.13. Echelle d'évaluation de la colonisation racinaire **a.** du cortex racinaire ; **b.** en arbuscules (Trouvelot et *al.*, 1986).

La richesse spécifique : représente la mesure de la diversité directement basée sur le nombre total d'espèces dans un site. Cette méthode dépend de la taille des échantillons et ne

rend pas compte de l'abondance relative des différentes espèces, et limite par conséquent sa valeur écologique. En tant que concept écologique, l'abondance est une autre composante importante de la diversité définie comme l'hétérogénéité, c'est-à-dire l'équitabilité ou l'égalité de la répartition des individus parmi les espèces. Des indices biologiques permettent d'obtenir une meilleure expression de la diversité dans un écosystème donné (Marcon, 2015).

II.2.2.6.1. Détermination de l'abondance relative des CMA

La présence des spores est la méthode usuelle d'estimation de la présence des espèces de champignons mycorhiziens à arbuscule. Les communautés de ces champignons présentes dans un sol peuvent être estimées en terme de nombre d'espèces présentes et d'abondance de chacune d'elles dans la communauté (Zeze *et al.*, 2007). L'estimation de l'abondance peut être faite par l'observation directe du nombre de spores présentes dans le sol (Gerdemann et Nicolson, 1963). La technique d'extraction des spores par piégeage est utilisée. Le résultat sur l'abondance relative (AR) des spores est calculé suivant la formule de Johnson *et al.*, (1991) :

$$AR = 100 (m/M)$$

m = nombre total d'un genre observé dans toutes les parcelles ; M = nombre total de spores observé dans toutes les parcelles.

II.2.2.6.2. Détermination de l'indice de Shannon-Weaver (Legendre et Legendre, 1984)

La diversité biologique des sols des différents écosystèmes est mesurée à partir de l'espèce et du nombre d'individus par espèce. L'indice de Shannon-Weaver (H') (Legendre et Legendre, 1984) est utilisé à cet effet. Cet indice permet d'évaluer le niveau de diversité compte tenu de proportion de chaque espèce sur le site. Il est calculé selon la formule suivante :

$$H' = -\sum_{i=1}^S P_i \log P_i,$$

Où P_i = abondance proportionnelle ou pourcentage d'importance de l'espèce, se calcule ainsi: $P_i = n_i/N$; S = nombre total d'espèces; n_i = nombre d'individus d'une espèce dans l'échantillon; N = nombre total d'individus de toutes les espèces dans l'échantillon.

Ainsi, la valeur de H' dépend du nombre d'espèces présentes, de leurs proportions relatives, de la taille de l'échantillon (N) et de la base de logarithme. L'indice de Shannon varie de 0 à $\log S$. De tous les indices, la formule de Shannon et de Wiener est probablement l'indice le plus utilisé qui considère à la fois l'abondance et la richesse spécifique S (Marcon, 2015).

II.2.2.6.3. Détermination de l'équitabilité de Pielou

L'équitabilité est encore définie comme étant le rapport de la diversité observée à une distribution de fréquence des espèces complètement égales. Elle varie de 0 à 1. Elle tend vers 0 lorsque la quasi-totalité des effectifs correspond à une seule espèce du peuplement et tend vers 1 lorsque chacune des espèces est représentée par presque le même individu (Marcon, 2015). Ce paramètre dépend de l'indice Shannon-Wiener et est calculé de la manière suivante :

$$E' = H' / H' \text{ max,}$$

Où H' est la diversité spécifique observée et $H' \text{ max}$ est le logarithme du nombre total d'espèces (S) dans l'échantillon.

II.2.2.7. Criblage et sélection les isolats de CMA

II.2.2.7.1. Germination des spores de champignons mycorhiziens sur milieu gélosé

II.2.2.7.1.1. Mise en culture des spores sur milieu gélosé

La pré-germination des spores sur milieu gélosé est un procédé délicat permettant d'assurer une réelle infection des racines de la plante hôte par les structures mycorhiziennes. Ces différentes étapes ont été décrites par Ngonkeu (2009). Cela consiste à

- Peser 0,7 g d'agar pour (pour 1l d'eau, peser 7 g d'agar)
- Découper le papier filtre en carreaux de 9 mm² (préparation du papier filtre)
- Assembler le matériel
- Stériliser le matériel (mettre dans l'autoclave à 121°C pendant 15min ainsi que l'agar préparé à 0,7%)
- Préparer la hotte à flux laminaire (désinfection et conditionnement)
- Retirer la verrerie de l'autoclave et installer sur la hotte
- Couler les boites de Pétri (10 ml de gélose par boite)
- Désinfecter les spores : pour cela,
 - Préparer 200 ml d'alcool à 70° à partir de l'alcool à 95°

On prélève donc 147,36 ml d'alcool à 95° que l'on introduit dans un bécher de 200ml puis l'on complète à l'eau distillée stérile jusqu'au trait de jauge.

- Désinfecter les mains et la hotte
- Rassembler les morphotypes identiques dans des tubes d'Eppendorf

- Introduire dans les tubes à l'aide d'une micropipette la chloramine T 2% préalablement préparée (peser 2 g de chloramine T, introduire dans un bécher et compléter à l'eau distillée stérile jusqu'à 100 ml) pour une désinfection superficielle des spores

- Agiter continuellement au vortex pendant 15 minutes

- A l'aide de la micropipette, extraire la chloramine T

- Rincer trois fois à l'eau distillée stérile pendant 15 min (en agitant au vortex)

- Introduire la streptomycine 0,025% (préparée extemporainement) dans les tubes d'Eppendorf pour une astatication en profondeur de la membrane plasmique des spores

- Agiter continuellement au vortex pendant 15 minutes

- Extraire la streptomycine à l'aide de la micropipette puis y ajouter l'eau distillée stérile

- Remettre les tubes au vortex pour agitation pendant 15 min, puis rincer deux autres fois simplement

- Garnir les boîtes de pétri en papiers filtres stérilisés en raison de 4 morceaux par boîte

- Les spores stérilisées sont déposées sur les papiers filtres à raison d'une spore par papier filtre et de deux boîtes de pétri par morphotypes

- Les boîtes de pétri sont ensuite scellées à l'aide de la paraffine

- Ensuite elles sont rangées dans un carton puis incubées à 30°C à l'obscurité pendant au moins 3 jours pour évaluer le taux de germination et 6 jours pour évaluer la longueur des hyphes.

- Les spores sont filmées afin d'évaluer leur évolution

II.2.2.7.2. Criblage des spores prégermées (purification et multiplication)

La mise en culture des spores prégermées est effectuée selon la méthode de Ngonkeu (2009). Une fois la prégermination effective (l'hyphes traverse le diamètre du papier filtre), chaque spore est déposée sur les racines d'une plante hôte (*Sorghum bicolor*) dont les graines ont été prégermées une semaine au préalable (Fig.18)

- Prégermination des graines de *Sorghum bicolor*

- Laver les graines de sorgho à l'eau du robinet dans un erlenmeyer ;

- Préparer l'eau de javel (hypochlorite de sodium) 10% ;

- Y introduire les graines pour désinfection pendant 15 min ;

- Retirer l'hypochlorite de sodium et y introduire de l'eau distillée ;

- Laisser pendant 5, 10, 15 min (temps de rinçage) ;

- Introduire les graines dans une bassine contenant du sable stérilisé ;
 - Mettre à l'obscurité à température ambiante pendant 5 à 6 jours.
- Inoculation des plants de *Sorghum bicolor* par les spores prégermées.
- Le substrat constitué de sable Sanaga et sable fin dans les proportions 2/2 (V/V) est préalablement préparé et doublement stérilisé à l'autoclave 121°C pendant 1h ;
 - Des pots de pépinière de 1l sont remplies de ce substrat ;
 - 10 pots par morphotypes sont étiquetés ;
 - Chaque papier filtre est détaché et déposé sur la racine d'une graine germée puis emballé dans du papier buvard et introduit délicatement dans des pots contenant du substrat stérilisé pour purification ;
 - Sur certaines racines, plus d'une spore sont déposées (dix) pour comparaison à la multiplication monosporale (purification) des pores de champignons mycorhiziens ;
 - Tous les pots sont mis dans des plastiques par morphotypes pour un arrosage par capillarité ceci pour éviter le détachement de la spore de la racine où elle a été placée ;
 - Les plants sont arrosés à l'eau du robinet pendant 3 mois ;
 - La prise des paramètres agronomiques pour une évaluation de l'effectivité et l'efficacité symbiotique des morphotypes est réalisée tous les 2 semaines pendant 3 mois.



Fig.14. Dispositif expérimental de purification et de multiplication des spores de CMA.

II.2.2.7.3. Evaluation et sélection des champignons mycorhiziens

L'évaluation des isolats de champignons mycorhiziens est effectuée selon la méthode de Ngonkeu (2009). Cette évaluation des différents isolats de CMA est effectuée en utilisant un dispositif expérimental en blocs complets randomisés.

- Les traitements sont constitués d'une variété de sorgho et de 14 isolats de CMA et d'un témoin non mycorhizé.

- L'inoculation des pots est réalisée par dépôt d'une et de dix spores de champignons mycorhiziens au contact des racines des plants de sorgho.
- Les plants ainsi inoculés sont introduits dans des pots de 3 kg contenant un substrat stérile.
- Un plant de sorgho mycorhizé est retenu par pot et répété 5 fois pour chaque type (purification et composites) ce qui donne un total de 10 pots par isolat.
- La prise des paramètres agronomiques de croissance est réalisée tous les 14 jours pendant 3 mois
- Après 2,5 mois de culture, l'expérimentation est arrêtée par suspension de l'arrosage dans le but de provoquer une sporulation abondante dans le substrat de culture. Deux semaines après, les sols et les racines sont récoltés et analysés. (extraction des spores de CMA et coloration racinaire) suit cette phase de stress hydrique.

II.2.3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont effectuées à l'aide du logiciel R version 3.2.1. Un Anova suivi du test de Student Newman Keuls qui a permis de comparer les moyennes. Le calcul du coefficient de corrélation et de régression de Pearson est réalisé pour tester l'effet de la richesse spécifique et de l'abondance des spores sur l'incidence de la maladie. Le test de Wilcoxon et Mann-Whitney est utilisé pour comparer le taux de colonisation et le degré de colonisation mycorhizienne des fragments de racines. Etant donné que les données obtenues étaient non-paramétriques, des tests non-paramétriques sont utilisés pour analyser les résultats. La table de calcul Excel a été utilisée pour le traitement des données et le traçage des graphes.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS

III.1.1. Diversité et abondance des spores de CMA dans les différents sols étudiés

III.1.1.1. Diversité et abondance relative

Après piégeage, l'extraction, la caractérisation et l'identification morphologique des spores de CMA est effectuée dans les 23 sols analysés. L'abondance relative (AR) des spores de CMA par 1g de sol varie selon le type d'écosystème et l'aspect sanitaire des sols de rhizosphère (Fig.15 ; Fig.16.). En général, elle est plus élevée dans la zone I pour les échantillons prélevés dans la rhizosphère des plantes non infectées ($5,45 \pm 4,14/g$) contre ($2,21 \pm 0,56/g$) suivi de la zone III avec ($3,65 \pm 1,38/g$) pour les sols des plantes non infectées, contre ($2,57 \pm 1,8/g$). De même, elle est autant variée que la richesse spécifique (S) qui est de 17 pour la zone I et 18 pour la zone III. L'indice de diversité de Shannon H' qui varie de 0,89-0,94, et de 0,85-0,87 respectivement pour les zones agro-écologiques III et I (Tableau XIV) témoigne de la diversité des CMA dans ces sols, et l'équitabilité de Piélou E (Tableau XIV) vient confirmer cet état de la diversité.

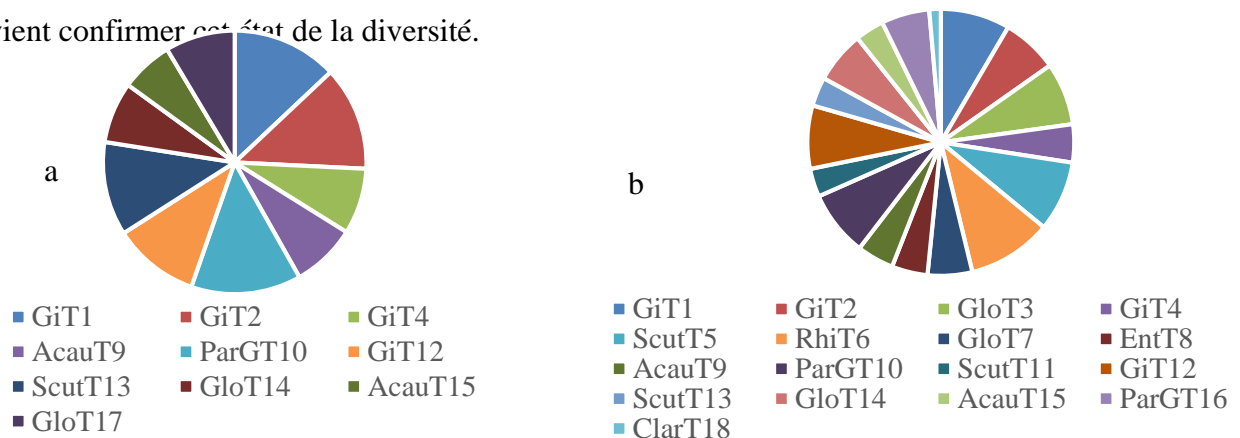


Fig. 15. Variation de l'abondance relative (AR) et de la richesse spécifique des CMA (zone III).
a : dans les échantillons de sols infectés ; b : dans les échantillons de sols non infectés

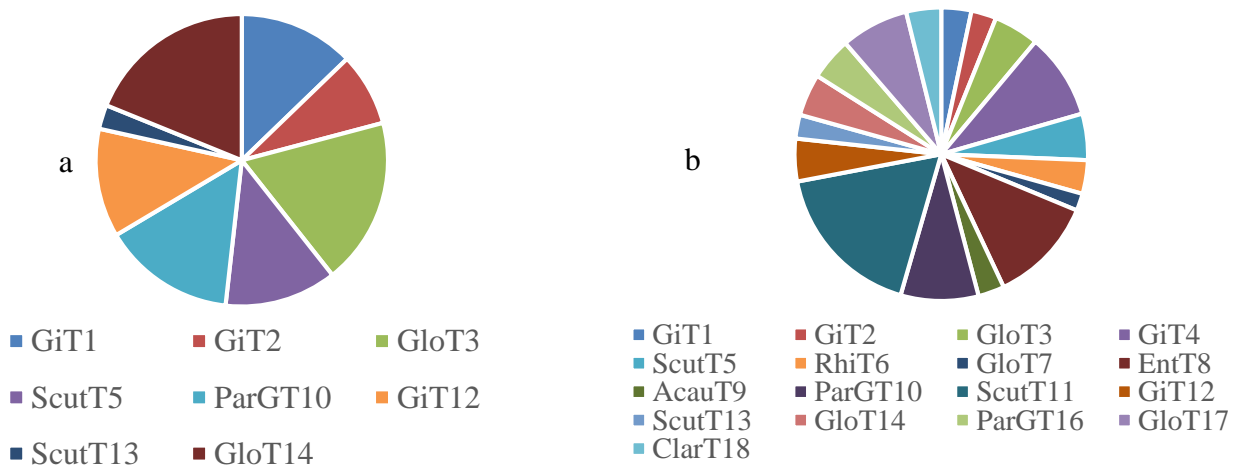


Fig. 16. Variation de l'abondance relative (**AR**) et de la richesse spécifique des CMA (zone I). **a** : dans les échantillons de sols infectés ; **b** : dans les échantillons de sols non infectés

Tableau IX. Récapitulatifs des morphotypes de CMA en fonction des zones agro-écologiques

Zone III			Zone I		
Malade	Non malade	Morphotypes d'intérêt	Malade	Non malade	Morphotypes d'intérêt
T1	T1	T3	T1	T1	T4
T2	T2	T5	T2	T2	T6
T4	T3	T6	T3	T3	T7
T9	T4	T7	T5	T4	T8
T10	T5	T8	T10	T5	T9
T12	T6	T11	T12	T6	T11
T13	T7	T16	T13	T7	T16
T14	T8	T18	T14	T8	T17
T15	T9			T9	T18
T17	T10			T10	
	T11			T11	
	T12			T12	
	T13			T13	
	T14			T14	
	T15			T16	
	T16			T17	
	T18			T18	

III.1.2. Caractérisation morphologique et identification des CMA a partir des spores

Sur le plan morphologique, les spores des CMA de la rhizosphère de *S. tuberosum* dans les 12 sites étudiés, sont regroupées en huit genres (*Gigaspora*, *Glomus*, *Scutelospora*, *Entrophospora*, *Paraglomus*, *Clarodeoglomus*, *Rhizophagus* et *Acaulospora*) dont les morphotypes appartenant à chaque genre sont : 4 *Gigaspora*, 4 *Glomus*, 3 *Scutelospora*, 2 *Acaulospora*, 2 *Paraglomus*, 1 *Rhizophagus*, 1 *Entrophospora*, et 1 *Clarodeoglomus*, et sont groupées en 18 morphotypes pour la zone III et 17 morphotypes pour la zone I. Tous ces genres sont identifiés dans tous les sites, excepté le genre *Clarodeoglomus* uniquement présent dans les sites d'IRAD Bambili dans la Région du Nord-Ouest, et Metresse dans la Région de l'Extrême Nord. (Fig.17). la description morphologique de quelque morphotypes présente les détails suivants :

Description du morphotype T1 (Fig. 17 K et 18 A)

Spores solitaires, sphériques, hyalines, lisses, dont le diamètre est supérieur à 250 µm. Paroi sporale formée d'un seul groupe de membrane (Fig.17. k). Formée d'une couche pariétale : la couche laminée (L), hyaline, sans ornementation. Hyphe suspenseur bulbeux,

hyalin à jaune pâle. L'hyphe et le bulbe suspenseur ne réagissent pas au réactif de Melzer (Fig.18 A). Les isolats ont été décrits dans tous les sites et se rattachent à *Gigaspora magarita*.

Description du morphotype T2 (Fig. 17 J et 18 F)

Spores solitaires, sphériques, noir, lisses, de diamètre supérieur à 250 µm. Paroi sporale formée d'un seul groupe de membrane (Fig.17. k). Les caractéristiques de membranes montrent une paroi formée d'un groupe de membrane surmontée par un bulbe suspenseur (Fig.18. F). Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones mais pas dans tous les sites avec des variations de diamètre et de forme se rattachant au genre *Gigaspora sp.*

Description du morphotype T4

Spores solitaires, globulaires, marron, dont le diamètre est compris entre 125-250 µm. Paroi sporale formée d'un seul groupe de membrane surmontée par un bulbe suspenseur. Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones mais pas dans tous les sites avec des variations de diamètre et de forme se rattachant au genre *Gigaspora sp.*

Description du morphotype T12 (Fig. 17 C et 18 B)

Spores solitaires, globulaires, hyaline dont le diamètre est supérieur à 250 µm de diamètre. Paroi sporale formée d'un groupe de membrane surmontée par un bulbe suspenseur. Les caractéristiques de membranes montrent une paroi formée d'un groupe de membrane surmontée par un bulbe suspenseur (Fig.18. F). Les isolats ont été décrits dans tous les sites et se rattachent au genre *Gigaspora sp.*

Description du morphotype T14 (Fig. 17 H)

Spores solitaires, globulaires ou sphériques, jaune claire dont le diamètre est compris entre 45-125 µm. Paroi sporale formée d'un seul groupe (Fig.17. H): Les caractéristiques membranaires varient très peu. Les isolats ont été décrits dans tous les sites et se rattachent au genre *Glomus sp* avec des variations de diamètre et de forme.

Description du morphotype T3 (Fig. 17 F et 18 E)

Spores solitaires, sphériques, jaune pâle à jaune citron, dont le diamètre est compris entre 45-125 µm. Paroi sporale formée d'un seul groupe (Fig.17. F). Formée de trois couches pariétales: la couche laminée (L), hyaline à jaune, souvent couvert de petites lamelles; la couche laminée (L), jaune; la couche membranaire (M). Hyphe suspenseur unique, droit ou recourbé. Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones mais pas dans

tous les sites avec des variations de diamètre se rattachant au genre *Glomus sp.* Le type et le nombre de membranes sont identiques.

Description du morphotype T7 (Fig. 17 F et 18 E)

Spores solitaires, globulaires, blanches, dont le diamètre est compris entre 45-125 μm . Paroi sporale formée d'un seul groupe de membrane (Fig.17. F) : formée de trois couches pariétales: le peridium (P), la couche laminée (L), la couche coriace(C). Les caractéristiques membranaires varient très peu. Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones mais pas dans tous les sites avec des variations de diamètre se rattachant au genre *Glomus sp.*

Description du morphotype T17 (Fig. 17 I et 18 E)

Spores solitaires, globulaires ou sphériques, marron, dont le diamètre est compris entre 45-125 μm . Paroi sporale formée d'un seul groupe de membrane (Fig.17. F) : formée de trois couches pariétales: la couche évanescence (E), la couche laminée (L), la couche membranaire (M). Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones mais pas dans tous les sites avec des variations de diamètre et de forme se rattachant au genre *Glomus sp.* Les caractéristiques membranaires varient peu.

Description du morphotype T10 (Fig. 17 D et 18 D)

Spores solitaires globulaires ou ovoïdes blanches, dont le diamètre est compris entre 125-250 μm . Paroi sporale formé d'un seul groupe de membrane (Fig. 17. D) : formée de deux couches pariétales : la couche laminée (L) et la couche coriace (C). Les caractéristiques membranaires varient peu et sont surmontées par un groupe d'hyphe suspenseur unique (Fig. 18. D). Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones avec des variations de diamètre et de forme se rattachant au genre *Paraglomus sp.*

Description du morphotype T16

Spores solitaires, sphériques à ellipsoïdes, hyalines, marron, de diamètre compris 45-125 μm . Paroi sporale formée de deux groupes de membranes. Les caractéristiques membranaires varient peu et sont surmontées par un groupe d'hyphe suspenseur. Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones avec des variations de diamètre et de forme se rattachant au genre *Paraglomus sp.*

Description du morphotype T5 (Fig. 17 H et 18 B)

Spores solitaires, subglobulaires, blanches, de diamètre supérieur à 250 μm (Fig. 17. H) la Paroi sporale est formé de deux couches pariétales : la couche unitaire (U), la couche laminée

(L). Les caractéristiques membranaires varient peu et sont surmontées par un bulbe suspenseur précédé par une boucle de germination (Fig. 18. B). Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones et dans tous les sites avec des variations de diamètre et de forme se rattachant au genre *Scutellospora sp.*

Description du morphotype T13 (Fig. 17 Bi)

Spores solitaires, globulaires, hyalines de 125- 250 µm de diamètre. Paroi sporale est formée de trois couches : la couche laminée (L), hyaline, la couche membranaire (M) et la couche coriace (C) Les caractéristiques membranaires varient peu et sont surmontées par un bulbe suspenseur précédé par une boucle de germination. Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones et dans tous les sites avec des variations de diamètre et de forme se rattachant au genre *Scutellospora sp.*

Description du morphotype T11 (Fig. 17 Bii)

Spores solitaires, globulaires, jaunes, de 125-250 µm de diamètre. Paroi sporale est formée de deux couches pariétales : la couche unitaire (U) et la couche laminée (L). la couche membranaire (M). Les caractéristiques membranaires varient peu et sont surmontées par un bulbe suspenseur précédé par une boucle de germination (Fig. 18. B). Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones et dans tous les sites avec des variations de diamètre et de forme se rattachant au genre *Scutellospora sp.*

Description du morphotype T15 (Fig. 17 E)

Spores solitaires, globulaires à ovoïdes, noir, de 125-250 µm de diamètre, quelquefois reliées à leur saccule sporifère qui possède une paroi mince. Paroi sporale est formée de deux couches pariétales : la couche évanescence (E) et la couche laminée (L), d'une couche membranaire (M) et d'une couche membranaire (MM) difficilement distinctes. Cette espèce est décrite dans quelques sols de la zone I et se rattache au genre *Acaulospora sp.*

Description du morphotype T9

Spores solitaires, globulaires, rouge orangé, de diamètre supérieur à 250 µm, quelquefois reliées à leur saccule sporifère. La paroi sporale est formée de deux couches pariétales : la couche membranaire (M) et la couche laminée (L) et d'une couche unitaire (U) Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones et dans tous les sites avec des variations de diamètre et de forme se rattachant au genre *Acaulospora sp.*

Description du morphotype T8 (Fig. 17 A et 18 C)

Spores solitaires, globulaires, de couleur orangé, à un diamètre compris entre 125 et 250 µm, en générale reliées à leur saccule sporifère (Fig. 17. A). Un hyphe suspenseur et une saccule sporifère en position latérale. Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans

toutes les zones mais pas dans tous les sites avec des variations de diamètre et de forme se rattachant au genre *Entrophospora sp.*

Description du morphotype T18 (Fig. 17 G)

Spores solitaires, subglobulaires, de couleur jaune, à un diamètre supérieur à 250 µm (Fig. 17. G). Les caractéristiques membranaires varient peu et sont surmontées par un hyphe suspenseur. Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones mais pas dans tous les sites avec des variations de forme se rattachant au genre *Clarodeoglomus sp.*

Description du morphotype T6 (Fig. 17 G)

Spores solitaires, globulaires, de couleur jaunes claire, a un diamètre compris entre 125-250 µm (Fig. 17 G). la paroi lise est surmontée par un hyphe suspenseur rattacher solidement à la membrane qui varie très peu. Des isolats appartenant à la même espèce ont été décrits dans toutes les zones mais pas dans tous les sites avec des variations de forme se rattachant au genre *Rhizophagus sp.*

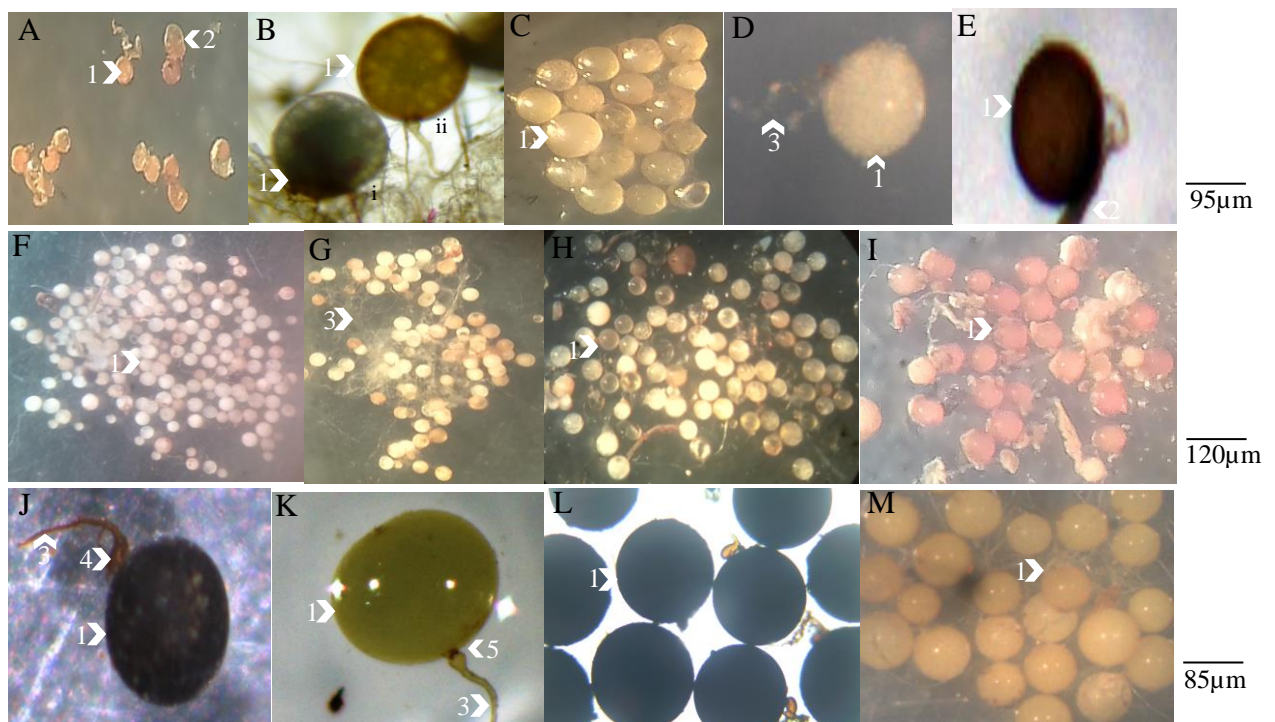


Fig.17. Structures morphologiques des spores des champignons mycorhiziens à arbuscules. (A- Les spores (1) d'*Entrophospora sp.* présentant une saccule sporiphère; B- Spores de (i. *Scutelospora sp.* ; et ii : *Gigaspora sp.*) avec bulbe suspenseur, boucles de germination et hyphes développés; C- *Gigaspora sp.* montrant ; D- *Paraglomus sp.* montrant un hyphe suspenseur; E- *Acaulospora sp.*; F- Mélange de spores ; G- Spores de *Clarodeoglomus sp.* et *Rhizophagus sp.* ; H- Spores de *Scutelospora sp.* ; I- Spores de *Glomus sp.* ; J- *Gigaspora sp.* ; K- *Gigaspora margarita* montrant un bulbe suspenseur et des boucles de germinations ; L- Spores noir non identifié 1. Spores ; 2. Saccules sporiphère ; 3. Hyphe suspenseur ; 4. Boucle de germination ; 5. Bulbe suspenseur.)

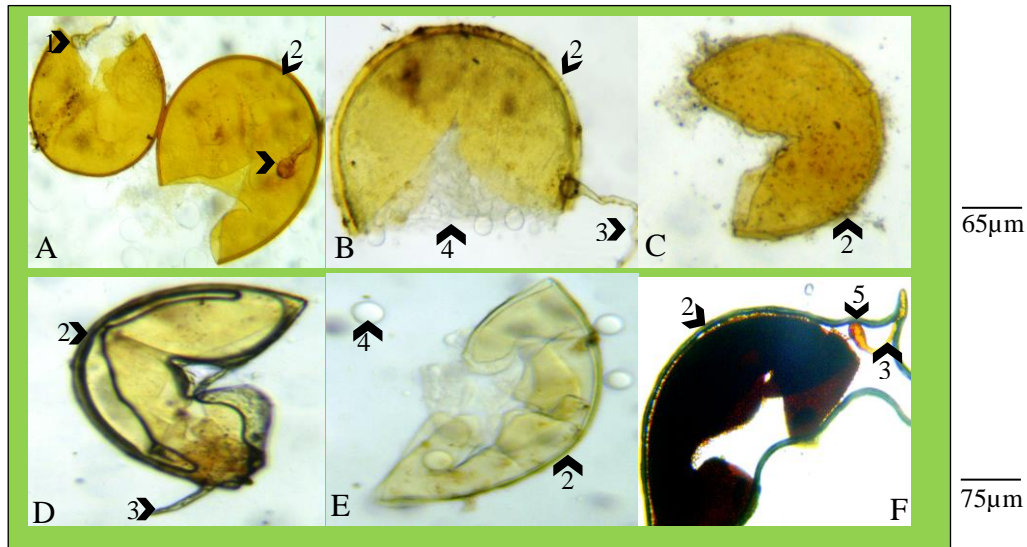


Fig.18. Diversité des structures membranaires et contenu des spores des champignons mycorhiziens à arbuscules (cliché de DONGMO):

A. *Gigaspora margarita* ; B. *Scutelospora* sp ; C. *Entrophospora* sp ; D. *Paraglomus* sp ; E. *Gigaspora* sp. ; F. *Glomus* sp ;

1. Bulbe suspenseur ; 2. Aspect de la membrane de la spore ; 3. Hyphe suspenseur ; 4. Gouttelettes lipidiques ; 5. Boucle de germination.

L'analyse des morphotypes présents dans les sols infecté et non infecté a permis de recenser ceux uniquement présents dans les sols non infecté (morphotypes d'intérêt). T3, T5, T6, T7, T8, T9, T11, T16, T17, T18. Ensuite, une confrontation avec les morphotypes présents dans les sols témoins (hors sols) a permis l'élimination de 12 morphotypes dans la zones III et 12 dans la zone I pour en avoir au final huit (8) dont T3, T6, T7, T8, T9, T16, T17 et T18 suivants les caractéristiques morphologiques observées. (Tableau XIII).

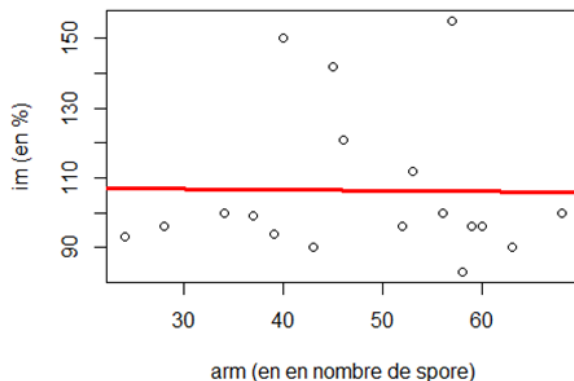
Tableau X. Confrontation des différents morphotypes d'intérêt et sols témoins isolés

Morphotypes d'intérêt ZIII	Hors sols ZIII	Isolats d'interêt	Morphotypes d'intérêt ZI	Hors sols ZI	Isolats d'interêt
T3	T1	T3	T4	T1	T6
T5	T2	T6	T6	T2	T8
T6	T5	T7	T7	T4	T16
T7	T9	T8	T8	T5	T17
T8	T11	T16	T9	T7	T18
T11	T12	T18	T11	T9	T9
T16	T13	T9	T16	T11	
T18	T14		T17	T12	
	T15		T18	T13	
				T14	
				T15	

III.1.2.1. Variation de l'incidence de la maladie en fonction de l'abondance relative des spores de CMA et leur richesse spécifique dans la zone agroécologique I

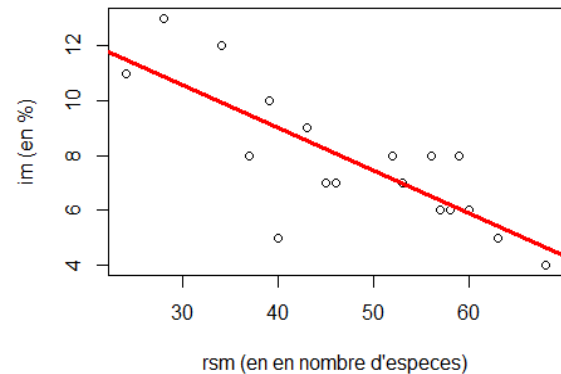
La régression linéaire simple entre l'incidence de la maladie et l'abondance des spores de CMA et leurs richesses spécifiques, est effectuée pour vérifier si l'abondance relative des spores et leurs richesses spécifiques peuvent expliquer et prédire la variabilité de l'incidence de la maladie en champs.

Les résultats obtenus révèlent une corrélation négative entre l'incidence de la maladie, l'abondance relative des spores de CMA et la richesse spécifique respectivement ($r_1 = -0,014$ et $r_2 = -0,79$). Ces résultats montrent également que l'abondance relative ne peut pas statistiquement et significativement prédire la variabilité de l'incidence et la sévérité de la maladie (F-value= 0,0033, P-value=0,954) avec 0,02% de variation de l'incidence qui s'explique par l'abondance relative des CMA. Par opposition, la richesse spécifique peut statistiquement et significativement prédire la variabilité de l'incidence et la sévérité de la maladie (F-value= 27,03, P-value=8,776e-05) avec 62,8% de variation de l'incidence qui s'explique par la richesse spécifique des spores (Fig.19.a. et Fig.19.b.)



im= incidence de la maladie (en %)
arm= abondance relative des spores

Fig.19.a. Abondance relative des spores en fonction de l'incidence de la maladie. Zone I



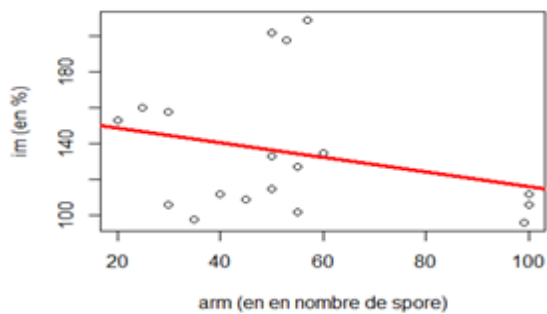
im= incidence de la maladie (en %)
rsm= richesse spécifique des spores

Fig.19.b. Richesse spécifique des spores en fonction de l'incidence de la maladie. Zone I

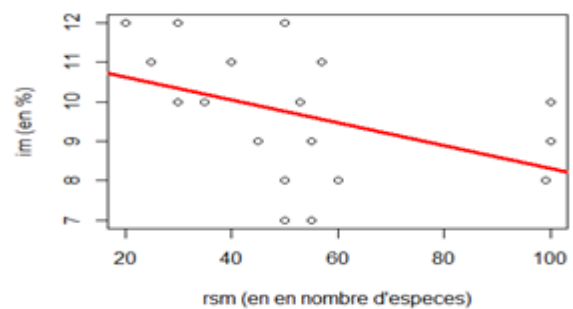
III.1.2.2. Variation de l'incidence de la maladie en fonction de l'abondance relative des spores de CMA et leur richesse spécifique dans la zone agroécologique III

La régression linéaire simple entre l'incidence de la maladie et l'abondance des spores de CMA et leurs richesses spécifiques, dans la zone III est effectuée pour vérifier si l'abondance relative des spores et leurs richesses spécifiques peuvent expliquer et prédire la variabilité de l'incidence de la maladie en champs. Les résultats obtenus révèlent une corrélation négative entre l'incidence de la maladie ; l'abondance relative des spores de CMA et leur richesse

spécifique respectivement de (-0,26 et -0,82). Ces résultats montrent également que l'abondance relative peut statistiquement mais pas significativement prédire la variabilité de l'incidence et la sévérité de la maladie (F-value= 1,257, P-value=0,278) avec 7,2% de variation de l'incidence qui s'explique par l'abondance relative des CMA. Par contre, la richesse spécifique peut statistiquement et significativement prédire la variabilité de l'incidence et la sévérité de la maladie (F-value= 42,92 P-value=6,67e-06) avec 72,8% de variation de l'incidence qui s'explique par la richesse spécifique des spores (Fig.19.c et Fig.19



im= incidence de la maladie (en %)
arm= abondance relative des spores.



im= incidence de la maladie (en %)
rsm= richesse spécifique des spores.

Fig.19.c. Abondance relative des spores en fonction de l'incidence de la maladie. Zone III Fig.19.d. Richesse spécifique des spores en fonction de l'incidence de la maladie. Zone III

III.1.3. Indices de diversité des CMA

Une observation globale des valeurs de l'indice de Shannon montre que la diversité des spores est en général COMPRISE entre 0,85 et 0,94. Notons tout de même que dans les zones, l'indice varie légèrement en fonction de l'aspect sanitaire des échantillons (Tableau XIV).

Tableau XI. Récapitulatif des indices de diversité des CMA en fonction des zones

Zones agro-écologiques	Zone III		Zone I		p-value
Indices de diversité					
Aspect sanitaire	Malade	Non Malade	Malade	Non Malade	
Shannon H'	0,94	0,89	0,87	0,85	P>0.05
Piélou E'	0,93	0,95	0,93	0,84	
p-value					P>0.05

III.1.4. Colonisation racinaire de *Solanum tuberosum* et des plantes pièges

III.1.4.1. Colonisation racinaire de *Solanum tuberosum*

L'évaluation du pourcentage et de l'intensité de colonisation racinaire de *Solanum tuberosum*, dans les douze (12) sites appartenant aux deux zones agro-écologique d'études, s'est fait sur la base de la présence ou pas, des structures des champignons mycorhiziens à arbuscules dans les racines. Les structures caractéristiques des CMA telles que vésicules et les hyphes ont été observées dans les racines colorées.

III.1.4.2. Colonisation des racines de pomme de terre en fonction des sites d'études

La fréquence et l'intensité de colonisation mycorhizienne (FCM et ICM) des fragments des racines de pomme de terre varient en fonction des sites. La FCM moyen des racines de la pomme de terre varie de 12 à 44,43 % dans la zone III et 16 à 43,23% dans la zone I. En effet, le site de Santa (44,43 %) de la zone III a montré la fréquence de colonisation la plus élevée suivie de Barrage Mogode (43,23 %) de la Zone I. Alors que les sites Foto (12 %) de la Zone III et Roumki (16 %) de la Zone I, ont montré une fréquence de colonisation très faible. De même, l'analyse statistique des résultats a révélé d'une part, une différence non significative ($P > 0,05$) du pourcentage de colonisation des racines des plantes malade et non malade. Et d'autre part une différence significative ($P < 0,05$) de ce pourcentage de colonisation d'un site à un autre (Tableau XV).

Tableau XII. Fréquence et l'intensité de colonisation racinaire de la pomme de terre

Zones	Sites	Colonisation mycorhizienne (%)					
		F	I	H	SP	C	C
	Foto M	12 ^a	1,0 ^a	0,8 ^a	00 ^a	00 ^a	0.02 ^a
	Balessin M	30,7 ^c	1,1 ^a	1,0 ^a	00 ^a	0,5 ^a	00 ^a
	Balessin NM	34,7 ^c	1,6 ^a	1,2 ^a	00 ^a	0,03 ^a	0,1 ^a
	Abonghen M	28,3 ^b	1,0 ^a	1,1 ^a	00 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a
	Abonghen NM	33,3 ^c	1,5 ^a	1,3 ^a	00 ^a	00 ^a	00 ^a
	Ntah M	18,2 ^b	0,9 ^a	0,9 ^a	00 ^a	00 ^a	0,2 ^a
	Ntah NM	23,2 ^b	1,1 ^a	0,9 ^a	00 ^a	0,2 ^a	0,1 ^a
	IRAD M	39,4 ^c	2,8 ^b	1,5 ^b	00 ^a	1,52 ^b	0,31 ^a
	IRAD NM	40,3 ^c	3,6 ^c	2,04 ^b	00 ^a	1,02 ^b	0,51 ^a
	Santa M	39,3 ^c	4,9 ^c	2,7 ^b	00 ^a	1,9 ^b	0,51 ^a
	Santa NM	44,43 ^c	5,6 ^c	3,36 ^c	00 ^a	1,68 ^b	0,56 ^a
	BarrageM M	40,3 ^c	2,0 ^b	0,9 ^a	00 ^a	0,05 ^a	0,1 ^a
	BarrageM NM	43,23 ^c	2,1 ^b	1,8 ^b	00 ^a	0,7 ^a	0,2 ^a
	Zimi M	27,4 ^b	1,1 ^{ab}	1,0 ^a	00 ^a	0,2 ^a	0,1 ^a
	Zimi NM	33,3 ^c	1,6 ^{ab}	1,2 ^a	00 ^a	0,1 ^a	0,2 ^a
	Mbouguru M	29,1 ^b	1,2 ^{ab}	0,96 ^a	00 ^a	0,14 ^a	0,50 ^a
	Mbouguru NM	33,3 ^c	1,6 ^{ab}	1,0 ^a	00 ^a	0,64 ^a	00 ^a
	Metresse M	30,1 ^c	2,5 ^b	1,6 ^b	00 ^a	0,21 ^a	1,02 ^a
	Metresse NM	36,6 ^c	3,3 ^c	2,06 ^b	00 ^a	1,23 ^a	00 ^a
	Roumki M	16,6 ^b	0,7 ^a	0,5 ^a	00 ^a	00 ^a	0,2 ^a
	Roumki NM	16,6 ^b	0,8 ^a	0,6 ^a	00 ^a	00 ^a	00 ^a
	Kwambete M	19,6 ^b	1,0 ^a	0,84 ^a	00 ^a	00 ^a	0,14 ^a
	Kwambete NM	22,2 ^b	1,1 ^a	0,91 ^a	00 ^a	0,18 ^a	00 ^a

M= malade **NM**= non malade. **F**= Fréquence de colonisation mycorhizienne. **I**= intensité de colonisation mycorhizienne: (**H**= colonisation des hyphes ; **SP**= colonisation des spores ; **V**= colonisation des vésicules ; **CA**= colonisation arbuscule). Les chiffres de la même colonne, suivis de la même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de degré de liberté de 5%.

III.1.4.3. Colonisation des racines des plantes piège en fonction des sites d'études

La fréquence et l'intensité de colonisation mycorhizienne (FCM et ICM) des fragments des racines de pomme de terre varient en fonction des sites. Le PCM moyen des racines de la pomme de terre varie de 80.0 à 100 % dans la zone III et 50.0 à 100% dans la zone I. En effet, tous les sites de la Zone III montrnt le pourcentage de colonisation voisin de 100 % alors que les sites de la Zone I montrent un pourcentage de colonisation voisin de 85 %. Neamoins, les sites IRAD M (80 %) de la Zone III et Roumki (50 %) de la Zone I ont montré les pourcentages de colonisation les plus faible respectivement dans les deux Zones. De même, l'analyse statistique des résultats a relevé d'une part, une différence non significative ($P > 0,05$) du pourcentage de colonisation des racines des plantes pièges d'un échantillon malade et son homologue non malade. Et d'autre part une différence significative ($P < 0,05$) de ce pourcentage de colonisation d'un site à un autre (Tableau XVI).

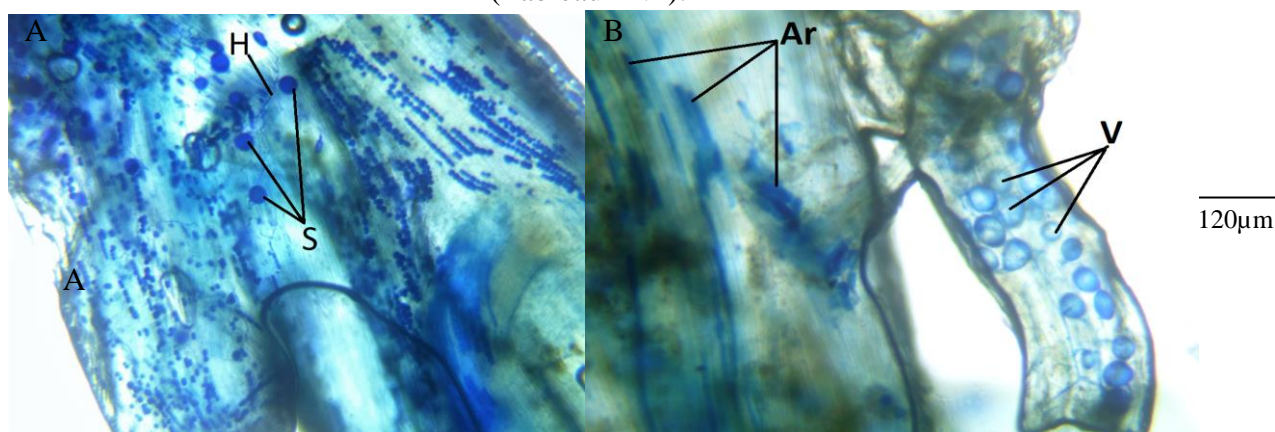


Fig.20. Coloration racinaire des plantes pièges (sorgho et du niébé). H : hyphes; S : spore; Ar : arbuscules; V : vésicules (cliché de l'auteur).

Tableau XIII. Fréquence et l'intensité de colonisation racinaire des plantes pièges

Zones	Sites	Colonisation mycorhizienne (%)					
		F (%)	I	H	SP	V	A
III	Foto M	100 ^b	59 ^c	25 ^b	9,5 ^a	17,4 ^c	6,5 ^a
	Balessin M	100 ^b	59 ^c	26 ^b	10 ^b	14 ^b	9 ^a
	Balessin NM	90 ^b	53,5 ^c	14,6 ^b	17 ^b	18 ^c	2 ^a
	Abonghen M	90 ^b	49,5 ^c	21,3 ^b	8 ^a	17 ^c	11 ^b
	Abonghen NM	100 ^b	55 ^c	12 ^a	3 ^a	13 ^b	14 ^b
	Ntah M	100 ^b	55 ^c	30 ^c	10 ^b	8 ^a	9 ^a
	Ntah NM	100 ^b	42 ^b	9 ^a	19 ^b	15 ^b	4 ^a
	IRAD M	80 ^b	35 ^b	12 ^a	11 ^b	9 ^a	5 ^a
	IRAD NM	90 ^b	44,5 ^b	20,4 ^b	5,4 ^a	14 ^b	5 ^a
	Santa M	90 ^b	60 ^c	33,6 ^c	17 ^b	10 ^b	3 ^a
Santa NM	100 ^b	54 ^c	24,6 ^b	4 ^a	9 ^b	1,6 ^c	

	Barrage M M	100 ^b	63 ^c	18 ^b	13 ^b	9 ^b	2,0 ^a
	BarrageM NM	80 ^b	36 ^b	12 ^a	9 ^a	14 ^b	3 ^a
	Zimi M	80 ^b	14 ^a	6 ^a	3 ^a	3.5 ^a	1 ^a
	Zimi NM	80 ^b	27 ^a	11 ^a	2 ^a	10 ^b	3 ^a
	Mbougaru M	100 ^b	56,5 ^c	20 ^b	7 ^a	16,4 ^c	11 ^b
	Mbougaru NM	100 ^b	20 ^a	6 ^a	4 ^a	8 ^a	2 ^a
I	Metresse M	90 ^b	21 ^a	6 ^a	3 ^a	7.6 ^a	2,5 ^a
	Metresse NM	70 ^a	15 ^a	7 ^a	1 ^a	5 ^a	4 ^a
	Roumki M	50 ^a	12,5 ^a	3 ^a	5 ^a	2 ^a	1,5 ^c
	Roumki NM	100 ^b	52,5 ^c	19 ^b	9 ^a	14 ^b	7 ^a
	Kwambete M	60 ^a	14,5 ^a	5 ^a	1 ^a	6 ^a	1 ^c
	Kwambete NM	90 ^b	28,5 ^a	11 ^a	5 ^a	8 ^a	3 ^a

M= malade **NM**= non malade. **PCM** = Fréquence de colonisation mycorhizienne. **ICM** = intensité de colonisation mycorhizienne. Degré de colonisation (**CH** = colonisation des hyphes ; **CSP** = colonisation des spores ; **CV** = colonisation des vésicules ; **CA** = colonisation arbuscule). Les chiffres de la même colonne, suivis de la même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de degré de liberté de 5%

III.1.5. Germination des spores sur milieu gélosé

L'observation des spores ainsi que leur croissance au microscope optique et à la loupe binoculaire témoigne de l'effectivité de la germination de ces derniers avec la présence des boucles de germination sur les spores ainsi que la présence des filaments mycéliens traversant le diamètre des papiers filtres et colonisant le milieu gélosé (Fig.22)

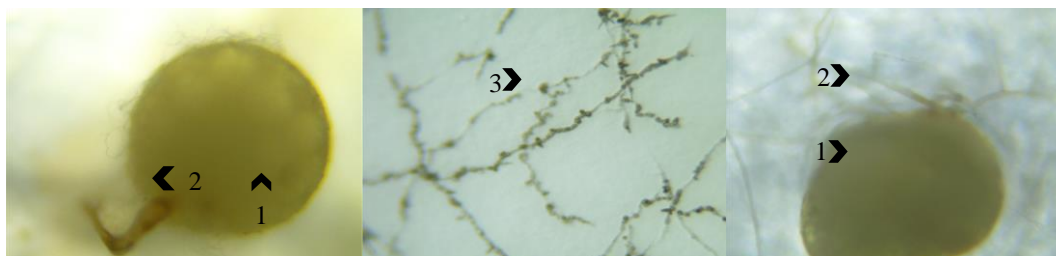


Fig.21. Germination et croissance des spores sur milieu gélosé: 1. Spores ; 2. Hyphes ; 3. Réseau mycélien après 10 jours ; (cliché de l'auteur).

III.1.6. Purification des spores prégermées

La purification et la multiplication des isolats est effective et vérifiée par des extractions et les colorations racinaires effectuées sur des pots après trois mois de culture (Fig.22.). À partir de la multiplication d'une spore (purification), chaque spore a produit une dizaine d'autres. Il en est de même pour la multiplication à partir de 10 spores (composites), le total des spores ayant été doublé, voir triplé pour certaines espèces démontrant ainsi l'effectivité de la multiplication (Tableau XVII et XVIII).

Tableau XIV. Résultats de la multiplication des CMA à partir d'une spore

Morphotypes	Présence	Nombre de spores
T3	++	10
T6	++	12
T7	+	5
T8	++	13
T9	++	11
T16	++	10
T17	+	8
T18	++	9

+ = Faible (0-8 spores); ++ = Moyen (9-15 spores) dans 100g

Tableau XV. Résultats de la multiplication des CMA à partir de 10 spores

Morphotypes	Présence	Nombre de spores
T3	+++	25
T6	++	15
T7	+++	20
T8	++	10
T9	+++	25
T16	+++	23
T17	++	18
T18	+++	21

++ = Faible (9-18 spores) ; +++ = Moyen (19-30 spores) dans 100g

Sur le plan agronomique, la sélection des souches a été effectuée sur la base d'un classement des isolats en fonction des performances des souches. Ainsi les souches T9, T7, T8, et T18 sont dans l'ordre de mérites les plus performantes. De plus ils sont présents dans la rhizosphère de la plante non infectée et absents dans celle de la plante infectée. (Tableau. XIX)

Tableau XVI. Potentiel des isolats de CMA en fonction des paramètres agronomiques

Morphotypes	L.T (cm)		NBR.F/plante		S.F (cm ²)		D.C (mm)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Témoins	5,5±1,56	5,9±1,7	1,00±0,00	1,00±0,00	6,52±1,90	7,32±2,77	0,01±0,00	0,02±0,00
T3	6,5±1,29	6,75±1,31	1,5 ±0,84	1,75±0,82	9,8 ±2,40	10,87±3,83	0,05±0,00	0,06±0,01
T6	7,5±2,08	7,75 ±2,1	2±0,81	2,25±0,95	9,12±6,53	9,84±6,69	0,08±0,1	0,9±0,02
T7	14,25±6,1	15,87 ±5,1	2,75±0,41	3±0,75	15,28±8,62	15,55±8,8	0,13±0,05	0,13±0,05

T8	10,5±3,41	10,87±3,17	2.8±0.55	3±0.67	14,3±10,41	14,72±10,4	0,07±0,02	0,08±0,02
T9	19±6,48	20,62±6,82	1,9 ±0,57	2,25±0,95	19,81±10,7	22,99±15,5	0,15±0,04	0,14±0,04
T16	7,0±2,07	7,45 ±2,0	2±0,61	2,15±0,85	8,12±5,53	8,74±5,59	0,09±0,2	0,10±0,04
T17	6,45±1,9	7.00±1,5	1,3 ±0,74	1,6±0.62	8,8 ±3.40	9,7±3,93	0.04±0.01	0,05±0,02
T18	11,5±2,81	11,89±2,87	2.4±0.45	2,7±0.57	9,3±5,81	10,3±6,0	0,06±0,01	0,07±0,02

Légende : L.T= Longueur de la tige, NBR.F= Nombre de feuilles, LF=Surface foliaire ; D.C= Diamètre au collet

III.1.7. Criblage et sélection des isolats en fonction des types de multiplication

Un traitement correspond à une espèce inoculée à 1 spore (A) et à 10 spores noté (B).

III.1.7.1. Longueur de la tige

Pour le paramètre longueur de la tige, il existe des différences significatives entre les différents traitements et les valeurs du P. value montrent que : Il existe une différence hautement significative entre les morphotypes étudiés (0.001526); Il n'existe pas de différence significative dans le même traitement (A) et (B), (0.504 NS).

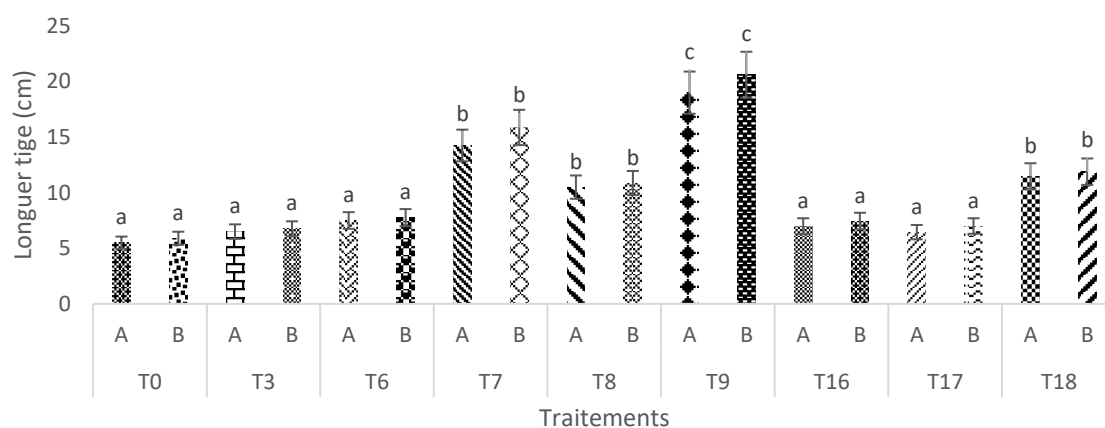


Fig. 22. Effets des morphotypes et du nombre de spores de CMA sur la longueur de la tige

La double comparaison entre les traitements (T) en fonction de la longueur de la tige nous montre une dominance du traitement 6 correspondant à l'espèce T9 nommée *Acaulospora sp* sans différence significative entre le mode de multiplication mono et plurisporale. Les différents souches de CMA ont clairement eu un effet sur la longueur des plants de sorgho, avec des espèces plus promotrice de croissance que d'autres. (Fig.23)

III.1.7.2. Nombre de feuilles

Pour le paramètre nombre de feuilles, il existe des différences significatives entre les différents traitements et les valeurs du P. value montrent que : Il existe une différence hautement significative entre les espèces de CMA étudiées (0.00624**) Il n'existe pas de différence significative dans le même traitement (A) et (B), (0.43251 NS) (Fig.24)

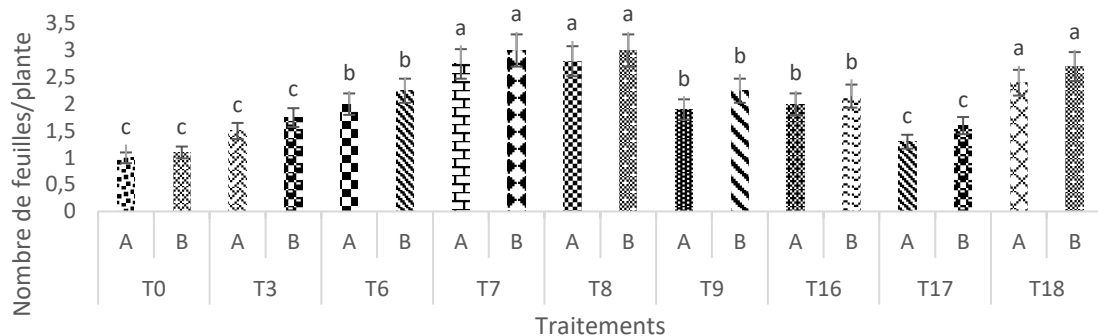


Fig. 23. Effets des morphotypes et du nombre de spores de CMA sur le nombre de feuilles

La double comparaison entre les traitements (espèces et nombre de spores) en fonction du nombre de feuilles nous montre une dominance du traitement 4, 5 et 9 correspondant aux espèces T7, T8, et T18 (espèces T7=*Glomus sp*; T8= *Entrophospora sp*; T18= *Clarodeoglomus sp*. Ici, il n'existe pas de différence significative entre le mode de multiplication mono et plurisporale. Démontrant une fois de plus la fonctionnalité des espèces de CMA et leur influence diverse sur la croissance et le développement des plantes de sorgho.

III.1.7.3. Surface foliaire

Pour le paramètre surface foliaire, il existe des différences significatives entre les différents traitements et les valeurs du P. value montrent que : Il existe une différence hautement significative entre les morphotypes (0.00154**), Il n'existe pas de différence significative dans le même traitement (A) et (B) (0.3119 NS),

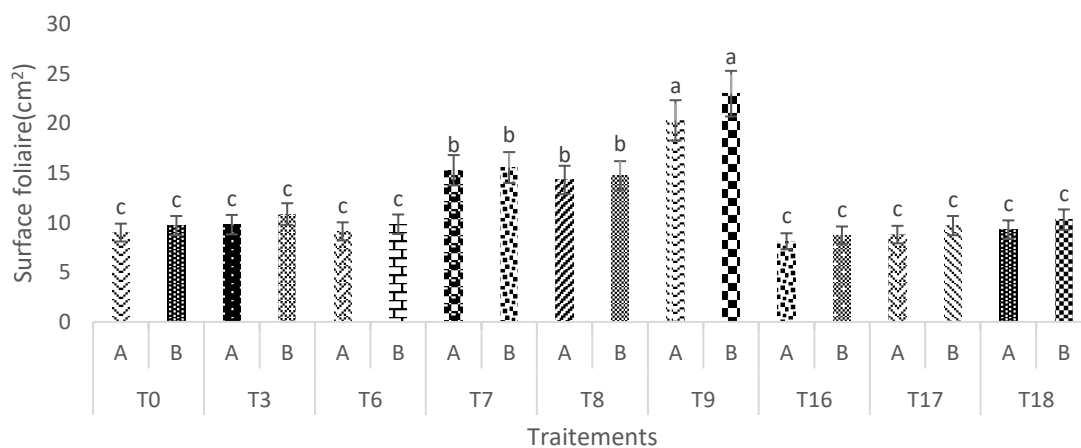


Fig. 24. Effets des morphotypes et du nombre de spores de CMA sur la surface foliaire.

L'analyse des données du paramètre surface foliaire confirme celles des paramètres précédents sur la fonction des CMA, avec également une large dominance du traitement 6 (morphotype T9 : *Acaulospora sp*), suivie des traitements 4 et 5 (morphotype T7 : *Glomus sp* ; T8 : *Entrophospora sp*), une faible action du traitement 7 (morphotype T16: *Paraglomus sp*) et enfin l'absence de différence significative entre les types de multiplication en présence (Fig.25).

III.1.7.4. Diamètre au collet.

Pour le paramètre diamètre au collet, il existe des différences significatives entre les différents traitements et les valeurs du P. value montrent que : Il existe une différence très hautement significative entre les morphotypes (0.0004263***), Il n'existe pas de différence significative dans le même traitement (A) et (B) (0.2461NS).

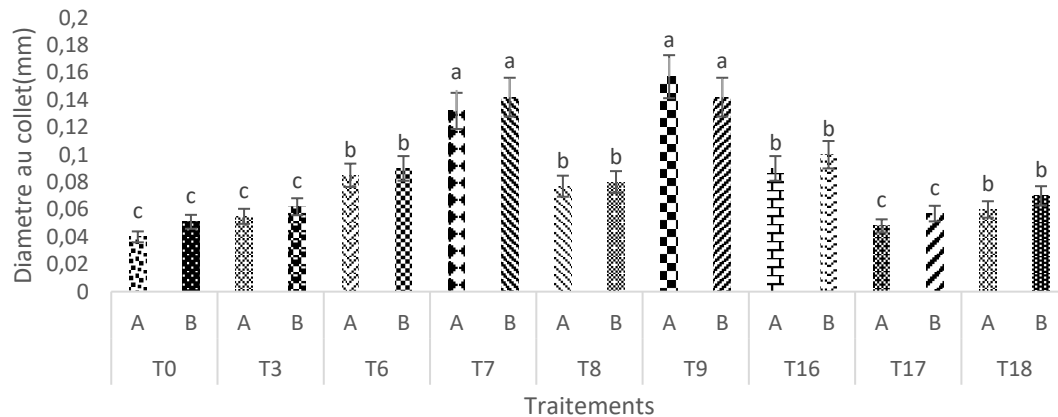


Fig. 25. Effets des morphotypes et du nombre de spores de CMA sur le diamètre au collet.

Pour le paramètre surface foliaire, L'analyse des données confirme celles des paramètres précédents avec également une prédominance des traitements 4 et 6 (morphotype T7 et T9), et une faible action du traitement 8 (morphotype T17) suivi d'une action intermédiaire des traitements 3, 5 et 7 (morphotype T6, T8 et T16), et enfin l'absence de différence significative entre les types de multiplication en présence (Fig.26).

En résumé, de manière générale il existe des différences significatives entre l'effet des souches pures et composites. Mais, une différence est visible entre les souches en fonction des paramètres de criblages sur la croissance des plantes de sorgho. Sur le plan agronomique, un classement a été effectué en fonction des performances des isolats (longueur des tiges ; nombre de feuilles ; surfaces foliaires et diamètre au collet). Ainsi les souches T9, T7, T8, et T18 sont dans l'ordre de mérites les plus performantes. De plus ils sont présents dans la rhizosphère de la plante non infectée et absents dans celle de la plante infectée. Les genres *Acaulospora sp* et *Glomus sp* *Entrophospora sp* et *Clarodeoglomus sp* se sont démarqués comme espèces les mieux promotrices pour la croissance du sorgho, tandis que *Rhizophagus sp* (T6) s'est démarqué comme étant l'espèce la moins promotrice de croissance et de développement des plantes de sorgho. Le nombre de spores de CMA mis en culture, bien qu'ayant montré une nette différence concernant la multiplication, n'a cependant pas montré de différence sur la croissance des plantules de sorgho.

III.2. Discussion

III.2.1 Statut mycorhizien de la pomme de terre

Les résultats obtenus dans ce travail indiquent la présence des structures caractéristiques des CMA (Champignons Mycorhiziens à Arbuscules) dans la rhizosphère et dans les racines de *Solanum tuberosum* cela est en accord avec les travaux de Gloria, et *al.*, (2013), en France, de Carolina et *al.*, (2015) en Allemagne de Jasmin, et *al.* (2016), aux USA, de Paul Loján et *al.*, (2017) au Canada de Murat, et *al.*, (2017) en Turquie et de Aouissi et *al.*, (2018) en Algérie. De plus, les études préliminaires sur l'inoculation de *Solanum tuberosum* par les CMA menées par Adrien et *al.*, (2011) en Belgique et par Sonna (2017) au Cameroun, indiquent également que la plante établie des associations symbiotiques avec les CMA.

III.2.2. Colonisation mycorhizienne des racines de la pomme de terre

La colonisation mycorhizienne des racines de *S. tuberosum* a montré des structures des champignons mycorhiziens à arbuscules dans la grande majorité des échantillons examinés. La présence des hyphes, des vésicules, des spores et des arbuscules dans les racines de pomme de terre montre qu'elle est colonisée par différentes familles de CMA. (Sonna, 2017). Ces résultats sont en accord avec ceux de Adrien, et *al.*, (2011), Ismail, et *al.*, (2013) et Carolina et *al.*, (2015). D'après ces auteurs, les champignons de la famille des *Glomaceae*, *Rhizophaguaceae* des *Acaulosporaceae*, *Clarodeoglomaceae*, étaient capables de s'associer aux racines de pomme de terre et booster le rendement de cette dernière.

III.2.3. Caractérisation morphologique des CMA de la rhizosphère de la pomme de terre

La caractérisation morphologique des CMA de la rhizosphère de *S. tuberosum* effectuée dans cette étude a permis de déterminer les différentes familles des CMA rencontrées dans la rhizosphère et pouvant colonisées les racines de *S. tuberosum*. Il s'agit de 08 familles (*Gigasporaceae*, *Glomeraceae*, *Scutelosporaceae*, *Entrophosporaceae*, *Paraglomaceae*, *Clarodeoglomaceae*, *Rhizophaguaceae* et *Acaulosporaceae*) regroupant 18 espèces différentes. Cette caractérisation morphologique s'est basée sur la forme, la taille, la couleur et l'aspect extérieur de la spore. L'identification des espèces sur la base des seuls caractères morphologiques présente de nombreuses limites (Schüssler et *al.*, 2001 ; Zeramndini, 2009). Les résultats obtenus présentent des similitudes avec ceux de Carolina et *al.*, (2015) qui ont recensé un peu plus de vingt-cinq morphotypes de CMA. Et des différences avec les travaux du même auteur, qui n'a pas observé les genres *Entrophosporaceae* et *glomeraceae*. La différence observée sur le nombre d'espèces différentes recensées s'explique non seulement par l'usage d'une méthode plus sophistiquée telle que le pyroséquençage, mais aussi par la distribution

géographique des CMA dans les régions du globe; les conditions environnementales et les variétés de plante utilisées.

L'observation des spores des champignons mycorhiziens à arbuscules a montré une prédominance du genre *Glomus* et *Gigaspora* en termes d'abondance et de diversité dans les 23 sols étudiés. La prédominance de *Glomus* pourrait être attribuée à sa capacité à tolérer l'acidité des sols des zones tropicales humides (Tadesse et Tuju, 2013, Mbohou, 2016) et aussi à la très petite taille de ses spores qui se distribuent facilement et sporulent en peu de temps dans le sol (Chandrasekeran et al., 2014). Ce résultat n'est pas surprenant puisqu'il a déjà été démontré que le genre *Glomus* est le plus dominant des Glomeromycètes dans les régions tropicales (Ngonkeu, 2003; Snoeck et al., 2010; Tadesse et Tuju, 2013; Mbohou, 2016). Pour ce qui est des spores du genre *Gigaspora*, ils sont présents dans tous les sols échantillonnés. Ces résultats confirment la large distribution de ces organismes dans les écosystèmes naturels (Harley et Smith, 1983 ; Ngonkeu, 2009).

La biodiversité des CMA des 2 zones agroécologiques d'étude présentent des variabilités de genres et d'espèces. Dans la zone agroécologique III nous avons recensé 18 morphotypes différents contrairement à la zone agroécologique I où nous avons recensé 17 morphotypes différents cela peut s'expliquer par la différence d'altitude (en moyenne 1900m dans la zone III et 900m dans la zone I) et même des conditions écologiques qui caractérisent les différentes zones. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Gloria, et al., (2013) qui a démontré que l'altitude a un effet sur la diversité des CMA recensés dans la rhizosphère de la pomme de terre. La biodiversité des CMA dans les échantillons infectés et non infectés présentent également des variabilités de genres et d'espèces. Nous avons constaté que, dans certains sols de la rhizosphère infectée le nombre de genres de CMA ne dépassaient pas 03, contrairement à son homologue non infectée donc le nombre de genres pouvaient atteindre 5. Ce type de travaux est l'un des premiers en son genre à être mené au Cameroun. Néanmoins cela est en accord avec les travaux du projet pomme de terre au Kenya mais portant sur les bactéries (PGPR).

Au niveau spécifique, les caractères morphologiques observés n'ont pas permis l'identification précise des différentes espèces et dont, une caractérisation moléculaire est nécessaire pour rendre notre caractérisation complète et bien affinée et même pour la découverte de nouvelles espèces non révélées par notre méthode.

III.2.4. Variation de l'incidence de la maladie en fonction de l'abondance relative des spores de CMA et leur richesse spécifique

La régression est un test statistique qui permet de prédire la variation entre différents paramètres. Les analyses de régressions effectuées sur l'abondance relative, la richesse spécifique des spores et l'incidence de la maladie, révèlent que le nombre de spores n'influence point la mise en place de la relation symbiotique et par conséquent l'induction de la SDN (Systèmes de Défense Naturelle de la plante) chez la plante dans le cas présent, n'explique pas la variabilité de l'incidence de la maladie en champs. Cela confirme les travaux de Combarry, (2016) qui a démontré que le contrôle de *F. oxysporum* et *R. solanacearum* ne dépendait pas du nombre de spores (abondance relative) en symbiose avec la tomate mais d'un genre précis. De plus les travaux de Mam, (2017) montrent une corrélation positive entre l'abondance des spores et l'augmentation des rendements de blé en champs. Nos résultats montrent également que le genre et ou l'espèce intervenant dans la symbiose est capital dans l'induction de la SDN. Ces résultats montrent que la richesse spécifique peut prédire et expliquer la variabilité de l'incidence de la maladie en champs. Ces travaux sont en accords avec ceux d'Adrien, et al., (2011) qui ont travaillé sur le control du mildiou par les CMA (*Glomus aggregatum*) et à démontrer que le control de cette maladie était plus efficace avec un consortium d'isolats qu'avec un seul isolat (*Glomus aggregatum*).

III.2.5. Préférence mycorhizienne de *S. tuberosum*

Dans la rhizosphère de *S. tuberosum*, plus de 18 espèces ont été identifiées aussi bien dans les rhizosphères des plantes malades que ceux des plantes non malades. Des spores du genre *Rhizophogus*, *Clarodeoglomus*, *Acaulospora*, *Glomus*, *Entrophospora* se sont révélés associées à la rhizosphère de la pomme terre puisqu'ils étaient absent dans les sols témoins. Cela pourrait signifier que, la pomme de terre a déjà effectué une sélection naturelle de ses symbiotes fongiques. Cela signifie également que, les spores de ces espèces peuvent être produits et utilisés comme inoculum préférentiel de la pomme de terre. Carolina et al., (2015) ont repertorié ces genres à l'exception du genre *Glomus sp.* Qu'ils n'ont pas observé dans leurs travaux. De même cette préférence est encore plus pertinente car elle a été observée en grande majorité dans les sols avec la pomme de terre non malades.

III.2.6. Prégermination et détermination de l'effet symbiotique des CMA

La biodiversité fonctionnelle peut être déterminée à travers une évaluation de la variabilité dans la réponse des plantes à l'inoculation mycorhizienne. Une variabilité importante

a été enregistrée après inoculation de 8 isolats retenue dans de la rhizosphère de la plante non malade, sur des plants de sorgho. Les morphotypes T7 et T9 ont présenté les meilleures performances pour presque tous les critères testés (longueur des tiges, nombre de feuilles ; surface foliaire ; diamètre au collet) tant dans l'évaluation à une spore que dans l'évaluation à 10 spores. L'analyse des données a montré qu'il n'existe pas une différence significative entre l'inoculation des plants de sorgho par une seule spore et par 10 spores, conformément aux travaux de Jan, (2007) et Olfat et Jalil, (2012) sur la colonisation racinaire et la multiplication des spores de CMA.

CHAPITRE IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

IV.1. Conclusion

Parvenu au terme de ce travail dont l'objectif général était d'étudier la biodiversité mycorhizienne de la pomme de terre infectée et non infectée par *P. infestans* dans deux zones agro-écologique du Cameroun, nous pouvons dire que :

- La pomme de terre est mycotrophe. 18 morphotypes ont été identifiés dans sa rhizosphère et dans ses racines. De manière générale, dans la Zone III nous avons identifié 18 morphotypes et dans la zone I, nous avons identifié 17. Aussi, 10 morphotypes appartenant à cinq genres constituent la biodiversité mycorhizienne préférentielle à la rhizosphère de la pomme de terre au Cameroun : *Glomus sp* (T3, T7, T16, T17), *Rhizophagus sp* (T6) et *Acauloapora* (T9) *Entrophospora sp* (T8) *Clarodeoglomus sp* (T18). Des 10, 8 morphotypes apparaissent uniquement dans la rhizosphère de pomme de terre non infectée par *P. infestans*.
- De même, le nombre de genres de CMA présent dans les différentes rhizosphères ne dépassent pas 4 dans les sols infectés et pouvaient dépasser 6 dans les sols non infectées. La richesse spécifique, l'abondance relative, et la diversité des champignons mycorhiziens à arbuscules de la rhizosphère de la pomme de terre peut varier en fonction de l'altitude, des sites, des variétés de plantes et de l'aspect sanitaire de la plante. L'intensité de colonisation pourrait influencer positivement l'incidence du mildiou.
- Le criblage et la sélection des isolats présentent, les morphotypes T7 ; T9 et T18 comme ayant les meilleures performances sur la croissance des plants.

IV.2. Perspectives

Afin d'approfondir cette étude, trois points essentiels doivent être étudiés. Il s'agit de :

- ❖ Une caractérisation moléculaire des morphotypes décrits
- ❖ Tester le potentiel bioprotecteur des isolats sur l'incidence et la sévérité du mildiou en serre et en champs
- ❖ Tester le potentiel des isolats sur les paramètres agronomiques de la pomme de terre en serre et en champs
- ❖ Produire un bio-fertilisant à partir de la souche la plus efficiente.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adrien G., Hernán P., Lucero M., Sylvie Cr. Juan, S. D., 2011. Mycorrhiza induced resistance in potato plantlets challenged by *Phytophthora infestans*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 76: 20-26
- Andrison, D. 1995. Biology, ecology and epidemiology of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* in soil. *Phytopathology* 85 : 1053-1056.
- Anonyme 1, 2008. La pomme de terre. L'année internationale de la pomme de terre. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Paris, France. 46p.
- Anonyme 2, 2012. Contribution à l'augmentation de la productivité et de la production de la pomme de terre par la création et la diffusion de matériel végétal performant C2D/Programme d'appui à la recherche agronomique projet 3 : pomme de terre. IRAD, Yaoundé, 25 p.
- Anonyme 3, 2014. Etude diagnostique de la réduction des pertes après récolte de trois cultures (manioc, pomme de terre et tomate au Cameroun) : cas de la pomme de terre. MINADER/IRAD, Yaoundé, 57p.
- Anonyme 4. 2018. Potatoes production in Cameroon 2007-2017. FAOSTAT.
- Anonyme 5, 1999. Techniques de production de la pomme de terre au Maroc. Bulletin de liaison et d'information du PNTTA. Transfert de technologie en agriculture n°52. 4p.
- Anonyme 6, 2010. Fiche technique valorisée des cultures maraichères et industriels. La culture de la pomme de terre. Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles. Kenya. 10p.
- Anonyme 7, 2008a. Maladies et ravageurs de la pomme de terre : pourriture brune *Phytophthora infestans*. INRA, Rennes- Service communication, Juin 2008. 2p.
- Anonyme 8, 2008b. Maladies, ravageurs et désordres de la pomme de terre : Guide pratique. FNPPPT, GNIS, Awalis, France, 192p.
- Aouissi N., Amel H. M. & Djemai R., 2018. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi and fertilization levels on biochemical changes in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Biodiversity Journal*, 8 (2): 689–696
- Bago B., Pfeffer P. E., Shachar-Hill Y., 2000. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiology*, 124: 949-958.
- Bagyaraj D. J., Thilagar G., Ravisha C., Kushalappa C .G., Krishnamurthy K. N., Vaast P., 2015. Below ground microbial diversity as influenced by coffee agroforestry systems in the Western Ghats, India. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 33:198-202.
- Biais, H.P., Weir T. L., Perry L.G., Gilroy S., et Vivanco J.M., 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57: 233-66.
- Birhane E., Kuyper T. W., Stercka F., Bongers F., 2010. Arbuscular mycorrhizal associations in *Boswellia papyrifera* dominated dry deciduous woodlands of Northern Ethiopia. *Forest Ecology and Management*, 260 : 2160–2169.
- Brundrett M. C., Bougher N., Dell B., Grove T., et Malajczuk N., 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. *ACIAR Monograph*, 32: 374 p.

- Carlisle, D.J., Cooke L.R., Watson, S. & Brown, A.E. 2002. Foliar aggressiveness of Northern Ireland isolates of *Phytophthora infestans* on detached leaflets of three potato cultivars. *Plant Pathology* 51: 424-434.
- Carolina S. et Arthur S., 2015 A conserved arbuscular mycorrhizal fungal core-species community colonizes potato roots in the Andes. *Fungal Diversity*, 77: 317–333.
- Cellier G. & Prior P., 2010. Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato. *Phytopathology* 100:1250–1261.
- Chandrasekaran A. and Mahalingam P. U, J., 2014. Diversity of arbuscular mycorrhizae fungi from Orchard Ecosystem. *Plant Pathology & Microbiology*, 5: 4.
- Charvat I., 2008. Methods to process and identify symbiotic fungi in the roots of vascular plants Chapter, 7: 131-137.
- Chiffot, 2008. Etude moléculaire des champignons mycorrhiziens arbusculaires dans un système agrisylvicole CTA. Paris France. 259 p.
- Chin, A;Woeng, T.F.C., W. Depriester, A, J. Ronder Bij et lutenberg. 1997. Description of colonisation of gro. W.C.S.365, using scanning electron microscopy. *Mal Plant, Microbe Interaction*, 10: 79-86.
- Combar, S., 2016. Utilisation des souches de champignons mycorrhiziens arbusculaires (CMA) et de *Trichoderma sp.* comme moyen de contrôle de *Fusarium oxysporum* (Jarvis et Shoemaker) et *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al., sur la tomate. Mémoire de fin de cycle d'ingénierie, Université Polytechnique de Bobo Dioulasso (U.P.B), Burkina Faso.
- Cramer H. H., 1997. Plant protection and world crop production. Bayer Pflanzenschutz-Nachr, pp. Allemagne, 524.
- Cronquist A., 1981. In integrated system of classification of flowering plants. New York Colombia Univer Press. USA, 1262p.
- Dagdas Y. F., Belhaj K., Maqbool A., Chaparro-Garcia A., Pandey P., Petre B., Tabassum N., Cruz-Mireles N., Hughes R. K., Sklenar J., Win J., Menke F., Findlay K., Banfield M. J., Kamoun S., Bozkurt T. O.. 2016. An effector of the irish potato famine pathogen antagonizes a host autophagy cargo receptor. 10: 8-56.
- Das P., Kayang H., 2010. Association of dark septate endophytes and arbuscular mycorrhizal fungi in potato under field conditions in the northeast region of India. *Mycology* 1: 171-178.
- Davet, P., 1996: vie microbienne du sol et production végétale I.N.R.A. ed, Paris. P 344. de Bary, H.A. 1876. Researches into the nature of the potato-fungus- *Phytophthora infestans*. *Royal Agricultural Society of England*. J, 12: 239-269.
- De Bary, 1876. *Phytophthora infestans* : mildiou de la pomme de terre (Français) Potato blight, Late blight, Flase-mildew Anglais *Oomycota Peronosporae, Peronosporales Phytophthora cinnamomi* Rands.
- Duponnois R., Mohamed H., ndoye I., ramanankierana H., Bâ A. M., 2013. Des champignons symbiotiques contre la désertification. IRD Editions, Marseille, 511p
- Fortin J. A., Plenchette C., Piché Y., 2008. Les mycorhizes: la nouvelle révolution verte. Edition Multi mondes. Québec Canada, 148 p.
- Gary, E., 1998. *Trichoderma sp* et *Gliocladium*. Edited by Gary E, Harman and Christian P. Kubicek, P. 2: 3-67.

- Gavériaux, 2012. Les glomeromycota - Mycorrhizes VAM et *Geosiphon pyriformis*. *Bull. Soc. Mycol. Nord Fr.*, 92 : 01-17.
- Gerdemann, J.W., and Nicolson, T.H., 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet-sieving and decanting. *Mycol. Soc.* 46: 235-244.
- Gloria T., Stefan P., Carolina S., Mercy R., Arthur S., 2013. Potato-associated arbuscular mycorrhizal fungal communities in the Peruvian Andes. *PubMed Mycorrhiza* 24: 6.
- Goodwin, S.B. and Drenth A. 1997. Origin of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* outside Mexico. *Phytopathology*, 87: 992-999.
- Gosling P., Hodge A., Goodlass G. D, 2006. Bending Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113: 17–35.
- Guerbault S., 2009. Les mycorrhizes outils d'une horticulture et d'une agriculture durables. *Jardins de France*. 497: 19-25.
- Grünwald, N.J., Flier, W.G., Sturbaum, A.K., Garay-Serrano, E., van der Bosch, T.B.N., Smart, C.D., Matuzak, J.M., Lozoya-Saldaña, H., Turkensteen, L.J. & Fry, W.E. 2001. Population structure of *Phytophthora infestans* in the Toluca valley region of central Mexico. *Phytopathology* 91: 882-890.
- Harley JL, and Harley EL., 1987. A checklist of mycorrhiza in the British flora - Addenda, Errata and Index. *New Phytologist* 107: 741-749.
- Harrison, J. G. 1992. Effects of the aerial environment on late blight of potato - a review. *Plant Pathology* 41: 384-416.
- Haverkort A. J., Boonekamp P. M., Hutten R., Jacobsen E., Lotz L. A. P., Kessel G. J. T., 2008. Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification. *Potato Research*, 51: 47-57.
- Helgason T. et Fitter A., 2005. The ecology and evolution of the arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologist* 19: 96-101.
- Herre E. A, Mej L. C, Kyllö D. A, Rojas E, Maynard Z, Butler A, van Bael S. A., 2007. Ecological implications of anti-pathogen effects of tropical fungal endophytes and mycorrhizae. *Ecology*, 88: 550–558.
- Ismail, Y., Mc Cormick, S. and Hijri, M., 2013. The arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus irregulare*, controls the mycotoxin production of *Fusarium sambucinum* in pathogenesis of potato. Yaacov Okon edition, *Federation of European Microbiological Societies*, 6: 348. (Collection FEMS Microbiology letters).
- James W.C., Shih C.S., Hodson W.N., Callbeck C.L., 1972- The quantitative relationship between late blight of potato and loss in tuber yield. *Phytopathology*, 62: 92-96.
- Jan M., 2007. Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi? 31: 17– 45.
- Jasmin M., Götzenberger et Natalia R.. 2016. Arbuscular mycorrhiza symbiosis induces a major transcriptional reprogramming of the potato SWEET sugar transporter family. *Journal List NCBI Front Plant* v.7; PMC 483: 08-31.
- Johansson J. F., Paul L. R., Finlay R. D., 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiol Ecol.* 48:1-13.
- Joyce A. A., 2013. Evaluate the effect of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobacteria inoculation on performance of potato (*Solanum tuberosum*). Thesis in Agricultural Technology, University of Nairobi Kenya. p105.

- Judelson, H.S. & Blanco A.B. 2005. The spores of *Phytophthora*: weapons of the plant destroyer. *Microbiology*, 42: 47-58
- Kamko J. Doriane, 2018. Amélioration de la régénération de *Prunus africana* (Hook. F.) Kalkman par l'emploi des champignons mycorhiziens à arbuscules. Mémoire de Master en biologie des organismes végétaux, Université de Yaoundé I p 82
- Lacey, J. 1965. The infectivity of soils containing *Phytophthora infestans*. *Annals of Applied Biology* 56 : 363-380.
- Lamara M. R., 2015. Bioécologie de la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera : Gelechiidae) sur trois variétés de pomme de terre (la Spunta, la Désirée et la Burren) dans les régions des Issers et Draa ben khedda et inventaire de l'entomofaune au niveau des parcelles des Issers. Master en Sciences Biologiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 133p.
- Lambert C. D., 2002. Agricultural bioterrorism protection act of 2002: possession, use, and transfer of biological; agents and toxins; interim and final rule. *Federal Register* 67:76908-76938.
- Le Tacon, F., G. Jung, Mugnier J, Michelot P and Mauperin C., 1985. Efficiency in a forest nursery of an ectomycorrhizal fungus inoculum produced in fermentor and entrapped in polymeric gels. *Canadian Journal of Botany*, 63: 1664-1668.
- Leong J., 1986. Siderophores : their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens . *Annu. Rev. Phytopathology*. 24, 187-209.
- Li F, Vierstra R. D., 2012. Autophagy: a multifaceted intracellular system for bulk and selective recycling. *Trends in Plant Science* 17:526–537.
- Lone R., Shuab R., Sharma V., Kumar V., Mir R., Koul KK., 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and development of potato (*Solanum tuberosum*). *Plant Asian Journal of Crop Science* 7 (3): 233-243.
- Lopes L. P.; Stürmer S. L., Siqueira J. O., 2009. Occurrence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trap cultures from soils under different land use systems in the Amazon, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40: 111-121.
- Ludwig-Müller J. et Güther M., 2007. Auxins as Signals in arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Signaling & Behavior* 2 (3): 194-196.
- Mam C. E., 2017. Comparative study of arbuscular mycorrhizal fungi in adaptation of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties in low and high altitude conditions of the forest zone of Cameroon. Master degree in Plant Biology University of Yaounde I p82.
- Marcon, E., 2015. Mesures de la Biodiversité. Master. Kourou, France.
- Marie P. A. et Gallouin F., 2007. Légumes d'hier et d'aujourd'hui. Paris, 2007, p403-418
- Mbohoun N. O., 2016. Etude de la diversité des champignons mycorhiziens à arbuscules et à vésicules dans les systèmes agroforestiers à base de cacaoyers à Bokito. Mémoire Master II en biologie des organismes végétaux, Université de Yaoundé I p83
- Morton J. B. and 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.
- Morton J. B., 1988. Taxonomy of VA mycorrhizal fungi - Classification, nomenclature, and identification. *Mycotaxon*, 32: 267-324.

- Murat H., Sipahioglu, Semra D., Mustafa U., Ahmet A.. 2009. Biological relationship of potato virus Y and arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in potato. pest *technologie and global science books*.
- Nabila A., 2014. Application des mycorhizes arbusculaires en culture maraîchère cas de la pastèque (*Citrullus lanatus*). Mémoire de Master, Université Ferhat Abbas Sétif, 1: 83p.
- Nasim G., 2010. The role of arbuscular mycorrhizae in inducing resistance to drought and salinity stress in crops. In: Ashraf, M., M. Ozturk, and M.S.A. Ahmad (Eds.). Plant Adaptation and Phytoremediation. *SpringerVerlag*, Berlin Heidelberg, 119-141.
- Ngonkeu M. E. L., 2003. Biodiversité et potentiel des mycorhizes à arbuscules de certaines zones agro écologiques du Cameroun. Thèse de Doctorat 3ème Cycle, Université de Yaoundé I. 259 p.
- Ngonkeu M. E. L., 2009. Tolérance de certaines variétés de maïs aux sols à toxicité aluminique et manganique du Cameroun et diversités moléculaire et fonctionnelle des mycorhizes à arbuscules. Thèse de Doctorat Ph/ D, Université de Yaoundé I. 255 p.
- Ngonkeu, M. E. L. et Nwaga, D. 1998. Diversité et potentiel infectieux des mycorhizes à arbuscules de quelques sols du Cameroun et réponse du niébé (*Vigna unguiculata*) à l'inoculation. *Cameroon Journal of Biological and Biochemical Sciences*, 8 : 56-67
- Niederhauser, J. S. 1991. *Phytophthora infestans*: The Mexican connection. In: *Phytophthora*. Symptoms of the British Mycological Society for Plant Pathology and the society of Irish Plant Pathologists held at Trinity College.
- Nwaga, D., 1988. Intérêt du polymorphisme protéique et enzymatique pour la caractérisation des Pyphacées (*Phytophthora* et *Pythium*) et de leur interaction avec le tabac et le haricot. Université de Rennes I et ENSAR, France.
- Nwaga et al., 2013. Diversité des champignons mycorrhiziens arbusculaires au Cameroun. IRD chapitre CMA multifonctionnels. P 141-154.
- Nyabyenda P., 2005. Les plantes cultivées en région tropicales d'altitude d'Afrique .223p.
- Oehl F, Sieverdig E, Palenzuela J, Ineichen K, Alves da Silva G, 2011. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA Fungus*, 2: 191-199.
- Oerke E. C. & Dehne H. W., 2004. Safe guarding protection-losses in major crops and the role of crop protection. *Cropo* .23: 275-285.
- Olfat et Jalil., 2012 Spore density and root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in some species in the north west of Iran. 18: 29– 50.
- Onguene, A. N., 1997. Diversity and redundancy of mycorrhizal associations in tropical rain forest with different disturbance regimens. In: Research Proposal. Tropendos Cameroun Programmes, Kribi. Panafrican Symposium on the Sustainable use of Natural Resources in Africa. Ouagadougou, Burkina Faso, pp. 1-12
- Oswaldo T., 2010. Hommage à la pomme de terre (*Solanum tuberosum*). Haute école de santé Genève. Filière nutrition et diététique. Sisse. 11p.
- Paul L., Carolina S. G., J. P. S., Peter K., Arthur S., Declerck. S., 2017. Inoculation de champs de pomme de terre en Equateur avec *Rhizophagus irregularis*: aucun impact sur les performances de croissance et les communautés fongiques mycorrhiziennes arbusculaires associées. *Mycorrhizal*, Volume 73, numéro 1, pp 45–56

- Pozo, M. J., Jung, S. C., Martínez-Medina, A., López-Ráez, J. A., Azcón-Aguilar, C., and Barea, J. M., 2013. Root Allies: arbuscular mycorrhizal fungi help plants to cope with biotic stresses. *Soil Biology*, 37: 289-307.
- Puri A., Adholeya A., 2012. A new system using *Solanum tuberosum* for the cocultivation of *Glomus intraradices* and its potential for mass producing spores of arbuscular mycorrhizal fungi. *Symbiosis* 59 (2): 87-97.
- Rolot J. L. & Vanderhofstadt B., 2014. Guide technique de la culture de la pomme de terre en République Démocratique du Congo. 8: 90–92.
- Rousselle P., Robert Y., Grossuer J. C., ed., 1996. La pomme de terre production, amélioration, ennemis et maladies. Utilisation édi r Doun. P 278.
- Sandesh D., 2016. Interaction of potato tubers with *Phytophthora infestans* and management options for seed-borne late blight. Thesis PhD Michigan State University, p 258
- Sannazzaro A. I., Echeverría M., Albertó E. O., Ruiz O.A. et Menéndez A. B., 2007. Modulation of polyamine balance in lotus glaber by salinity and arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiol.* 45: 39–46.
- Sauyer R., 1972. La pomme de terre, bulletins d'information technique de 1 à 19. Centre Internationale de la Pomme de terre (CIP). Kenya, 136p.
- Schüssler A., Schwarzott D., Walker C., 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413-1421.
- Sébastien P., 2012. Evaluation in-vitro du potentiel bioprotecteur des champignons mycorrhiziens à arbuscules contre le flétrissement bactérien de la tomate, Mémoire d'Ingénierie biologique, agronomique et environnementale. Université de Louvain, France, 69 p.
- Shtienberg D., Bergeron S. N., Fry W. E., 1983. Development of a general model for yield loss assessment in potatoes. *Phytopathology*, 80: 466-472.
- Sieverding E., 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza Management. In *Tropical Agrosystems*. GTZ n° 224 Grenoble-France. 281p.
- Smith S. E., Jakobsen I., Gronlund M. and Smith A. F., 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*, 156: 1050–1057.
- Smith S. L. and Read D. J., 2008. Mycorrhizal symbiosis, 3rd ed. New York: Elsevier, Academic Press New- York, Etats-Unis, 787p.
- Smith S. L. and Read D., 1997. Mycorrhizal symbiosis, 2ème édition. Capítulo Academic Press, San Diego, CA : 1-21.
- Snoeck D., Abolo D. and Jagoret P., 2010. Temporal changes in VAM fungi in the cocoa agroforestry systems of central Cameroon. *Agroforest Syst.*, 78 : 323–328.
- Sonna M. E. I., 2017. Influence des champignons mycorrhiziens à arbuscules et du compost sur le contrôle du flétrissement bactérien de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) Mémoire de Master en Biologie des Organismes Végétaux Université de Yaoundé I.
- Spielman L. J., Drenth A., Davidse, Fry W. E., 1991. A second worldwide migration and population displacement of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology*. 40: 422-430.
- St-Arnaud M., Vujanovic V., 2007. Effect of the arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant diseases and pests. *Mycorrhizae in crop production*. 4: 01-24

- Rekad Fatma Zohra, 2018. Caractérisation phénotypique et génotypique d'isolats de *Phytophthora infestans*, agent causal du mildiou de la pomme de terre et la tomate dans la région Nord-ouest de l'Algérie. Université Abdelhamid-Algérie, these de Doctorat PhD en sciences agronomique P 12.
- Tadesse C. S. and Tuju F.A., 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with shade trees and *Coffea arabica* L. in a coffee-based agroforestry system in Bonga, Southwestern Ethiopia. *Afrika focus*, 26 (2) : 111-131.
- Tchameni S. N., Ngonkeu M. E. L., Begoude B. A. D., Wakam N. L., Fokom R., Owona A. D., Mbarga J. B., Tchana T., Tondje P. R., Etoa F. X. and Kuate J., 2011. Effect of *Trichoderma asperellum* and arbuscular mycorrhizal fungi on cocoa growth and resistance against black pod disease. *Crop protection*, 30: 1321- 1327.
- Tchameni N. S., 2014. Stimulation de la croissance et la tolerance du cacaoyer à *Phytophthora megakarya*: intérêt des champignons mycorrhiziens et d'un agent de lute. Thèse de Doctorat Ph/D, Université de Yaoundé I. 231 p.
- Thorunn H., and Fitter A. H., 2009. Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (Phylum Glomeromycota), *Journal of Botany*, 60 (9): 2465–2480.
- Trouvelot A., Kough J. L., Gianinazzi-Pearson V., 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In : Gianinazzi-Pearson V. and Gianinazzi S. (Eds). *Physiology and genetics aspects of mycorrhizae*. INRA Press, Paris: 217-221.
- Veresoglou S. D., Chen B. and Rillig M. C., 2012. Arbuscular mycorrhiza and soil nitrogen cycling. *Soil Biology & Biochemistry* 46: 53-62.
- Walker C., 1992. Systematic and taxonomy of the arbuscular endomycorrhizal fungi (Glomales) a possible way forward. *Agronomie*, 12: 887-897.
- Wastie R. L., 1991. Breeding for resistance. In Ingram Williams Eds, 1991: 193-224.
- Zeramdini N., 2009. Étude du polymorphisme intra- et inter-spécifique du gène β -tubuline chez des espèces de champignons mycorrhiziens à arbuscules en vue de développer des marqueurs moléculaires. Mémoire de Master, Université de Montréal, Faculté des Etudes Supérieures. Canada, 101 p.
- Zeze A., Ouattara B., Brou C. Y, Van tuinen D., H. Diallo-A. et Sangare A., 2007. Distribution et abondance de spores de champignons endomycorhizogènes à arbuscules dans différents types de forêts de la Tene en Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine* 19 (2): 103 – 111.

Webographie

- Le Tacon F (1985), principaux types mycorrhiziens actuels représentés sur une coupe transversale de racine : svt.ac-dijon.fr/schemassvt/IMG/mycorrhizes.doc consulté le : 15/11/2018.
- INVAM sur le site : <http://invam.wvu.edu/the-fungi/classification/glomaceae>. Consulter le: 28/11/201.

ANNEXES

Annexe 1. Aspect des champs de pomme de terre dans les zones agro-écologiques. **A.** zone I; **B.** zone III.



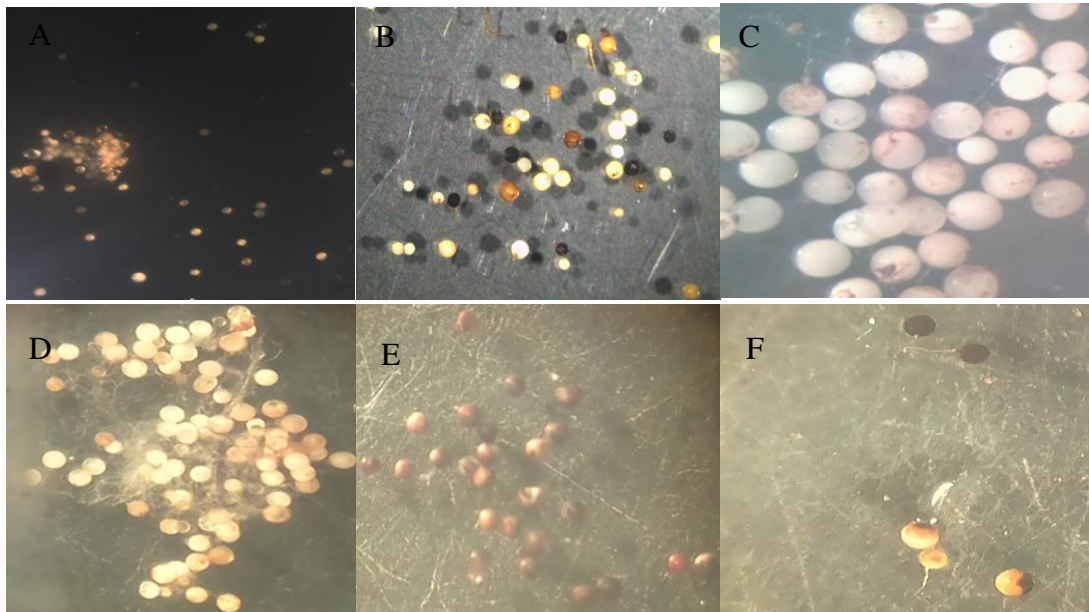
Annexe 2. Observation et identification des micro-organismes (champignons mycorhiziznes).



Annexe 3. Culture de *Phytophthora infestans* sur milieu PDA après 7 jours.



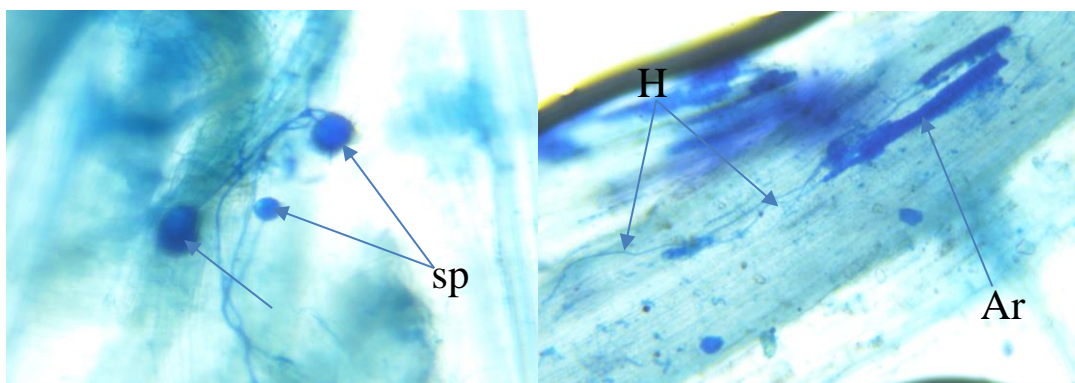
Annexe 4. Quelques morphotypes de CMA isolés : A. *Glomus sp* ; *Rhizophagus sp*; B. *Accaulospora sp*, *Scutelospora sp* ; C. *Gigaspora sp* ; D. *Accaulospora sp* ; E. *Accaulospora sp* ; F spores non identifiées.



Annexe 5. Volumes racinaire des plantes pièges (sorgho et niébé).



Annexe 6. Structures mycorhizienne dans les racines de sorgho ; Sp. spores ; V. vésicule H. hyphes ; Ar. arbuscules.



Annexe 7. Composition de la solution nutritive de Rorison (Siverding, 1991).

Solution stock pour 1000 ml : (g/l)

Solution A- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -----120,02
 Solution B- $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ -----238,04
 Solution C- $KH_2PO_4 \cdot 3H_2O$ -----115,38

Solution D- Micro-éléments : (g/l)

Fe EDTA-----12,500
 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ -----1,121
 H_3BO_3 -----1,421
 $(NH_4)_6MoO_{24} \cdot 4H_2O$ -----0,093
 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ -----0,220
 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ -----0,198

Annexe 8. Principaux réactifs utilisés pour la caractérisation des spores (Siverding, 1991)

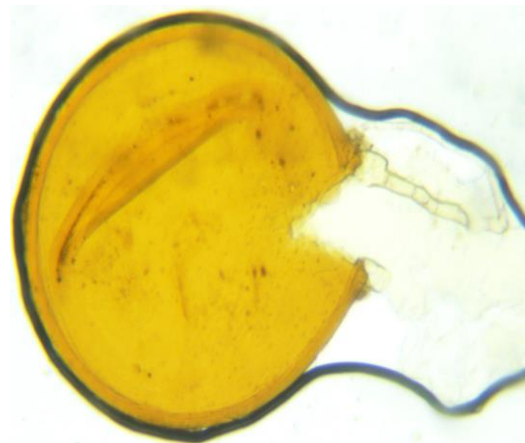
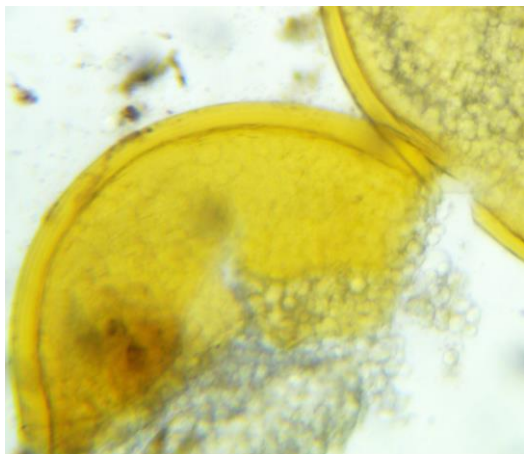
Le solvant PVLG (Alcool polyvinylique, acide lactique, glycérol) :

Alcool polyvinylique 1,66 g
 Eau distillée 10 ml
 Acide lactique 10 ml
 Glycérine 1 ml

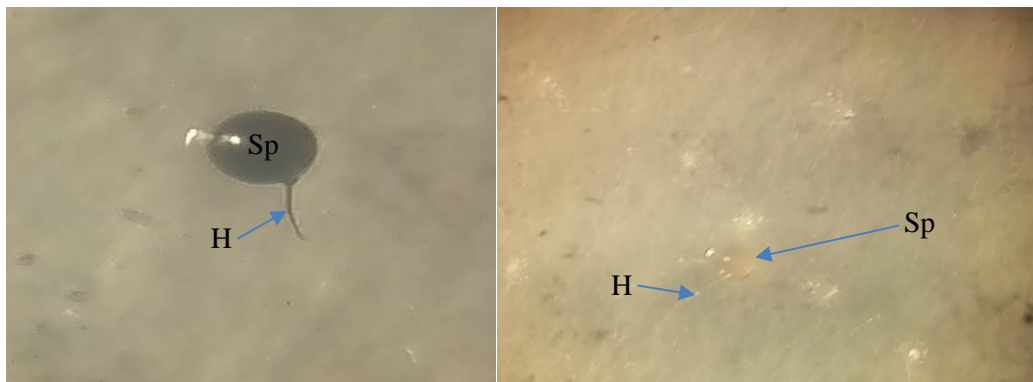
Réactif de Melzer

Hydrate chloral 100 g
 Iodine 1,5 g
 Iodide de potassium 5 g
 Eau distillée 100

Annexe 9. Couches membranaires des spores isolées.



Annexe 10. Spores de CMA pré-germées : Sp spores ; H. hyphes.



Annexe 11 Récapitulatif des différentes variétés de pomme de terre recensées sur le terrain.

Variété	Zone agroécologique I	Zone agroécologique III
Cpira	+	+
Jacob	-	+
Mondial	+	+
Dosa	+	-
Tibati	-	+
Panamira	+	+
Africa	+	-
Inconnu	-	+
Haouzan	-	+
Super rabbi	-	+
Manate	-	+
Kawahe	+	-
Robinta	+	-
Kwagueme	+	-

Annexe 12. Dispositif de piégeage de spores de CMA. Un total de 115 pots de 5L chacun.

