



**UNIVERSITÉ D'ÉTAT D'HAÏTI**

**(UEH)**

**FACULTE D'AGRONOMIE ET DE MÉDECINE VÉTÉRINAIRE**

**(FAMV)**

**Département Phytotechnie**

**(DPHY)**

**Guide d'utilisation des inoculants mycorhiziens en Haïti:**

*Contribution au recensement des connaissances scientifiques et des compétences méthodologiques utiles à l'exploitation du potentiel des champignons mycorhiziens arbusculaires en Haïti.*

**Mémoire de fin d'études**

**Présenté par : Jourdany César**

**Pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur-Agronome**

**Option Phytotechnie**

**Promotion : 2008-2013**

**Avril 2014**

## **Dédicace**

Ce travail de recherche est dédié à:

- Ma mère et mon père qui m'ont toujours supporté,
- Ma grande sœur, Nadeige César, qui m'a toujours encouragé,
- Mes collègues et collaborateurs, Chedzer-Clarc CLEMENT, Wandly PREDVIL, Jacques Phendy et Claude-Alla JOSEPH,
- Tous mes camarades de la promotion «**Jean Arsène Constant (JAC)**» et particulièrement ceux et celles du département de Phytotechnie ainsi que Francin PASTELY et Jean Philippe CINEAS respectivement du département de l'Économie et Développement Rural (EDR) et Ressources Naturelles et Environnement (RNE),
- Tout ceux et toutes celles qui se sentent concernés par la faible couverture forestière d'Haïti

## Remerciements

Ce présent travail n'aurait pu être réalisé sans l'aide de plusieurs institutions et certaines personnes. Ainsi, nous tenons à remercier:

- Le Maître de l'univers qui a donné tous les moyens nécessaires pour pouvoir poursuivre nos études,
- Les dirigeants de la Faculté d'Agronomie et de Médecine Vétérinaire ( FAMV), spécialement le Doyen, M. Jocelyn Louissaint pour leur démarche et support,
- spécialement, Mon conseiller, M. Patrice Dion, pour son aide, ses conseils et sa disponibilité pendant toute la période du stage.
- Mon responsable de formation technique, M. Laurent Fontaine pour son aide et son dévouement à ma cause,
- Aux responsables de la Faculté des Sciences de l'Agriculture et Alimentaire de l'Université Laval et spécialement le Vice-Doyen aux Études, M. Pierre Mathieu CHAREST pour sa Coordination, son soutien et accompagnement avant et tout au long du stage
- Marie-Ève BEAULIEU pour son accueil et accompagnement durant mon stage
- Les responsables du Programme des bourses des Futurs Leaders dans les Amériques(PBLFA) qui ont fait d'Haïti un pays éligible dans le programme.
- Dr Jean Fenel Félix pour son support,
- L'État haïtien qui a payé tout notre cycle d'étude universitaire.
- Tous les professeurs de la FAMV qui ont contribué à notre formation ainsi que tous ceux et toutes celles qui, d'une manière ou d'une autre avaient contribué à la réussite de ce travail

## **Résumé**

L'utilisation des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) dans l'agriculture représente l'une des meilleures manières d'améliorer durablement le rendement des cultures. En effet, ces champignons procurent plusieurs avantages aux plantes qui y sont associées, notamment: i) une meilleure alimentation minérale, en particulier en ce qui concerne le phosphore qui, essentiel pour la croissance et le développement des plantes, est souvent disponible en très faible quantité dans le sol, ii) une résistance accrue à la sécheresse due à une meilleure alimentation hydrique, et iii) une amplification de la résistance des plantes à certains agents pathogènes. Ces effets bénéfiques ont pu être observés aussi bien sous conditions tempérées que sous les tropiques. Si le potentiel des inoculants mycorhiziens en agriculture est connu depuis longtemps, beaucoup reste à faire pour qu'il soit pleinement exploité en vue d'obtenir une réduction appréciable de l'utilisation d'engrais minéraux. En Haïti, les bienfaits des CMA demeurent méconnus et non exploités, cependant que la couverture forestière est inférieure à 5% et le rendement des cultures très faible. L'objectif principal de ce travail est de réaliser un relevé des connaissances scientifiques et des compétences méthodologiques nécessaires à l'exploitation du potentiel des CMA.

Afin de promouvoir l'utilisation des CMA en Haïti, il convient d'abord de se familiariser avec les techniques utiles à leur isolement, à leur multiplication et à leur application sur les plantes agricoles ou forestières. Le présent travail nous amène à croire au potentiel des CMA et à les considérer comme un atout qui pourra contribuer au redressement des situations agricole et environnementale en Haïti comme au niveau mondial.

Mots clés: Mycorhizes, rendement, environnement, pathogènes, phosphore

## Table des matières

Dédicace .....	ii
Remerciements .....	iii
Résumé .....	iv
Liste des figures .....	3
Liste des annexes.....	3
I- Introduction .....	4
1.1- Problématique.....	4
1.1- Objectifs .....	5
1.1.1- Objectif général.....	5
1.1.2- Objectifs spécifiques .....	6
1.2- Hypothèse.....	6
1.3- Intérêts du travail.....	7
1.4- Limitations du travail.....	7
II- Revue de littérature .....	8
2.1- Les champignons mycorhiziens.....	8
2.1.1- Les mycorhizes .....	8
2.3.1- Nutrition Minérale .....	13
2.3.2- Rôle des champignons mycorhiziens dans l'alimentation hydrique des plantes.....	15
2.4- Rôle des mycorhizes arbusculaires dans la lutte contre les agents pathogènes et certains ravageurs .....	15
2.4.1- Modification du comportement physiologique et de la mycorhizosphère .....	16
2.5- Les champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'agriculture.....	17
2.5.1- Spécificité du symbiote fongique. ....	17
2.5.1- Facteurs de l'expression de la symbiose mycorhizienne .....	17
2.5.2- Problématique de l'utilisation des champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'agriculture actuelle.....	19
.5.2.1- Cas des pays développés et pays en développement.....	19
2.6- Exploitation des champignons mycorhiziens arbusculaires.....	20
2.6.1- Détermination de l'inoculum naturel des sols .....	20
2.6.3- Production d'inoculant mycorhiziens.....	20
2.7- Résultats obtenus avec les mycorhizes arbusculaires dans l'agriculture.....	23
2.7.1-Pays tempérés.....	23

2.7.2-Pays tropicaux .....	23
Tableau : résultats des expériences de validation de EcoMic dans les petites exploitations agricoles .....	24
III- Matériels et Méthodologie .....	25
3.1- Matériels .....	25
3.1.1- Cadre physique et présentation des matériels utilisés .....	25
3.2-Méthodes .....	25
3.2.1- Recherches bibliographiques .....	25
3.2.2- Manipulations au laboratoire .....	26
V- Présentations des résultats .....	27
5.1- Techniques de manipulation nécessaires pour initier l'utilisation des inoculants .....	27
5.1.1- Détermination de l'inoculum fongique mycorhizien naturel des sols haïtiens .....	27
5.1.1- Isolement des spores .....	27
5.1.1.2- Matériels nécessaires et procédure à suivre pour isoler les spores .....	27
5.1.1.2.1- Matériels nécessaires .....	27
5.1.2- Séparation des spores sur gradient de saccharose .....	28
5.1.2.1- Matériels nécessaires et procédures à suivre .....	28
5.1.3- Inoculation des plantes avec des inoculants mycorhiziens .....	29
5.1.5- Vérification de la colonisation des racines par des champignons mycorhiziens .....	29
5.1.5.1- Coloration des racines mycorhizées .....	29
5.1.5.4- Procédures à suivre pour colorer les racines .....	29
5.1.6- Propagation de racines transformées .....	30
VI-Discussion .....	32
6.1- Adaptabilité/ utilisation des inoculants mycorhiziens arbusculaires en Haïti .....	32
VII- Conclusion et recommandations .....	33
7.1- Conclusion .....	33
7.2- Recommandations .....	33
VIII- Références bibliographiques .....	34
XI-Annexe .....	38
Annexe 1: .....	38
Annexe 2 .....	39
Annexe 3 .....	40

## Liste des figures

3

Figure 1- Représentation schématique d'un apex de racine colonisée par un champignon mycorhizien arbusculaire. Adapté de Fortin et al. (2008).....	10
Figure 2-Structure taxonomique des Glomeromycota sensu Schüßler et al. (2001b), basée sur le gène partiel codant l'ARNr 18S. ....	11
Figure 3- Illustration Schématique des principaux types de mycorhizes. Adapté de Le Tacon et al., 1985).....	12
Figure 4-À gauche, trèfle violet sur du sol non mycorhizé et à droite trèfle violet sur du sol inoculé avec des champignons mycorhiziens arbusculaires. Adapté de Oehl et al.( 2011). ....	23

## Liste des annexes

Annexe 1: Illustration schématique de la détermination du niveau de colonisation des racines par les champignons mycorhiziens arbusculaires. Adapté de Brundrett et al. ( 1996) .....	38
Annexe 2: Concentration des réactifs à utiliser dans la préparation du Milieu de culture M. .	39
Annexe 3-Concentration des macroéléments dans le milieu WM. ....	40

## I- Introduction

### 1.1- Problématique

Les champignons mycorhiziens arbusculaires sont des microorganismes du sol qui contribuent à l'amélioration durable de la production des plantes dans le respect de l'environnement (Hooper et al., 2005). Certains chercheurs y voient déjà une alternative pour une nouvelle révolution verte ( Strullu., 1991; Fortin et al., 1995; Fortin et al., 2008). Malgré les horizons très prometteurs des champignons mycorhiziens arbusculaires, et en dépit du fait qu'ils ont été connus depuis plus de cent cinquante (150) ans, leur étude systématique n'a pas débuté avant les années 1960. Toutefois, d'importants travaux ont été réalisés pendant ces cinquante (50) dernières années et ont montré l'importance de la symbiose mycorhizienne (Fortin et al, 2008).

Tout au long du XX<sup>e</sup> siècle et surtout après la deuxième guerre mondiale, la production agricole mondiale a connu une hausse très importante. Cette augmentation, liée entre autres à l'utilisation d'intrants chimiques, n'a pas été sans conséquences sur l'environnement et la santé humaine. En fait, l'utilisation à outrance de ces intrants se fait dans le seul objectif d'obtenir de meilleurs rendements. Pourtant, les champignons mycorhiziens arbusculaires qui agiraient comme bio-fertilisants pourraient contribuer à l'atteinte de cet objectif (Hijri et al., 2006).

L'absorption des éléments minéraux est la première grande fonction qu'on attribue aux champignons mycorhiziens dans la vie des végétaux (Smith et *al.*, 2011). En effet, les racines peuvent absorber relativement facilement l'azote et le potassium souvent disponibles et mobiles dans la rhizosphère. Mais des éléments comme le zinc et le phosphore sont difficilement assimilés par les plantes (Fortin et *al.*, 2008). Les mycorhizes arbusculaires augmentent le pouvoir d'absorption des plantes en ces éléments en augmentant leur surface de contact avec la solution du sol (Smith et Read., 2008). Ils peuvent apporter aux plantes du phosphate qui se trouve à plusieurs centimètres des racines. Ils agissent également sur la physiologie des plantes pour faire naître une tolérance aux oligoéléments qui sont souvent toxiques (Arines et al, 1988; cité par Strullu, 1991).

L'augmentation des surfaces de contact réduit l'effet des stress hydriques des plantes mycorhizées qui parviennent, par l'intermédiaire des hyphes, à puiser de l'eau dans les petits interstices et agrégats du sol non accessibles aux racines(Fortin et *al.*, 2008).

En plus des bénéfices précités, les champignons mycorhiziens arbusculaires contribuent à l'amplification de la résistance des cultures contre certains organismes pathogènes et certains

ravageurs (Tahat et al., 2010). Dans la mycorrhizosphère, les micro-organismes confrontent à l'antagonisme et à la compétition soit pour la nourriture, soit pour des sites d'infection ou encore pour l'espace. Ce qui conduit à une flore microbienne diversifiée. La mycorrhizosphère est donc un environnement équilibré où les propagules des champignons pathogènes n'arrivent pas à proliférer et leur nombre reste toujours relativement faible (Fortin *et al.*, 2008). En outre, la modification physiologique des tissus du système racinaire contribue à cette résistance (Strullu., 1991).

Toutes ces activités mycorhiziennes contribuent grandement à l'amélioration de la production des cultures. Ainsi, Trépanier et Rioux (2012) ont rapporté une augmentation significative de 12.4% du nombre de tubercules chez les pommes de terre mycorhizées au Québec. Des résultats similaires ont été également trouvés en milieu tropical. Au Cameroun, Nwaga et al. (2004) ont trouvé une augmentation de plus de 50% du rendement du maïs mycorhizé par rapport aux témoins. Ceci est en relation avec les résultats rapportés par Uphoff et al. (2006) où, une augmentation de 77% a été trouvée à Cuba avec cette même culture quand elle est mycorhizée.

Le rôle que jouent les champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'amélioration de la performance des cultures mycotrophes n'est pas à démontrer (Haougui *et al.*, 2013). Aussi, la grande abondance de ces associations et leur intérêt économique ont suscité de nombreuses études pour comprendre leur fonctionnement, leur organisation, les modalités de leur établissement et leur maintien sur un système racinaire (Dexheimer., 1997). Et nombreux sont les chercheurs et organismes qui s'intéressent aujourd'hui aux champignons mycorhiziens. Par contre, en Haïti, très peu d'études leur ont été consacrées. Ce qui fait que très peu de connaissances scientifiques sont disponibles sur les mycorhizes et sur les techniques de leur manipulation. Ainsi, on se propose dans ce présent travail de faire un relevé technologique pour l'exploitation du potentiel des champignons mycorhiziens en Haïti. Ce travail poursuit plusieurs objectifs dont un général et d'autres dits spécifiques.

## **1.1- Objectifs**

### **1.1.1- Objectif général**

- L'objectif général de ce travail est de réaliser un relevé des connaissances scientifiques et des compétences méthodologiques nécessaires à l'exploitation du potentiel des champignons mycorhiziens arbusculaires en Haïti.

**1.1.2- Objectifs spécifiques**

6

- Acquérir de nouvelles compétences de laboratoire en microbiologie.
- Se familiariser avec les techniques de manipulation des champignons mycorhiziens arbusculaires.
- Réaliser une synthèse bibliographique relative aux champignons mycorhiziens.
- Colliger les renseignements et données utiles à des fins de manipulation des champignons mycorhiziens en Haïti.

**1.2- Hypothèse**

Les champignons mycorhiziens arbusculaires sont un atout pour l'agriculture haïtienne.

### **1.3- Intérêts du travail**

Les champignons mycorhiziens arbusculaires se révèlent très utiles tant en agriculture qu'en foresterie. Dans le premier cas ils permettent l'amélioration du rendement des cultures en intervenant sur des variables contrôlant la croissance végétative et la reproduction (nutrition minérale et hydrique, résistances aux stress et aux maladies etc.). En second lieu, ils sont aptes à favoriser une bonne reprise des plantules issues de pépinières. Par ailleurs, ils interviennent indirectement dans la restauration des sols dégradés. Cependant, tous ces bienfaits sont méconnus et ne sont pas exploités en Haïti.

Le présent travail vise à mettre en évidence l'intérêt des champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'agriculture et à constituer un guide pratique pour l'exploitation du potentiel de ces micro organismes en Haïti.

### **1.4- Limitations du travail**

Le présent travail ne résulte pas d'expérimentations. Il est basé sur la recherche bibliographique et des techniques de manipulation au laboratoire.

## II- Revue de littérature

### 2.1- Les champignons mycorhiziens

L'expression «champignons mycorhiziens» caractérise les champignons qui sont capables de s'associer aux racines des végétaux pour former une symbiose dénommée **mycorhize** (Plenchette., 1982). Les champignons mycorhiziens les plus répandus sont des symbiotes obligatoires (Fortin *et al.*, 2008).

#### 2.1.1- Les mycorhizes

Le terme « mycorhizes » se réfère à des relations à long terme entre les champignons et les racines des végétaux (Dechamplain et Gosselin., 2002). C'est la réciprocité des échanges qui caractérise cette union. Chaque partenaire optimise son développement grâce à cette symbiose. La plante profite du champignon pour améliorer sa nutrition en éléments minéraux et en eau, tandis que ce dernier bénéficie pour son métabolisme d'une partie du carbone fixé par la plante lors de la photosynthèse (Smith et Read., 2008). Les mycorhizes constituent donc les meilleurs partenaires de la relation sol-plantes-micro-organismes (Plenchette., 1982).

Cette symbiose a évolué dans le temps et devient si importante pour les plantes que certaines espèces ne peuvent croître en absence de leur symbiote fongique (Brundrett., 1991). Presque la totalité des plantes vertes sont concernées par cette association, exception faite des membres de quelques familles, dont les Cruciféracées et des Chénopodiacées chez lesquelles la colonisation mycorhizienne est beaucoup plus rarement observée (Varma et Kharkwal., 2009). C'est donc un phénomène fondamental et universel dans la vie des plantes vasculaires et les bryophytes qui a existé et co-évolué depuis plus de 400 millions d'années (Fortin et al., 2008; Smith et Read., 2008).

On distingue jusqu'à sept (7) types de mycorhizes différents. Cette classification se base principalement sur la morphologie des champignons et le type de plante-hôte associée (Varma et Kharkwal., 2009). On compte donc: les ectomycorhizes, les endomycorhizes à arbuscules, les ectendomycorhizes, les éricoïdes, les arbutoïdes, les orchidoïdes et les monotropoïdes. Toutes ces catégories ont un point commun: celui de réunir deux partenaires bien organisés au niveau cytotologique et se montrant mutuellement utiles (Strullu., 1991). Les trois premières associations sont décrites plus bas.

##### 2.1.2.1-Les Ectomycorhizes

Les ectomycorhizes regroupent les champignons appartenant aux ascomycètes et basidiomycètes. L'association symbiotique ectomycorhizienne se manifeste toujours sous

forme de courtes racines ramifiées en fourche chez les pins et en forme de grappe chez les autres arbres (Strullu., 1991). On les rencontre surtout dans les régions tempérées. Toutefois, certaines Légumineuses tropicales, en particulier les Césalpiniacées forment des ectomycorhizes (Varma et Kharkwal., 2009). On note que les genres de plantes formant les ectomycorhizes ne sont pas nombreux, ils représentent environ 3% des phanérogames (Meyer., 1973).

Les hyphes de ces champignons encerclent les racines sans pénétrer l'intérieur des cellules et constituent le **manteau fongique**. À partir de ce manteau, des hyphes se dirigent dans le sol pour former le réseau extramatriciel jouant un rôle important dans la nutrition minérale des plantes hôtes (Bâ et al., 2011). D'autres, par contre, se développent entre la zone corticale et l'épiderme de la racine formant donc le réseau de Hartig qui constitue la surface de contact et d'échange entre le champignon et la plante (Varma et Kharkwal., 2009).

D'après Harley et Smith (1983), les familles des plantes impliquées dans la formation des ectomycorhizes appartiennent aux Angiospermes et aux Gymnospermes. Les plus importantes sont les Acéracées, les Bétulacées, les Casuarinacées, les Cypéracées, les Césalpiniacées, les Papilionacées .

#### **2.1.2.2- Les mycorhizes à arbuscules**

Ce terme caractérise la présence de structures intracellulaires, arbuscules et/ou vésicules qui se forment pendant les différentes phases de développement des racines colonisées par un champignon (Varma et Kharkwal., 2009). On rencontre ce type de mycorhize chez plus de 80% des plantes de la planète (depuis les plantes cultivées jusqu'aux ligneux) et sous presque toutes les latitudes (Plenchette., 1982) .

##### **2.1.2.2.1- Morphologie et physiologie des endomycorhizes arbusculaires**

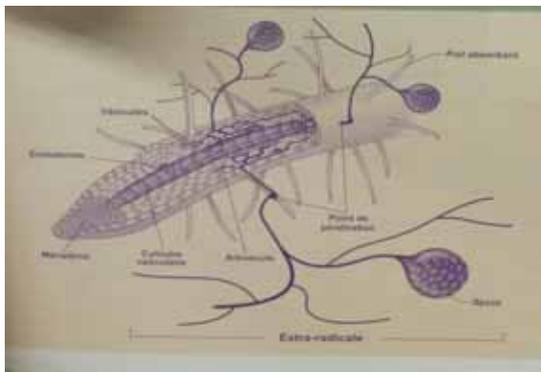
L'endomycorhize arbusculaire ne forme pas de manteau fongique contrairement aux ectomycorhizes (Dexheimer., 1997). Au début de la colonisation, il y a formation de l'appressorium, structure importante pour la pénétration de la cellule de la plante hôte. Ensuite, le premier hyphe colonise les espaces apoplasmiques des cellules du cortex les unes après les autres avant de pénétrer l'intérieur des cellules racinaires pour différencier un réseau lâche (moins bien structuré que chez les ectomycorhizes) ressemblant au réseau de Hartig (Podila et David., 2009; Haougui et al., 2013). Et du point d'ancrage, se développe un ensemble d'hyphes qui explorent le sol dans toutes les directions constituant la phase extra matricielle (figure 1) et jouant un rôle important dans l'alimentation minérale de la plante (Fortin et al., 2008).

Les structures intra-matricielles que produisent les champignons endomycorhiziens peuvent être des hyphes, des arbuscules et des vésicules. Les arbuscules sont formées par ramification dichotomique des hyphes voisins des couches de cellules de l'endoderme, sans traverser la structure endodermique; ce sont les structures les plus rencontrées et constituant l'interface d'échange entre les deux symbiotes; tandis que les vésicules se forment entre les cellules du cortex lorsque le champignon est bien établi (Plenchette., 1982). Le nombre d'arbuscules et de vésicules produites varie avec les partenaires fongiques et les plantes-hôtes.

Des études ont montré que les hyphes des champignons mycorhiziens arbusculaires sont cœnocytiques, c'est-à-dire, que leurs noyaux baignent dans le même cytoplasme. Quand les racines sont colonisées, les vacuoles des cellules racinaires diminuent de volume contrairement au cytosol qui reste stable (Sharma et Johri., 2002). Le fait marquant de l'association endomycorhizienne est la perforation de la paroi pecto-cellulosique. Ainsi, le cytoplasme des cellules racinaires est réparti autour des hyphes, permettant donc les échanges (Strullu., 1991).

Au point de pénétration, la paroi est dissociée puis enfoncée. Toutefois, le plasmalemme qui limite le cytoplasme de la cellule de l'hôte n'est jamais rompu et cette membrane est invaginée par les hyphes qui se développent à l'intérieur de la cellule. L'interface est donc toujours délimité, du côté de l'hôte, par une membrane de nature plasmalemmique. Le champignon n'est pas en contact direct avec le cytoplasme de l'hôte, puisqu'il reste toujours à l'extérieur du plasmalemme dans un espace, la matrice, en continuité avec le périplasme péricellulaire (Dexheimer., 1997).

La durée de vie d'un arbuscule est relativement courte et est évaluée à quelques dizaines d'heures (Dexheimer., 1997).

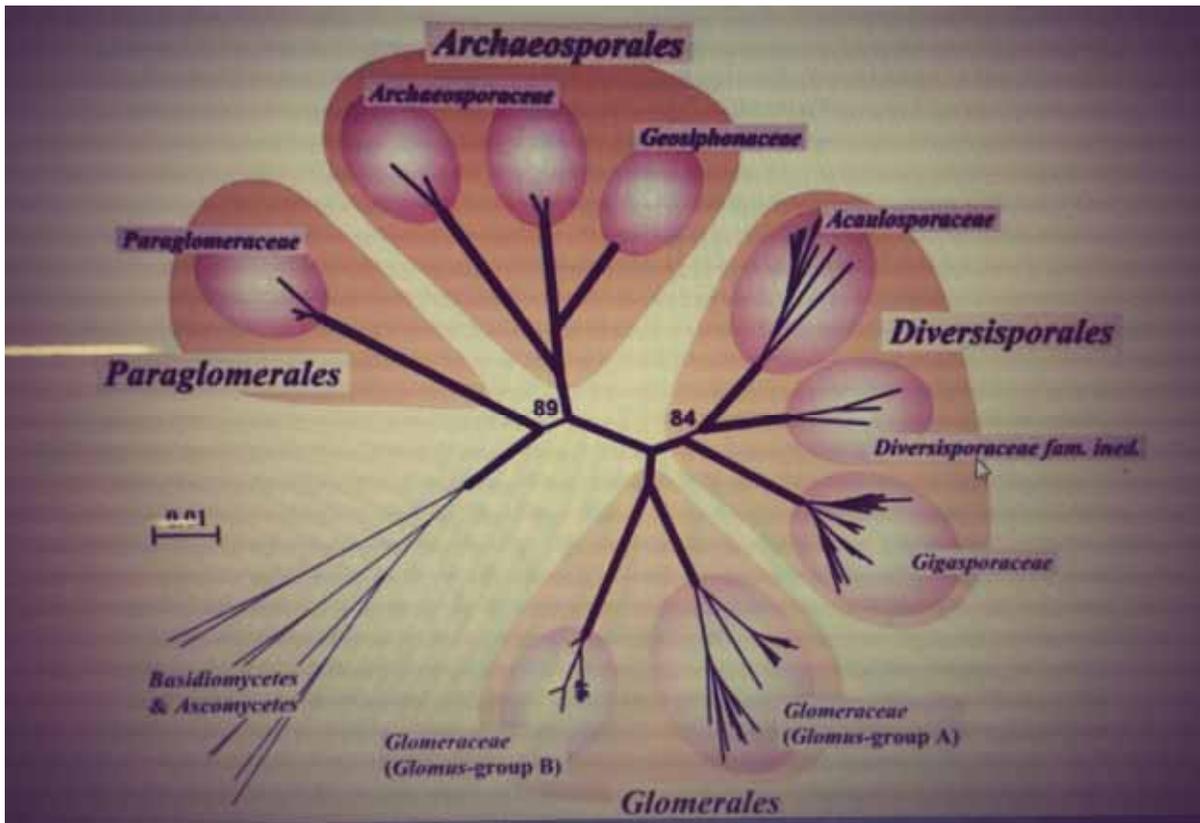


**Figure 1- Représentation schématique d'un apex de racine colonisée par un champignon mycorhizien arbusculaire. Adapté de Fortin et al (2008).**

**2.1.2.2.1- Groupes de champignons formant les Endomycorhizes à arbuscules**

Les études morphologiques et phylogénétiques ont permis de regrouper les champignons mycorhiziens arbusculaires dans un seul et nouvel embranchement, les Glomeromycota ayant 4 ordres, 9 familles, 12 genres et 200 espèces environ. Ces 200 espèces de champignons endomycorhiziens forment des mycorhizes avec environ 225 000 espèces de plantes (Dexheimer., 1997; Fortin et al., 2008).

Les connaissances actuelles ne permettent pas de faire la culture pure des champignons endomycorhiziens arbusculaires. Toutefois, il est possible de les cultiver en présence des racines isolées de leur plante hôte que l'on appelle des racines transformées (Kapulnik et Douds., 2000; Fortin et al., 2008).

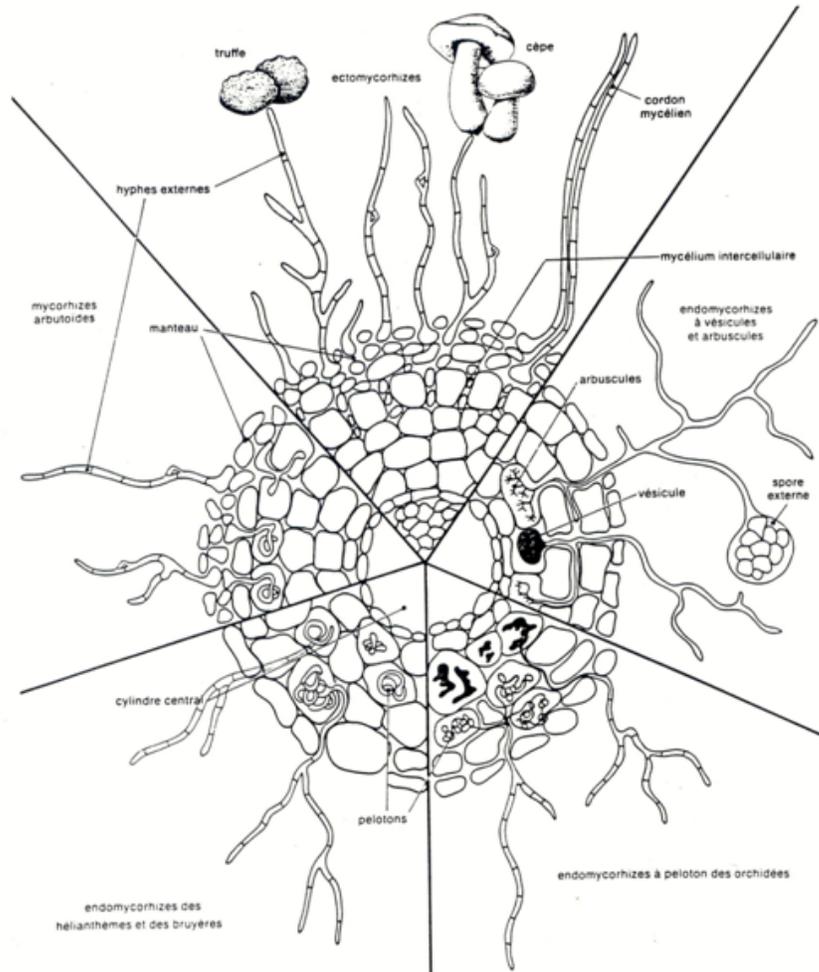


**Figure 2-Structure taxonomique des Glomeromycota sensu Schüßler et al. (2001b), basée sur le gène partiel codant l'ARNr 18S.**

**2.1.2.3- Les ectendomycorhizes**

Comme leur nom l'indique, ce sont des champignons ayant les caractères des ectomycorhizes et des endomycorhizes à la fois. On constate la présence du manteau fongique (Caractéristique des ectomycorhizes), une colonisation des cellules racinaires bien organisée,

caractéristique des endomycorhizes (Varma et Kharkwal., 2009). Les champignons concernés appartiennent aux basidiomycètes (Strullu., 1991).



**Figure 3- Illustration Schématique des principaux types de mycorhizes. Adapté de Le Tacon et al., 1985).**

### **2.3- Rôles des champignons mycorhiziens arbusculaires dans la nutrition des plantes**

Autrefois, on attribuait aux champignons mycorhiziens arbusculaires le seul rôle d'amélioration de la nutrition phosphatée des plantes avec lesquelles ils forment des mycorhizes. Mais les avancées dans le domaine de la mycologie ont permis de voir que les mycorhizes arbusculaires ont beaucoup d'autres effets que la seule nutrition minérale dans leur relation avec les végétaux.

### 2.3.1- Nutrition Minérale

L'amélioration de l'absorption des éléments nutritifs constitue la première grande fonction que l'on attribue aux champignons mycorhiziens arbusculaires chez les plantes-hôtes (Fortin et al., 2008; Koltai et Kapulnik., 2010). Toutefois, ils interviennent aussi dans l'absorption et la régulation d'autres éléments dans le sol.

#### 2.3.1.1- Nutrition phosphatée

Le phosphore est un élément très peu mobile dans le sol, ce qui entraîne très souvent des carences chez les plantes cultivées (Kapulnik et Douds., 2000). Il est souvent présent en faibles concentrations (quelques micromole/L) dans la solution du sol et est presque tout le temps retenu par les colloïdes (Smith et al., 2011; Strullu.,1991). Disponible en faible quantité, le phosphore est cependant nécessaire en quantité importante pour les cultures. La quantité, la forme de phosphore et les facteurs qui influencent sa disponibilité doivent être considérés pour comprendre le mode d'action des champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'absorption de cet éléments par les plantes (Nye., 2000). Le phosphore est absorbé sous forme d'ions inorganiques ortho-phosphates,  $H_2PO_4^-$  en particulier. Cette forme est normalement disponible en faible concentration et sa libération est commandée généralement par les réactions chimiques et à un degré moindre par des processus biologiques (Smith et Read., 2008).

Par le réseau extramatriciel, les champignons mycorhiziens arbusculaires rendent accessibles les ions phosphates solubles, présents dans les petits interstices du sol qui ne sont pas accessibles aux poils absorbants (Strullu., 1991; Fortin., 2008; Smith et Read., 2008). Et par suite de ce prélèvement rapide des ions phosphates solubles par les champignons mycorhiziens arbusculaires, il y a nécessité de rétablir l'équilibre entre la solution du sol et le complexe adsorbant. Ceci entraîne une libération plus rapide des ions phosphatés dans la solution du sol (Smith et Read., 2008).

La quantité de phosphore transporté est proportionnelle à la longueur des hyphes du réseau extramatriciel, et ce caractère peut être un critère de sélection de souches d'inoculum. On peut noter que chez l'oignon, *Glomus fasciculatus* et *Glomus mosseae* peuvent transporter du phosphore qui se trouve à plus de 7cm des poils absorbants des racines (Hatting et al., 1973; cité par Strullu., 1991).

Nwaga et al (2004) rapportent une absorption du phosphore de 3 à 10.5, de 1.4 à 28 et de 2.5 à 35 fois plus élevée pour respectivement le vigna, le poireau et le millet en comparaison aux plantes témoins non mycorhizées.

### **2.3.1.2- Nutrition azotée**

L'azote dans le sol est majoritairement sous forme organique et dépend des microorganismes pour sa minéralisation afin d'être disponible pour les plantes. Mais le rôle des champignons mycorhiziens arbusculaires dans la nutrition azotée des plantes n'a pas été beaucoup étudié. Cependant, des études isotopiques ont montré que les endomycorhizes à arbuscules jouent un rôle de premier plan dans l'absorption de l'azote par la plante (Hadley et al., 1993).

Comme c'était le cas pour le phosphore, les racines des plantes mycorhizées peuvent avoir accès à des sources d'azote non accessibles aux racines non mycorhizées. Ceci est très important, car la minéralisation/nitrification de l'azote est fortement ralentie en période de sécheresse. En effet, en conditions de sécheresse, une grande quantité d'azote reste à l'état ammoniacal et donc peu mobile. Dans cette situation, les racines colonisées peuvent avoir un avantage sur les bactéries et champignons décomposeurs de matières organiques fraîches dans la compétition pour l'azote. Il importe de mentionner que les champignons mycorhiziens arbusculaires ont un rôle indirect dans la fixation symbiotique de l'azote par les légumineuses. Car la fixation symbiotique de l'azote ne peut être efficace que si les plantes sont bien alimentées en phosphore (Dianda., 1991).

### **2.2.1.3- Adaptation ou tolérance envers les oligoéléments toxiques.**

Les oligoéléments constituent des éléments dont les plantes ont besoin pour croître et se développer. Toutefois, quand la concentration commence à être élevée, ils deviennent toxiques. Nombreux sont les chercheurs qui ont évoqué l'importance des champignons mycorhiziens arbusculaires dans la protection des plantes contre la toxicité des oligoéléments dans le sol (Redon., 2007; Sharma et Johri., 2002; Strullu., 1991).

Dans les sols où le pH est inférieur à 5, le fer (Fe), l'aluminium (Al), et le manganèse (Mn) sont présents en quantité toxique et empêchent l'absorption d'autres cations dont le magnésium (Mg) et le calcium (Ca). Cependant, même dans des sols très acides, les champignons mycorhiziens arbusculaires favorisent une alimentation équilibrée en éléments minéraux chez la plante-hôte (Sharma et Johri., 2002). Les mécanismes utilisés par les mycorhizes arbusculaires pour réguler l'absorption des oligoéléments ne sont pas encore élucidés, cependant leur effet est significatifs. Néanmoins, il semble que l'effet est indirect, et que les champignons mycorhiziens arbusculaires agissent sur les autres microorganismes du sol qui rendent non assimilables les oligoéléments toxiques pour les plantes dont le cadmium (Strullu., 1991).

### 2.3.2- Rôle des champignons mycorhiziens dans l'alimentation hydrique des plantes

Le stress hydrique est l'un des principaux facteurs limitant la productivité des cultures. Les plantes qui sont mycorhizées résistent beaucoup mieux au stress hydrique. Il est difficile de séparer les effets directs des effets indirects des champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'alimentation hydrique des plantes (Nouaim., 1996). L'augmentation de la surface de contact entre les champignons mycorhiziens et le sol qui conduit à une meilleure absorption des éléments minéraux, exerce aussi une bonne influence sur l'alimentation hydrique des plantes (Strullu., 1991; Fortin et *al.*, 2008). Pour Nouaim (1996) la symbiose mycorhizienne peut agir de plusieurs façons pour lutter contre le stress hydrique, mais c'est surtout par sa capacité à puiser l'eau qui est fortement liée aux particules de sol qu'elle répond à la sécheresse. Ainsi, les plants de maïs mycorhizés montrent un développement plus important que les plants non mycorhizés lorsqu'ils sont soumis à des périodes variables de stress hydrique (Fortin et *al.*, 2008).

### 2.4- Rôle des mycorhizes arbusculaires dans la lutte contre les agents pathogènes et certains ravageurs

La qualité des champignons mycorhiziens arbusculaires à protéger les cultures a été mise en évidence par plusieurs chercheurs. Dans cette perspective, plusieurs études portant sur diverses cultures et différents agents pathogènes ont été réalisées. Larsen et Bodker (2001) ont déjà mis en évidence l'impact positif des champignons mycorhiziens arbusculaires dans la lutte contre la pourriture racinaire du pois causée par *Aphanomyces euteiches* Dreschler. La tomate mycorhizée par *G. mosseae* et *G. intraradices* montre une plus faible expression des symptômes provoqués par *Phytophthora nicotinae* (Varma et Kharkwal., 2009). Des résultats similaires ont été rapportés par Fortin et *al.* (2008) en ce qui concerne l'infection causée par *Pithium* sp pour des plantes de géranium qui ont été préalablement inoculées avec *Glomus intraradices*.

Koltai et Kapulnik (2010) suggèrent que la tomate inoculée avec *Glomus mosseae* offre une meilleure résistance à la pourriture foliaire provoquée par *Botrytis cinerae*. En association avec *Glomus mosseae* et *G. intraradices*, on a remarqué le contrôle biologique chez les plants de tomate inoculée avec *P. nicotiana* (Varma et Kharkwal., 2009).

Dans la majorité des expériences portant sur les interactions plantes-hôtes-champignons mycorhiziens arbusculaires-parasites, on observe que les mycoses foliaires et les viroses sont généralement favorisées chez les plantes endomycorhizées, alors que les bactérioses ainsi que

les mycoses et maladies à nématodes racinaires sont généralement diminuées (St-Arnaud et *al.*, 1997).

L'usage des mycorhizes arbusculaires doit être considéré dans l'agriculture comme un moyen de lutte biologique proactive. Et bien que le nombre de maladies et de plantes étudiées sont jusque là restreintes, on peut dire que l'inoculation avec les champignons mycorhiziens arbusculaires reste une méthode de prévention prometteuse, respectueuse de l'environnement et facile d'utilisation (Dalpé., 2005).

#### **2.4.1- Modification du comportement physiologique et de la mycorhizosphère**

L'association mycorhizienne arbusculaire entraîne de remarquables changements dans la physiologie des plantes hôtes. Ces modifications physiologiques sont étroitement liées à la réponse des plantes aux différents stress biotiques et abiotiques (Koltai et Kapulnik., 2010). En effet, les plantes mycorhizées, quand elles sont agressées par un agent pathogène réagissent en excréant des substances antibiotiques qui inhibent la croissance de ces organismes sans affecter le symbiote fongique (Fortin et *al.*, 2008). Aussi, l'acide jasmonique impliqué dans la colonisation des racines par les mycorhizes et qui agit sur les gènes de défenses, joue un rôle central dans l'amplification de la résistance aux pathogènes des plantes mycorhizées (Koltai et Kapulnik., 2010).

Outre les exsudats, certains composés de type iso-flavonoïdes (glyceolline I, coumestrol et daidzéine) ont montré une augmentation de leur concentration dans les tissus racinaires suite à l'infection endomycorhizienne, inhibant ainsi la croissance des nématodes phytopathogènes (Strullu.,1991).

En dépit du fait que les mécanismes conduisant à la protection des plantes contre les agents pathogènes par les endomycorhizes arbusculaires ne sont pas clairement définis (Fortin et *al.*, 1995), la symbiose endomycorhizienne arbusculaire est incontestablement un moyen de lutte biologique contre les organismes pathogènes telluriques (Strullu., 1991). Toutefois, Lerat et *al.*(2003) suggèrent que, sous certaines conditions environnementales défavorables, les champignons mycorhiziens pourraient agir en parasites, et recevoir donc du carbone de la plante-hôte sans en fournir aucun service en retour à la plante-hôte. Ce qui veut dire que le contrôle des agents pathogènes varie avec les plantes hôtes, les symbiotes fongiques, les conditions environnementales et l'organisme pathogène (Koltai et Kapulnik., 2010).

## 2.5- Les champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'agriculture

Les pratiques culturales de l'agriculture moderne où il y a utilisation d'engins lourds, d'intrants chimiques à outrance et la monoculture sont défavorables à la symbiose mycorhizienne arbusculaire (Strullu., 1991). En outre, on a assisté à plusieurs années de sélection de nouvelles variétés de plantes cultivées, sans considération aucune pour les mycorhizes arbusculaires. Et malgré tout cela, les champignons mycorhiziens arbusculaires demeurent un partenaire important pour les cultures (Koltai et Kapulnik., 2010). Ainsi, certaines espèces de plantes habituellement cultivées dans des conditions de fort apport en phosphore ont montré une forte dépendance de la symbiose mycorhizienne quand elles sont cultivées dans des sols pauvres en éléments nutritifs (Koltai et Kapulnik., 2010). Certaines plantes qui sont considérées comme non mycotrophes présentent dans ses tissus une quantité non négligeable d'éléments nutritifs qui sont prélevés par les hyphes lorsqu'elles sont cultivées en présence de champignons mycorhiziens arbusculaires (Smith et al., 2009). Donc, plusieurs facteurs sont impliqués dans l'établissement et l'efficacité de la symbiose endomycorhizienne arbusculaire (Fulton., 2011; Strullu., 1991).

### 2.5.1- Spécificité du symbiote fongique.

La symbiose endomycorhizienne arbusculaire est caractérisée par une faible spécificité du symbiote fongique vis à vis de la plante-hôte (Strullu., 1991). En effet, une souche isolée à partir de racines d'une plante ou des spores de sa rhizosphère peut être facilement associée non seulement à des espèces appartenant au même genre, mais aussi à d'autres appartenant à des genres et des familles différentes (Plenchette et al., 1982) Dans la nature la mycorhization est la règle et la non mycorhization est l'exception (Gerdeman., 1971 dans Plenchette 1982).

### 2.5.1- Facteurs de l'expression de la symbiose mycorhizienne

#### 2.5.1.1- Dépendance mycorhizienne des plantes

La dépendance mycorhizienne exprime dans quelle mesure la symbiose mycorhizienne permet de satisfaire les besoins en phosphore de la plante lorsque le système racinaire et/ou le sol sont incapables de répondre aux exigences nutritionnelles (Strullu., 1991). C'est le concept opérationnel pour la prise en compte des mycorhizes dans les systèmes de cultures durables à faibles intrants, car elle traduit la différence de biomasse entre les plantes mycorhizées et non mycorhizées (Fortin et al., 2008; Strullu., 1991). Toutes les cultures n'ont pas le même niveau de dépendance mycorhizienne. En effet, celles qui possèdent un système racinaire moins pourvu en poils absorbants ont une dépendance mycorhizienne plus élevée. Cependant, la dépendance mycorhizienne est relative en fonction des conditions de culture et du niveau de fertilité du substrat, entre autres. Plenchette et al. (1983) suggèrent qu'il faut

calculer la dépendance mycorhizienne au champ. Et ils proposent le concept de dépendance mycorhizienne relative au champ (DMRC). C'est la différence entre la masse de matière sèche de plantes mycorhizées et celle des plantes non mycorhizées divisée par la masse de matière sèche des plantes mycorhizées (en pourcentage). Pour eux, La DMRC est une mesure importante qui peut porter l'agriculteur à prendre en considération des souches indigènes de sa parcelle et avoir recours à l'inoculation là où il n'y en a pas.

#### **2.5.1.2- Potentiel mycorhizogène du sol et inoculat**

Le potentiel mycorhizogène d'un sol désigne son aptitude ou sa capacité à permettre la croissance des champignons mycorhiziens arbusculaires à partir des spores ou propagules indigènes . Cette capacité varie selon les conditions du milieu, bien qu'on puisse retrouver partout ces types de micro organismes (Strullu., 1991; Sharma et Johri., 2002; Fulton., 2011). Les facteurs qui peuvent influencer le potentiel mycorhizogène des sols sont les suivantes.

##### **2.5.1.2.1-Influence des conditions édaphiques**

La température, le pH, l'humidité, l'aération sont entre autres les conditions édaphiques qui peuvent influencer la croissance de la symbiose mycorhizienne arbusculaire (Yoram et David., 2000).

Le pH optimum de la germination des spores et de la croissance des endomycorhizes arbusculaires varie en fonction des espèces (Yoram et David., 2000). C'est ainsi que des spores des genres *Acaulospora* et *Gigaspora* germeraient mieux à pH acide tandis que celles du genre *Glomus* préfèrent des pH autour de la neutralité. A noter que c'est le pH qui détermine l'état du phosphore dans le sol (Strullu., 1991).

Les spores peuvent résister à des températures proches de 60°C pendant de courtes durées (Tommerup et Kidby., 1980). Mais la résistance à ces températures ne traduit ni un bon pouvoir germinatif des spores, ni une bonne infection des racines des plantes. La germination des spores et l'infection des racines par des endomycorhizes arbusculaires sont stimulées par une élévation de température jusqu'au voisinage de 30°C (Strullu., 1991).

##### **2.5.1.2.2- Influences des pratiques culturales**

Les pratiques culturales de l'agriculture moderne y compris les apports d'intrants ont des impacts directs et dépressifs sur la flore microbienne et les endomycorhizes arbusculaires en particulier (Fortin et al., 2008; Gosling et al., 2006).

En général, les champignons mycorhiziens arbusculaires ont une meilleure représentativité et une meilleure performance lorsque les sols sont pauvres en phosphore. Par contre, les calculs

des doses de fertilisation ne tiennent pas compte de ces microbes. L'apport de minéraux solubles peut réduire considérablement ou même supprimer l'activité des champignons mycorhiziens arbusculaires (Le Tacon et al., 1999).

Le labourage pratiqué a aussi des effets négatifs en entraînant en profondeur les hyphes et les spores qui n'ont plus la possibilité de coloniser les racines des cultures.

### **2.5.2- Problématique de l'utilisation des champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'agriculture actuelle**

Les problèmes liés à l'utilisation des champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'agriculture peuvent être variables suivant que l'on est dans un pays avancé ou en développement. En effet, les pratiques agricoles dans la majorité des cas sont différentes pour ces deux catégories.

#### **.5.2.1- Cas des pays développés et pays en développement**

Les pays industrialisés pratiquent une agriculture fortement mécanisée avec utilisation d'importantes quantités d'intrants. Dans les zones de grande culture, l'utilisation des engins lourds pour le travail du sol nuit au développement de la symbiose mycorhizienne (Gosseling et al., 2006). Sont également dépressifs pour cette symbiose, des apports constants en éléments nutritifs effectués pour maintenir le niveau de fertilité de ces sols.

Certains sols surfertilisés atteignent jusqu'à 1000 ppm de phosphore et sont totalement incompatibles avec la mycorhization. Fortin et al.(2008) suggèrent que les meilleurs résultats avec les champignons mycorhiziens arbusculaires s'obtiennent lorsque la teneur en phosphore du sol est de 100ppm ou moins. Dans les pays où l'on fait intensivement les grandes cultures, tous les sols n'ont pas atteint le seuil de 1000ppm, cependant, plus de 100 ans de cultures sans apport de phosphore seraient nécessaire pour qu'ils soient aptes à la mycorhization (Fortin et al., 2008).

Et en dépit des résultats intéressants obtenus avec les cultures maraîchères en plein champ par Furlan (1993), les champignons mycorhiziens arbusculaires ne font pas encore l'objet d'utilisation dans leurs systèmes horticoles. Ils restent confinés à l'arboriculture fruitière et à la foresterie. On pourrait donc dire que la prise en compte des champignons mycorhiziens arbusculaires dans les systèmes de cultures des pays développés nécessitera encore du temps.

Par contre, les pays en développement, en particulier les pays tropicaux dont Haïti, offrent de meilleurs horizons quant à l'utilisation des champignons mycorhiziens dans l'agriculture. En effet, le coût des intrants chimiques limite considérablement leur utilisation dans ces pays. De

plus, l'agriculture n'est pas tout à fait mécanisée, on n'utilise presque pas d'engins lourds dans les opérations culturales, ce qui permet aux spores et propagules de champignons mycorhiziens de persister dans la couche superficielle du sol, où elles représentent un inoculum pour la colonisation spontanée des cultures. Les pays tropicaux ont aussi l'avantage que leurs sols n'atteignent que rarement des teneurs élevées (plus de 50 ppm) en phosphore (Fortin et al., 2008). Il est à noter que des rotations culturales pratiquées favorisent une meilleure interaction entre les champignons mycorhiziens arbusculaires et les racines des plantes.

L'état actuel des pays tropicaux fait de l'association mycorhizienne une alternative très intéressante qui mérite d'être exploitée par les agriculteurs de ces pays.

## **2.6- Exploitation des champignons mycorhiziens arbusculaires**

Actuellement les champignons mycorhiziens arbusculaires font l'objet d'une exploitation industrielle. L'équipe de Premier Tech Biotechnologies (Canada) a mis sur le marché un inoculant mycorhizien sous plusieurs formes (liquide, granulaire etc.) pour essayer de répondre aux besoins des agriculteurs. Cet inoculant a été testé dans différentes conditions et s'est révélé bénéfique pour l'agriculture.

Le sol contient en général un certain inoculum fongique naturel, indigène ou autochtone. Néanmoins, il serait intéressant d'inoculer les cultures lorsque:

- la population indigène (naturelle) est insuffisante
- la performance des souches présentes est variable
- le positionnement des propagules est aléatoire par rapport à la semence

### **2.6.1- Détermination de l'inoculum naturel des sols**

Avant de penser à inoculer les cultures, il est bien important de connaître l'inoculum fongique indigène des sols où l'on va les cultiver. En effet, des souches fongiques naturellement présentes peuvent orienter le choix des souches de champignons mycorhiziens arbusculaires pour l'inoculation.

La méthode des tamisages décrite par Brundrett et al (1996) est bien utilisée dans la détermination de l'inoculum fongique indigène des sols.

### **2.6.3- Production d'inoculant mycorhiziens**

Les champignons mycorhiziens arbusculaires sont des symbiotes obligatoires, c'est-à-dire qu'ils nécessitent un milieu vivant pour se multiplier. Bien que la culture des propagules de

champignons mycorhiziens arbusculaires ne soit pas facile, différentes techniques de culture existent. Le genre *Glomus* présente des espèces qui sont prolifiques et relativement facile à cultiver de façon aseptique sur des racines isolées.

### **2.6.1.1- Les techniques de production des inoculants mycorhiziens arbusculaires**

#### **2.6.1.1.1- Production en pots ou en bacs**

La culture en pot est le mode traditionnel de culture des champignons mycorhiziens arbusculaires. On la pratique quand on veut surtout isoler une nouvelle espèce ou souche de champignons mycorhiziens (Fortin et al., 2008). On peut utiliser la méthode des tamisages pour sélectionner le matériel de départ. Après avoir purifié le matériel obtenu par tamisage sur un gradient de saccharose, ce qui permet de se débarrasser des particules non désirées, on choisit sous l'observation binoculaire une seule ou un groupe de spores pour mettre en culture. Juste avant de les mettre en culture, on désinfecte les spores que l'on dépose ensuite à une profondeur de 5cm dans un substrat stérile. Puis on place une plantule (poireau en général) dessus, et on fait une irrigation avec une solution appropriée. Douze (12) à quinze (15) semaines après il devrait y avoir colonisation de la racine. Pour initier une culture en pot, on peut également utiliser un fragment de racine mycorhizée.

Dans l'objectif d'obtenir suffisamment d'inoculum pour une utilisation au champ, on utilise de préférence des bacs de dimension variables. Toutefois, cette technique n'arrive pas à contourner le problème des organismes pathogènes. Néanmoins, il est utilisé avec beaucoup de succès dans l'agriculture surtout à Cuba.

#### **2.6.1.1.2- Production au champ**

Dans le cas de sols stérilisés (solarisation sous couche de plastique), on peut produire en plein champ. Cependant, le contrôle de la microflore extérieure s'avère difficile; et la protection de l'inoculum mycorhizien contre les contaminants pose problème.

#### **2.6.1.1.3- Production au laboratoire (milieux solide et liquide)**

Avec les méthodes précédentes de production d'inoculant mycorhizien, on court le risque de d'avoir des microorganismes non désirés et possiblement des agents pathogènes. Mais avec la maîtrise de la culture de racines excisées, on arrive à faire la production aseptique des propagules de champignons mycorhiziens arbusculaires. La limite de cette technique est le nombre restreint d'espèces de champignon que l'on arrive à cultiver in vitro.

#### **2.6.1.1.4- Production industrielle**

Toutes les techniques de production de propagules de champignons mycorhiziens décrites antérieurement ont des limitations liées soit à la quantité qu'on peut produire, soit à la

possibilité de contamination de l'inoculum avec des agents pathogènes. La production industrielle d'inoculants mycorhiziens est une adaptation des techniques de production au laboratoire. Ainsi, des quantités importantes de propagules sont produites chaque année dans le monde. L'entreprise Premier Tech Biotechnologies au Canada, mentionnée plus haut, se spécialise dans la production et la commercialisation des inoculants mycorhiziens au niveau mondial. Aussi, d'autres entreprises (notamment à Cuba et en Inde) œuvrent dans ce domaine pour une agriculture rentable et durable.

#### **2.6.1.2- Effets de l'inoculation sur la production des cultures**

Arriver à augmenter le rendement des cultures dans les différents agro-climats et dans le respect de l'environnement est devenu une urgence. En effet, des essais d'inoculation de cultures avec des champignons mycorhiziens arbusculaires se multiplient à travers la planète et dans différentes conditions agro-climatiques. Les résultats de cette pratique montrent un chemin vers une agriculture durable tant au Nord qu'au sud (Hooper et al., 2005)..

##### **2.6.1.2.1- Effets sur la croissance et le développement des plantes hôtes**

Il apparaît de plus en plus évident que les plantes mycorhizées ont une meilleure croissance que celles qui ne le sont pas. En effet, Zougari-Elwedi et al.(2012) ont montré que la croissance du palmier dattier (*Phoenix dactilyphera*) inoculé avec *Glomus* montre une croissance nettement supérieure par rapport aux témoins après deux ans de culture (figure 4). De même, le niébé (*Vigna unguiculata*) inoculé avec *Rhizophagus irregularis* montre une croissance nettement supérieure de celle des témoins (Diop et al.,2013).

La stimulation de la croissance végétale par les champignons mycorhiziens est d'autant plus significative que la teneur du sol en phosphore est faible (Furlan., 1981). Toutefois, Plenchette (1982) affirme que même si la quantité de phosphore dans le sol est relativement importante, les plantes mycorhizées ont toujours une meilleure croissance. Pour lui, la croissance de ces plantes est due à une stimulation hormonale.



**Figure 4-**À gauche, trèfle violet sur du sol non mycorhizé et à droite trèfle violet sur du sol inoculé avec des champignons mycorhiziens arbusculaires. Adapté de Oehl et al (2011).

## **2.7- Résultats obtenus avec les mycorhizes arbusculaires dans l'agriculture**

Des plantes inoculées par des champignons mycorhiziens arbusculaires montrent très souvent des meilleurs rendements par rapport aux témoins. Les résultats de certaines expériences sont présentés plus bas par régions climatiques.

### **2.7.1-Pays tempérés**

Dans les régions tempérées, et particulièrement au Canada, des résultats intéressants ont été obtenus avec l'inoculation des cultures par des champignons mycorhiziens arbusculaires. En effet, Trépanier et *al.*(2012) rapportent une augmentation de 12,4% du nombre des tubercules de pomme de terre suite à l'inoculation par des champignons mycorhiziens arbusculaires. Toujours au Canada, une augmentation du rendement de plus de 7% par rapport au témoin a été obtenue avec des plantes de soya mycorhizées (Le Quéré et Kerr., 2011).

### **2.7.2-Pays tropicaux**

Plusieurs expériences ont été réalisées avec les champignons mycorhiziens dans l'agriculture dans certains pays tropicaux. Au Cameroun, les résultats obtenus varient avec la dépendance mycorhizienne des cultures. Les rendements sont plus élevés avec les légumineuses, les tubercules et les petits fruitiers. Une augmentation de rendement du maïs de 52 à 59% par rapport au témoin non mycorhizé a été obtenue, pendant que celles fertilisées à l'engrais minéral a montré une augmentation 30-35% (Nwaga et al., 2004). La banane a montré une plus grande précocité dans la maturation des fruits et une augmentation de rendement de

438% par rapport au témoin non mycorhizé; la tomate a montré une augmentation de rendement de 116% ( Jemo et al., 2007).

Les biomasses aérienne, racinaire et totale du niébé (*Vigna unguiculata*) mycorhizé avec *R. irregularis* ont augmenté de 51%, 52% et 51.47% respectivement par rapport au témoin non mycorhizé (Diop et al., 2013). Par contre, le mil (*Sorghum bicolor*) inoculé avec *Glomus aggregatum* montre une croissance inférieure par rapport au témoin non inoculé (Plenchette et al., 2000). Selon les auteurs, cette absence de stimulation de croissance serait due à l'utilisation de souches exotiques de champignons mycorhiziens arbusculaires.

Le tableau suivant présente les augmentations de rendements obtenues en Amérique Latine avec différentes cultures suite à l'utilisation de *Ecomic*, un inoculant mycorhizien solide développé à Cuba.

**Tableau : résultats des expériences de validation de EcoMic dans les petites exploitations agricoles**

Cultures	Pays	Sols	Superficie en hectare	Rendement avec CMA* en t/ha	Rendement témoin en t/ha	Accroissement de rendement en %
Riz	Cuba	Petroferic gleysol	1.0	6.80	4.60	47.8
Riz	Colombie	Eutric fluvisol	2.0	2.15	1.30	65.3
Riz	Colombie	Eutric fluvisol	2.0	2.40	1.40	71.4
Coton	Colombie	Molic gleysol	1.5	2.60	2.20	18.2
Coton	Colombie	Molic gleysol	1.5	2.50	1.90	31.5
Mais	Colombie	Eutric fluvisol	1.0	2.96	1.64	80.5
Mais	Colombie	Eutric fluvisol	1.0	2.59	1.45	78.6
Haricot	Colombie	Eutric fluvisol	1.0	0.50	0.29	72.4
Haricot	Cuba	Eutric ferralsol	1.0	1.01	0.69	46.4
haricot	Cuba	Eutric ferralsol	2.5	1.20	0.96	25.0
Soya	Cuba	Eutric ferralsol	0.5	2.63	1.50	75.3
Mais	Cuba	Eutric ferralsol	3.0	2.83	2.44	16.0
Arachide	Cuba	Eutric ferralsol	1.2	1.12	1.00	12.0

**CMA:** Champignons mycorhiziens arbusculaires

NB- Une dose de 10% du poids des semences a été appliquée à la main. Adapté de Uphoff et al (2006).

### III- Matériels et Méthodologie

#### 3.1- Matériels

##### 3.1.1- Cadre physique et présentation des matériels utilisés

La plupart des activités ont été réalisées à l'Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes (IBIS), en particulier au laboratoire de mycologie. L'IBIS créé depuis 2009 est unique au Québec et au Canada. Il regroupe 299 chercheurs des facultés de Médecine, d'Agriculture et d'Alimentation, des Sciences et de génie, géographie et de Foresterie et géomatique dans un même lieu physique au pavillon Charles-Eugène-Marchand. La mission de ce dit institut est entre autres:

- Contribuer à l'avancement de la recherche fondamentale en sciences de la vie
- Mettre au point de nouvelles approches en sciences biomoléculaires
- Contribuer à la formation de personnels hautement qualifiés

Les matériels qui ont été utilisés durant l'apprentissage sont nombreux et de divers types. On les regroupe en trois catégories: **matériels physiques, biologiques et chimiques**. Chaque matériel est cité dans son rôle au niveau des résultats (5<sup>e</sup> partie).

#### 3.2-Méthodes

Ce présent travail porté sur la quête de connaissances scientifiques et des compétences méthodologiques pouvant favoriser une éventuelle exploitation du potentiel des champignons mycorhiziens en Haïti. En effet, pour y parvenir il a été nécessaire qu'il y ait un jumelage entre les connaissances théoriques et des compétences méthodologiques. Ainsi, dans le cadre du Programme de Bourses des Futurs Leaders dans les Amériques (PBFLA) du gouvernement canadien, on a été à la Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation de l'Université Laval pour effectuer un stage de recherche sur les champignons mycorhiziens arbusculaires. Deux approches ont été adoptées:

##### 3.2.1- Recherches bibliographiques

On a eu une approche théorique basée sur une revue bibliographique à l'aide de documents disponible à la bibliothèque de l'Université Laval et ailleurs. Dans cette lignée, il a été surtout question de comprendre l'importance de champignons mycorhiziens arbusculaires pour les plantes et l'environnement. Aussi, il s'agissait de recenser les avancées qui se font dans ce domaine y compris les recherches scientifiques et l'exploitation/ l'utilisation des champignons mycorhiziens arbusculaire en agriculture. Tout ceci a été présenté dans le deuxième chapitre du présent mémoire (voir plus haut).

### **3.2.2- Manipulations au laboratoire**

26

Parallèlement, une partie pratique relative à la manipulation des mycorhizes arbusculaires a été faite à l'Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes (IBIS) de cette même université. On a travaillé au laboratoire de mycologie de cet institut sous la supervision des professeurs Yves Piché, Patrice Dion et Damase Khasa. Toutes les techniques apprises ont été enseignées par un encadreur (Laurent Fontaine) puis répétées personnellement au tant de fois nécessaires. Aussi, on a travaillé au laboratoire de microbiologie de la FSAA afin d'acquérir d'autres compétences. L'ensemble des recherches bibliographiques et des manipulations au laboratoire ont permis de présenter des résultats qui constituent un guide préliminaire pour l'utilisation des inoculants mycorhiziens arbusculaires en Haïti.

## V- Présentations des résultats

### 5.1- Techniques de manipulation nécessaires pour initier l'utilisation des inoculants mycorhiziens arbusculaires.

La connaissance des techniques de manipulation des champignons mycorhiziens arbusculaires est très importante pour l'exploitation de leur potentiel. En effet, les techniques apprises sont présentées dans les lignes subséquentes et sont considérées comme un guide de départ vers l'utilisation des champignons mycorhiziens arbusculaires en Haïti.

#### 5.1.1- Détermination de l'inoculum fongique mycorhizien naturel des sols haïtiens

##### 5.1.1- Isolement des spores

L'isolement des spores est considéré comme la première chose à faire lorsqu'on veut déterminer s'il y a des souches de champignons mycorhiziens arbusculaires dans un sol donné. En effet, l'observation des spores révèle la présence de populations de champignons mycorhiziens indigènes.

##### 5.1.1.2- Matériels nécessaires et procédure à suivre pour isoler les spores

###### 5.1.1.2.1- Matériels nécessaires

- ✓ Tamis de 1mm, 250  $\mu\text{m}$ , 106  $\mu\text{m}$  et 50  $\mu\text{m}$
- ✓ Tube de 50 ou 15ml résistant à la centrifugation
- ✓ Centrifugeuse atteignant 2000 g, solution de saccharose 50%
- ✓ Micropipettes et micro tubes, flacons laveurs, binoculaire

###### 5.1.1.2.2- Procédure à suivre

La méthode décrite ici est celle du tamisage humide décrite par Brundrett et *al.* (1996). Les étapes sont les suivantes.

- ✓ Prélèvement d'une certaine quantité de sol au niveau de la rhizosphère (environ 100g). Puis tamiser à l'aide d'un tamis de 2 mm pour récupérer la fraction de sol contenant les spores.
- ✓ Monter une batterie de tamis de 1mm, 250  $\mu\text{m}$ , 106  $\mu\text{m}$ , 50 $\mu\text{m}$  de manière que celui de la plus grande maille soit en haut et la plus petite soit en bas.
- ✓ Déposer l'échantillon de sol dans le premier tamis. Puis tamiser à l'eau dans un mouvement de rotation en tenant fermement la batterie de tamis
- ✓ Récupérer les fractions de sol de 50  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$  et 250  $\mu\text{m}$  dans des tubes de 15 ou 50 ml. Les tubes doivent être remplis à un maximum de 20 % de leur capacité.

- ✓ Recouvrir de l'eau les fraction de sols recueillies, vortexer puis équilibrer à l'aide d'une balance afin de centrifuger à 2000g pendant deux (2) minutes.
- ✓ Jeter les surnageants, puis recouvrir du saccharose 50%. Équilibrer sur une balance et centrifuger à 2000 g pendant cinq (5) minutes.
- ✓ Le surnageant contient alors les spores des champignons endomycorhiziens arbusculaires. Prélever la surface et la colonne de liquide à l'aide d'une micropipette et les transférer sur un tamis (50  $\mu\text{m}$ ). Rincer délicatement puis prélever avec une micropipette la portion de liquide contenant les spores que l'on déposera alors dans un micro tube.
- ✓ Dans une boîte de pétri, on peut dès lors observer les spores isolées, au moyen d'un binoculaire.

À ce niveau, l'extraction n'est pas encore terminée, car d'autres particules non désirées (spores vieilles, matière organique, etc.) peuvent être encore présentes. Pour les séparer il faut procéder par un gradient de saccharose.

### **5.1.2- Séparation des spores sur gradient de saccharose**

#### **5.1.2.1- Matériels nécessaires et procédures à suivre**

##### **5.1.2.1.1- Matériels nécessaires**

- ✓ plaque chauffante, bécher, eau distillée, centrifugeuse, flacon laveur
- ✓ tubes résistant à la centrifugation, saccharose (sucre de table), filtre à seringue de 0.2 $\mu\text{m}$

##### **5.1.2.2- Procédure à suivre**

- ✓ Préparer deux solutions de sucroses avec respectivement une concentration de 20% et 50% idéalement.
- ✓ Transférer une portion de celle ayant la plus faible concentration dans un tube sans le remplir. Puis à l'aide d'une seringue, prélever une quantité de la solution de saccharose 50% et le déposer soigneusement au fond du même tube pendant que celle-ci soulève la première. Constater l'interface entre les deux solutions.
- ✓ À l'aide d'une micropipette, prélever les spores antérieurement isolées et les déposer dans le tube contenant le gradient de saccharose.
- ✓ Équilibrer puis centrifuger. Les spores viables vont se trouver à l'interface créée par les deux solutions.
- ✓ À l'aide d'une micropipette, prélever les spores viables et les déposer dans un tamis, puis les rincer et les transférer dans un micro tube. À partir de là, on a des spores

viables pouvant être utilisées pour l'inoculation. Cependant, l'isolement des spores et le gradient de sucrose ne permettent pas de connaître l'identité de l'inoculum fongique. Il faut passer par une autre étape, l'extraction de l'ADN. Celle-ci peut être fait par la technique de Polymérase en chaîne (PCR). On peut aussi procéder par caractérisation morphologique.

### **5.1.3- Inoculation des plantes avec des inoculants mycorhiziens**

On procède à l'inoculation des cultures quand il n'y a pas d'inoculum dans le sol ou lorsque les souches présentes ne sont pas performantes. On suit alors la procédure du fabricant selon sa formulation (liquide, granulaire, poudre etc.). Plusieurs semaines peuvent être nécessaires pour que la colonisation des racines par le champignon mycorhizien arbusculaire ait lieu.

### **5.1.5- Vérification de la colonisation des racines par des champignons mycorhiziens**

#### **5.1.5.1- Coloration des racines mycorhizées**

La coloration des racines est une technique qu'on utilise pour voir si les racines des plantes qui ont été inoculées avec des champignons mycorhiziens sont colonisées.

#### **5.1.5.2-Matériels nécessaires et procédures**

##### **5.1.5.3- Matériels nécessaires pour la coloration des racines**

- ✓ Tubes résistant à la chaleur, brûleur de Bünsen, récipient métallique pouvant contenir l'eau, tamis, microscope et/ou binoculaire, boîte de pétri quadrillée, pince.
- ✓ Solution de KOH 50%, encre (Schaeffer skip), acide acétique 5% (vinaigre).

##### **5.1.5.4- Procédures à suivre pour colorer les racines**

La méthode de coloration des racines décrite ici est celle de Vierheilig et *al.* (1998). Cette coloration utilise l'encre noir en lieu et place du trypan bleu qui est cancérigène. Les étapes sont les suivantes.

- ✓ Préparer une solution encre-vinaigre avec 1 volume d'encre contre 19 volumes de vinaigre
- ✓ Produire une solution de KOH 10 % dans l'eau distillée.
- ✓ Récolter les racines de plantes hôtes de champignons AM suspectées d'être colonisées dans des pots ou en plein champ. Rincer soigneusement les racines sans en perdre ni les abîmer
- ✓ Transférer les racines dans des éprouvettes et couvrir ces racines de KOH 10 %, puis faire bouillir pendant 5 minutes. À noter que les racines très lignifiées peuvent prendre davantage de temps. Il faut donc faire bouillir jusqu'à rendre translucides les racines.

- ✓ Vider le contenu de l'éprouvette dans un tamis et rincer à l'eau courante.
- ✓ Remettre les racines rincées dans l'éprouvette et couvrir d'eau distillée, puis faire bouillir pour 3 minutes.
- ✓ Les racines sont alors prêtes à être colorées. Éliminer l'eau et couvrir les racines de la solution encre-vinaigre et faire bouillir pour 3 minutes.
- ✓ Éliminer la solution encre-vinaigre, rincer les racines à l'eau courante, puis couvrir de vinaigre et faire bouillir pour 3 minutes.
- ✓ Rincer les racines à l'eau courante et monter sur lame. On peut faire aussi des observations sous binoculaire
- ✓ Sur le binoculaire, on vérifie le niveau de colonisation des racines par le CMA. Pour ce faire, on utilise une boîte de pétri quadrillée dans laquelle on met les racines colorées, puis on procède au décompte.

#### **5.1.6- Propagation de racines transformées**

La propagation des racines transformées est une pratique nécessaire quand on veut isoler une souche ou une espèce de champignon mycorhizien arbusculaire. Dans la détermination de l'inoculum naturel de CMA en Haïti, il est essentiel de propager des racines transformées afin de pouvoir cultiver les différentes souches indigènes et procéder à leur identification. Des milieux de cultures spéciaux sont destinés à la propagation de racines transformées.

##### ***5.1.6.1-Milieux de culture nécessaire pour la propagation des racines transformées et la mycorhization.***

Le milieu dénommée milieu WM est le milieu nécessaire pour faire pousser les racines transformées sur boîte de pétri. Parallèlement, le milieu M est destiné à recevoir les racines transformées et les propagules de champignons mycorhiziens que l'on veut cultiver. Les réactifs à utiliser ainsi que leur concentration sont décrites en annexe.

##### ***5.1.6.1- Mode de préparation***

###### ***5.1.6.1.1- Matériel nécessaires:***

- ✓ Réactifs nécessaires pour produire les milieux M et WM ( annexe)
- ✓ Pétris de 100 mm bi-compartmentés (avec milieu M)
- ✓ Pétris de 150 mm standard, Pipettes sérologiques stériles avec filtre, pipetteur électrique
- ✓ plaque chauffante, bécher, pH mètre, autoclave

Pour le milieu M,

- Produire un volume de milieu M sans sucre et diviser celui-ci en deux. Une partie reçoit le saccharose et l'autre non.
- Ajuster au volume désiré et maintenir le pH à 5.5 avant d'ajouter l'agent gélifiant.
- Stériliser à l'autoclave [cycle liquide 20 minutes].
- Couler les milieux sous hotte à flux laminaire. Le compartiment recevant le milieu M avec saccharose est destiné à recevoir les racines. Celui sans sucrose sert au développement de la phase extra radicale du mycélium endomycorhiziens. La quantité de milieu coulé par compartiment doit être telle que celui-ci arrive à la limite du septum, de telle sorte que le champignon peut passer d'un compartiment à l'autre par un pont de gélose d'une épaisseur de moins d'un millimètre.
- On fait pousser le champignon sur la milieu WM avec les racines transformées, puis on transfère l'association sur la boîte de pétri bicompartimentée et dans la partie ayant reçu du sucre afin qu'on puisse avoir les hyphes et spores du champignon dans la partie qu'en a pas reçu.

Pour le milieu WM, seuls les macro éléments et la quantité de sucrose changent, les autres réactifs demeurent les mêmes. On procède de la même manière, mais on le fait couler sur boîte de pétri non cloisonnée.

## VI-Discussion

### 6.1- Adaptabilité/ utilisation des inoculants mycorhiziens arbusculaires en Haïti

Pratiquement la grande majorité des plantes terrestres forment des endomycorhizes arbusculaires (Plenchette, 1982). Ceci ne traduit pas forcément une réponse importante des plantes inoculées avec des champignons mycorhiziens arbusculaires (Strullu., 1991). Toutefois, les résultats de recherches de ces dernières années ont montré des augmentations significatives de rendements des cultures inoculées avec les champignons mycorhiziens arbusculaires. Cette augmentation passe par une amélioration de la nutrition minérale et hydrique ainsi qu'une réduction de l'incidence des maladies (racinaires en particulier). Néanmoins, dans certains cas les symbiotes fongiques peuvent se comporter en parasites et ne rendent aucun service aux plantes en retour du carbone reçu. Ainsi, des cas de non stimulation de croissance ont été obtenus avec l'utilisation d'une souche exotique de *Glomus mosseae* sur le mil (Plenchette., 2000).

Des études relatives à la détermination de l'inoculum fongique mycorhizien naturel dans les sols haïtiens n'ont pas encore eu lieu. Toutefois, cette analyse peut être faite à la FAMV au laboratoire de biotechnologie. Étant donné que les mycorhizes arbusculaires montrent une faible spécificité vis à vis des plantes hôtes et des régions climatiques, et en considérant les besoins urgents de l'agriculture haïtienne, l'introduction des champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'agriculture du pays peut être faite avec une souche exotique. Mais il est possible que des souches indigènes soient plus persistantes et plus performantes que celles introduites. De ce fait, il est nécessaire de faire des études pour déterminer l'inoculum fongique endomycorhizien des sols haïtiens même si l'on commence par utiliser des souches exotiques.

## VII- Conclusion et recommandations

### 7.1- Conclusion

Nombreuses sont les études qui ont montré l'importance des champignons mycorhiziens arbusculaires dans l'induction d'une meilleure performance des plantes. Les plantes mycorhizées ont montré de meilleures performances dans la lutte contre les stress biotique et abiotique et présente dans la plupart des cas, un rendement supérieur aux plants non inoculés ; que ce soit en région tropicale ou tempérée (Dalpé., 2005). Dans les sols où les apports en éléments fertilisants (en particulier le phosphore) sont faibles, on remarque des meilleurs effets des mycorhizes arbusculaires. Les sols tropicaux semblent dans ce cas bien aptes quant à l'utilisation des champignons mycorhiziens arbusculaires ( Fortin et *al.*, 2008). Haïti, en plus d'être un pays tropical, a été très limité quant à l'usage des engins lourds et d'intrants chimiques dans l'agriculture. Tout ces éléments nous permettent de dire que les champignons mycorhiziens arbusculaires sont théoriquement un atout pouvant contribuer au redressement de la situation agricole en Haïti. Cependant, des essais d'inoculation avec des inoculants mycorhiziens arbusculaires sont nécessaires pour pouvoir vérifier leur impact sur le terrain et valider leur utilisation. Dans cette optique, des compétences méthodologiques de manipulation des mycorhizes arbusculaires trouvent leur importance. Par rapport à tout cela, on dégage certains éléments de recommandations.

### 7.2- Recommandations

- Réaliser des essais d'inoculation avec des inoculants mycorhiziens arbusculaires en Haïti.
- Faire des recherches pour déterminer la flore mycorhizienne indigène d'Haïti.
- Intégrer les inoculants mycorhiziens dans les campagnes de reboisement dans le pays.
- Favoriser la formation des jeunes scientifiques dans ce domaine.

## VIII- Références bibliographiques

Bâ. A., Duponnois. R., Diabete. M et Dreyfus. B. 2011. les champignons ectomycorhiziens des arbres forestiers en Farique de l'Ouest: méthodes d'étude, diversité, écologie, utilisation en foresterie et comestibilité. IRD. 268p.

Brundrett M., N. Bougher, Dell B., T. Grove et Malajczuk N., 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture, Centre Australien de Recherches Internationales en Agriculture (ACIAR), 383 pages.

Brundrett, M. 1991. Mycorrhizas in Natural Ecosystems. Advances In Ecological Research Vol 21: 171-313.

Chaussod, R., Nouaïm, R., Breuil, M.C. et Boukcim, H. 1993. Effets du stress d'un sol d'arganeraie( Sud-Ouest marocain). Congrès Société Française de Phytopathologie, Dijon, 6-10/12/93.

Dalpe, Y. 2005. Les mycorhizes : un outil de protection des plantes mais non une panacée. Phytoprotection.86(1): 53-59.

Dexheimer, J. 1997. Étude structurale et fonctionnelle des interfaces entre le champignon et la plante-hôte. For. Fr. XLIX n°sp. 1997. 14p.

Dianda, M. 1991. Comparaison des effets de champignons V.A. introduits et indigènes associés ou non à Bradyrhizobium, sur la la croissance d'Acacia albida. Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi- arides. John Libbey Eurotext (Paris): 263-269.

Diop, I., Kane, A., Krasova- Wade, T., Sanon, K.B., Houngnandan, P., Neyra, M. et Noba, K. 2013.Impacts des conditions pédoclimatiques et du mode cultural sur la réponse du niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp.) à l'inoculation endomycorhizienne avec *Rhizophagus irregularis*. Journal of Applied Biosciences 69: 5465 – 5474.

Fortin, J.A., Charest, C. et Piché, Y. 1995. La symbiose mycorhizienne: état des connaissances. ORBIS publishing. Québec ( Canada). 195 p.

Fortin, J.A., Plenchette, C. et Piché, Y. 2008. Les mycorhizes: la nouvelle revolution verte. MultiMondes. Quebec ( Canada). 138 p.

Gosling, P., A. Hodge, G. Goodlass and G.D. Bending, 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 113:17-35

Gosselin, L. et Dechamplain, N. 2002. Les champignons mycorhiziens. Centre de recherche en biologie forestière. 12p.

Handley, L.L., Daft, M.J., Wilson, J., Scrimgeour, C.M., Ingleby, K. et Sattar, M.A. 1993. Effects of the ecto- and VA-mycorrhizal fungi *Hydnangium carneum* and *Glomus clarum* on the  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values of *Eucalyptus globulus* and *Ricinus communis*. *Plant, Cell and Environment*, 16 : 375-382.

Haougui, A., Souniabe, P.S., Doumma, A. et Adam, T. 2013. Evolution des populations des champignons endomycorhiziens sur les adventices de quatre sites maraîchers de la région de Maradi au Niger. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7(2): 554-565.

Hijri, I., Sykorová, Z., Oehl, F., Ineichen, K., Mäder, P., Wiemken, Et Redecker D. 2006. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity *Molecular Ecology*. 15 : 2277–2289

Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Nchausti, P.I., Lavorel S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä H., Symstad A.J., Vandermeer J., et Wardle D.A. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*. 75(1): 3–35

Kapulnik, Y. et Douds, D. D. jrs., 2000. *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and function*. 1<sup>er</sup> ed. Netherlands ( USA): Kluwer Academic Publisher. 372p.

Koltai, H. et Kapulnik, Y. 2010. *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. 2<sup>e</sup> ed. London ( NY). Springer. 323p.

Larsen, J. et Bodker, L. 2001. Interactions between pea root-inhabiting fungi examined using signature fatty acids. *New Phytologist*. 149: 487- 493.

Le Tacon, F., T. Le Tacon, V. Mauron, Y. Rousseau, M. Backer and D. Bouchard, 1999. Fertilisation raisonnée et mycorhize. 4<sup>ème</sup> rencontre de la fertilisation raisonnée. Blois, novembre-décembre 1999, pp 211-222

LeQuéré et Kerr., 2011. Évaluation l'effet de l'inoculation mycorhizienne sur le rendement du soya ( *Glycine max* ). *Ecologistics Research Services* , ON. Premier Tech Biotechnologies.

Lerat, S., Lapointe, L., Piché, Y. et Vierheilig, H. 2003. Variable carbon-sink strength of different *Glomus mosseae* strains colonizing barley roots. *Can. J. Bot.* 81: 886–889.

Martin, T. et André-Rioux, J. 2012. Utilisation de champignons endomycorhiziens arbusculaires dans la production de la pomme de terre: Québec. Fédération des Producteurs de Pommes de terre du Québec. 58p. Québec. rapport du projet 11-C-111.

Nouaim, R. et Chaussod, R. 1996. Rôle des mycorhizes dans l'alimentation hydrique et minérale des plantes, notamment des ligneux de zones arides. *Cahiers Options Méditerranéennes*. 20 : 9-26.

Nwaga, D., Angue, A.M et Frossard, E. 2010. The Potential of Soil Beneficial Micro-Organisms for Slash-and-Burn Agriculture in the Humid Forest Zone of Sub-Saharan Africa. Dans *Soil Biology: Soil Biology and Agriculture in the Tropics*. P. Dion (éd). Université Laval. p. 81-107.

Planchette, C. 1982. Recherches sur les endomycorhizes à vésicules et arbuscules: influences de la plante hôte, du champignon et du phosphore sur l'expression de la symbiose endomycorhizienne. 190 p. Thèse (Ph.D.), Faculté de foresterie et Géodesie, Université Laval, Québec.

Planchette, C., A. Fortin and V. Furlan, 1983. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil* 70:199-209.

Planchette, C., Bois, J.F., Duponnois, R. et Cadet. P. 2000. La mycorhization ( *Glomus aggregatum*) du mil ( *Penisetum glaucum*). *Études et Gestion des sols*: 379-384.

Podila, G. P. et David, D. D. J. 2000. *Current Advances in Mycorrhizae Research*. APS Press. Minnesota ( USA). 193p.

Schüßler, A., Schwarzott D., Walker, C., 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105, 1413-1421

Sharma, A. K. et Johri, B.N. 2002. *Arbuscular Mycorrhizae: Interactions in Plants, Rhizosphere and Soils*. Sciences Publishers. Enfield (USA). 311p.

Smith, S.E et Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. 3<sup>e</sup> ed. New-York : Academic press is an imprint of Elsevier. 507p.

Smith, S.E., Jakobsen, I., Gronlund, M et Smith F.A. 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.

St-Arnaud, M., Hamel, C., Caron, M et Fortin, J.A. 1997. Endomycorhizes VA et sensibilité des plantes aux maladies: synthèse de la littérature et mécanismes d'interaction potentiels. Dans la symbiose mycorhizienne: état des connaissances. Fortin, J.A., Charest, C et Piché, Y (éd). Orbis publishing. p. 51-87.

Strullu, D.G. 1991. Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées. Collection Tec. & Doc., Lavoisier, Paris, 250 pages

Fulton, S. M. 2011. Mycorrhizal Fungi: Soil, Agriculture and Environmental Implications. Nova Science Publishers. New York (USA). 261p.

Tahat, M.M., Sijam, K et Othman, R. 2006. Mycorrhizal fungi as biocontrol agent. *Plant Pathol. Journ.*, 9: 198-207.

Tommerup, I.C et Kidby, D.K. 1980. Production of Aseptic Spores of Vesicular-Arbuscular Endophytes and Their Viability After Chemical and Physical Stress. *Appl. environ. Microbiol.*, 39: 1111-1119.

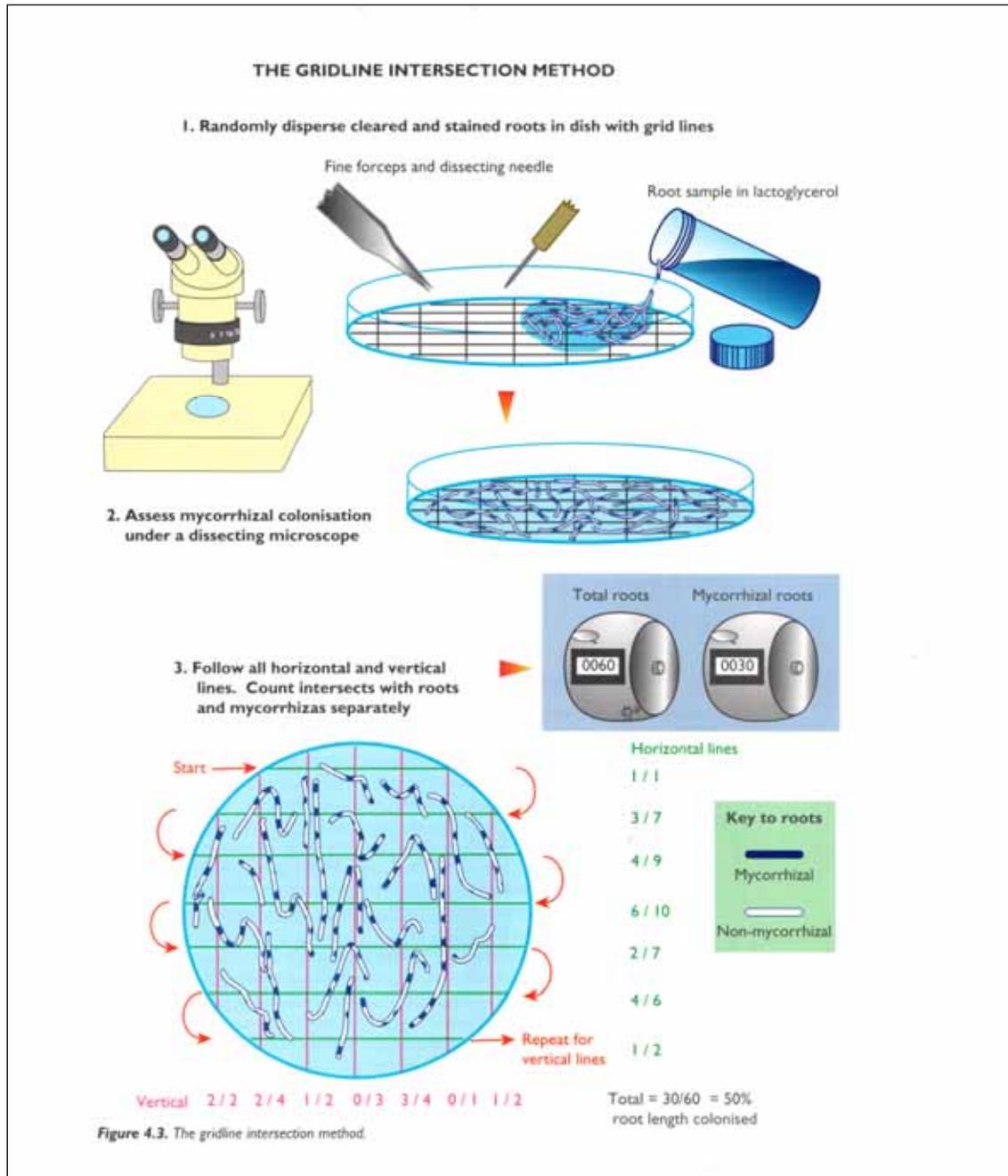
Uphoff, N., Ball, A.S., Fernanades, E., Herren, H., Husson, O., Laing, M., Palm, C., Sanchez, P., Sangiga, N. et Thies, J. 2006. Biological approaches to sustainable soils systems. CRC Press. 764 p.

Varma, A. et Kharkwal, A. C. 2009. *Soil Biology*. 18<sup>e</sup> ed. London ( NY): Symbiotic Fungi. Principles et Pratique. Springer. 430p.

Zougari-Elwedi, B., Sanaa, M., Labidi, S. et Sahraoui, A.L.H. 2012. Évaluation de l'impact de la mycorhization arbusculaire sur la nutrition minérale des plantules de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L. var. Deglet Nour). *Étude et Gestion des sols*. 19: 193-202.

**XI-Annexe**

**Annexe 1: Illustration schématique de la détermination du niveau de colonisation des racines par les champignons mycorhiziens arbusculaires. Adapté de Brundrett et al. ( 1996)**



Annexe 2: Concentration des réactifs à utiliser dans la préparation du Milieu de culture  
M.

Réactif	Concentration finale (mg/L)	Facteur de concentration de la solution stock	Concentration solution stock (g/L)
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	731	10 X	7,31
KNO <sub>3</sub>	80		0,8
KCL	65		0,65
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4,8		0,048
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> *4H <sub>2</sub> O	288		2,88
NaFeEDTA	8	200 X	1,6
KI	0,75	1000 X	0,75
MnCl <sub>2</sub> *4H <sub>2</sub> O	6	1000 X	6
ZnSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	2,65		2,65
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,5		1,5
CuSO <sub>4</sub> *5H <sub>2</sub> O	0,13		0,13
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O	0,0024		0,0024
Glycine	3	100 X	0,3
Thiamine HCL	0,1		0,01
Pyridoxine HCL	0,1		0,01
Acide nicotinique	0,5		0,05
Myo-inositol	50		5

Annexe 3-Concentration des macroéléments dans le milieu WM.

40

Réactif	Concentration finale (mg/L)	Facteur de concentration de la solution stock	Concentration solution stock (g/L)
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	731	10 X	7,31
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> *10H <sub>2</sub> O	453		4,53
KNO <sub>3</sub>	80		0,8
KCL	65		0,65
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4,8		0,048
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> *4H <sub>2</sub> O	288		2,88