

Analyse exploratoire de sol et racines de *Eucalyptus maideni*, *Casuarina equisetifolia*, *Grevillea robusta* et *Cymbopogon citratus* pour la détection des champignons mycorhiziens au laboratoire

Auteurs :

1. KIRONGU SHEMUMPUNGE Gentil : Tel. +243, Assistant du premier mandat à mandat à l'Institut Supérieur de Développement Rural de Walikale, ISDR - WALIKALE, Nord Kivu – RDC ;
2. MASUMBUKO MBOKANI Jonas : jonasmbokani0@gmail.com, Tel. +243971242724, Assistant du premier mandat à l'Institut Supérieur de Développement Rural de Masisi, ISDR - Masisi, Nord Kivu - RDC.
3. MUISA SHARUSIMBA Luc: sharusimbalmuisa@gmail.com, Tel. +243811207365, Assistant du second mandat à l'Institut Supérieur de développement Rural de Walikale, ISDR - WALIKALE, Nord Kivu – RDC ;

RESUME

Une des solutions les plus prometteuses pour la restauration écologique des milieux dégradés, mais aussi pour l'agriculture, est l'utilisation des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA). En effet, ces champignons permettent de conférer aux plantes une meilleure nutrition minérale et une tolérance aux stress biotiques et abiotiques du milieu.

L'étude réalisée ici part de l'hypothèse selon laquelle il existerait des champignons mycorhizien sur les racines de *Eucalyptus maideni*, *Casuarina equisetifolia*, *Grevillea robusta* et *Cymbopogon citratus*.

Après analyse au laboratoire des échantillons de sol et de tissus végétaux de *Eucalyptus maideni*, *Casuarina equisetifolia*, *Grevillea robusta* et *Cymbopogon citratus*, nous avons constaté la présence de champignons mycorhiziens excepté pour *Cymbopogon citratus*.

I. INTRODUCTION

Le lien étroit qui existe entre le niveau de consommation d'engrais d'un pays et sa productivité agricole ne fait aucun doute. En effet, les niveaux de rendement sont en général plus élevés dans le pays où la consommation d'engrais est forte (Marot *et al.*, 2008). On se rend compte aujourd'hui qu'il est plus avantageux pour les pays en développement d'importer des quantités d'engrais afin de relever les niveaux de rendement de leurs cultures plutôt que de devoir acheter des céréales sur les marchés

internationaux pour combler les déficits alimentaires. Le recours aux engrais malgré leurs impacts négatifs sur l'environnement est donc un facteur clé de la modernisation de l'agriculture des pays en développement.

Maintenir la productivité des cultures par une agriculture qui substitue l'utilisation d'intrants chimiques par la mobilisation de processus biologiques est au cœur des enjeux de la recherche agronomique actuelle pour inverser la tendance. En effet, l'agriculture intensive qui se caractérise par un apport important d'intrants a montré ses limites : Pollution des sols et de l'eau, apparition de pathogènes résistants aux pesticides, risque pour la santé des agriculteurs ou encore fragilisation des écosystèmes. Des réglementations sont aujourd'hui mises en place pour limiter l'utilisation de ces intrants. L'agriculture se tourne de plus en plus vers une intensification écologique qui s'appuie sur la favorisation des mécanismes écologiques par des pratiques telles que la rotation culturale, l'association culturale ou encore la lutte biologique (Dalpé, 2005 et Aubertot *et al.*, 2005).

La gestion rationnelle des ressources naturelles est devenue une préoccupation des pouvoirs et du public compte tenu des méfaits d'une mauvaise gestion sur l'environnement au niveau global et local. Suite à la prise de conscience de cette menace qui pèse sur notre planète, plusieurs sonnettes d'alarmes retentissent à travers le monde sur les risques et le rythme de dégradation des forêts tropicales (Fortin *et al.*, 2008).

Les évolutions réglementaires de ces années, tel que le plan Ecophyto en France, marquent la volonté de réduire l'utilisation des produits phytosanitaires (Aubertot *et al.*, 2005) de plus, la nécessité de trouver des solutions face au changement climatique (notamment sur la gestion des ressources hydriques), positionnent naturellement les mycorhizes aux professionnels du paysage et des espaces verts ainsi qu'à ceux de la production végétale (pépiniéristes, horticulteurs). Tout en diversifiant sa gamme de produits, le but est de rendre efficace et rationnelle l'utilisation des mycorhizes, de la promouvoir auprès des utilisateurs et de développer de nouvelles solutions d'application. (Gagné *et al.*, 2010).

Ainsi, pour nous rassurer de la disponibilité des champignons mycorhiziens locaux dans notre région, nous avons préconisé analyser les sols avec racines de quelques des plantes du milieu. C'est ainsi que ; nous avons effectué une étude exploratoire sur un sol volcanique en R.D.Congo, dans la province du nord Kivu, aux environs de la ville de Goma précisément à Mugunga dans le quartier Lac vert.

L'objectif de cette étude est de faire l'analyse exploratoire de sol et racines de l'*Eucalyptus maideni*, *Casuarina equisetifolia*, *Grevillea robusta* et *Cymbopogon citratus* pour la détection des champignons mycorhiziens au laboratoire.

Pour bien aborder cette étude l'investigation va répondre à la question de savoir s'il existe des champignons mycorhizien sur les racines des ces plantes cites ci-haut?

Nous partons de l'hypothèse selon laquelle il existerait des champignons mycorhizien sur les racines de l'*Eucalyptus maideni*, *Casuarina equisetifolia*, *Grevillea robusta* et *Cymbopogon citratus*.

II. APPROCHE METHODOLOGIQUE

II.1. MILIEU EXPERIMENTAL.

L'essai a été conduit à l'ouest de la ville de Goma, sur la route Goma Sake côté gauche, dans le quartier Mugunga à 10 km de la ville de Goma. La présente étude a été menée du 10 mars au 23 juin 2022, précisément dans le quartier Lac vert qui se situe à 1.463 mètres d'altitude, à 1° 36 minutes de latitude Sud et 29° 12 minutes de longitude Est. La figure 1 ci-dessous illustre le milieu sous étude.

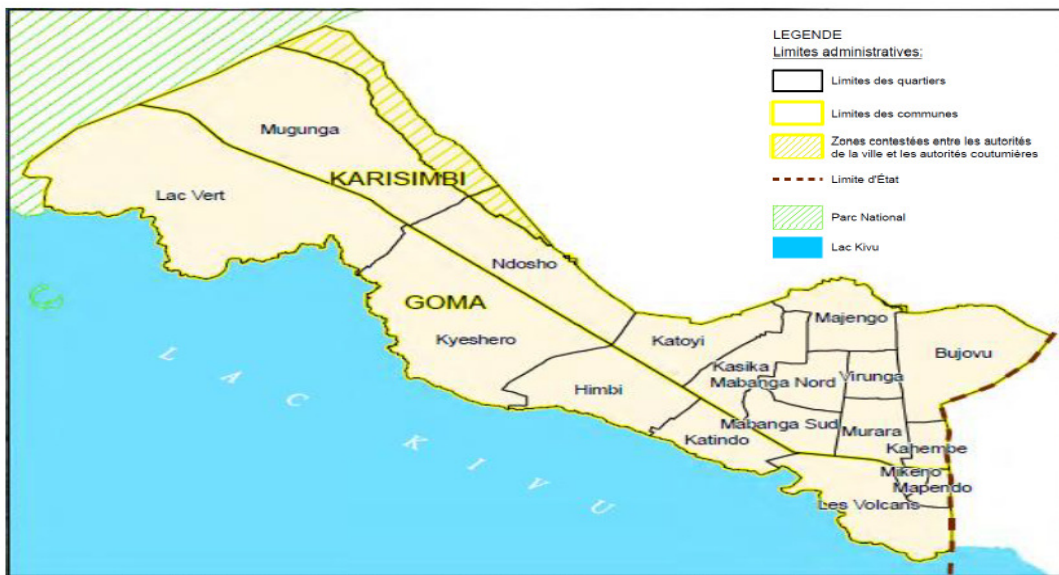


Figure 1 : La Carte géographique de Goma (Musé royal de l'Afrique centrale, 2016) :

- **Conditions climatiques**

La moyenne des précipitations totale durant les six mois au cours desquels l'essai a été réalisé était de 60,56 mm, la moyenne de température maximale est de 28,38°C et la température minimale étant de

14,68° Celsius. Les données climatiques qui ont caractérisé le milieu durant la période de l'essai sont reprises dans le tableau ci-dessous. Données enregistrées par la station météorologique digitale de l'OVG élevée à : 1.534 m ; 1° 36' S ; 29° 12' E.

Tableau 1 : Donnés pluviométriques durant la période de l'essai 2022

MOIS	T° maximale en (°C)	T° Minimale en (°)	Précipitation (mm)
Février	27,5	15,6	89,6
Mars	28,4	13,7	98,2
Avril	28,6	15,3	98,4
Mai	28,6	15	53,4
Juin	28,4	14,2	5,8
Juillet	28,8	14,3	18
TOTAUX	170,3	88,1	363,4
Moyenne	28,38	14,68	60,56

Source : Muhindo (2015)

- **Sol Et Végétation**

Les sols de Goma sont des sols minéraux sans aucun développement de profil et sans horizon A₁ bien différencié. Ce sont des sols minéraux bruts sur laves, observés dans la région des volcans, au Nord du lac Kivu. Les coulées anciennes des laves sont couvertes d'une forêt, présentent déjà une accumulation de matières organiques, dans laquelle on peut différencier un horizon A₀₀ et A₀₁ sans qu'un horizon A₁ bien différencié ait pu s'implanter dans la matière minérale (INEAC, 1960).

II.2. METHODOLOGIE

- **Prélèvement des échantillons**

Les échantillons ciblés ont été des plantes isolées des autres et avons eu à prélever 6 échantillons de sols et racines aux pieds l'*Eucalyptus maideni*, *Casuarina equisetifolia*, *Grevillea robusta* et *Cymbopogon citratus*. Les échantillons ont été conservés dans des sachets et maintenus ouverts pour garder son état initial. La surface de prélèvement était de l'ordre de 0,5 à 1m². Prélever des sols et racines fines sur toutes les parcelles avant la mise en culture et après la récolte de la culture et conserver ces prélèvements pour évaluer le niveau de prolifération de mycorhizes au laboratoire. Ces sols d'échantillons étaient gardés à l'air libre.

- **Les analyses au laboratoire pour la détection des champignons mycorhiziens.**

Les analyses ont été effectuées au laboratoire Ami-Labo de Goma. Elles ont porté sur différentes étapes dont : La microscopie à frais, La coloration GRAM et L'isolement des champignons sur le milieu *Sabouraud* + Chloramphénicol.

1° La microscopie à frais

But : Ces analyses visaient à détecter les champignons mycorhiziens, les parasites et les levures dans les échantillons prélevés.

Mode opératoire :

- Prélever 100 grammes de sol et racines du mélange ;
- Mélanger avec l'eau distillée dans un bécher ;
- Laisser reposer la solution pendant 10 minutes ;
- Prélever 40µl (micro litre) du mélange et mettre sur la lame ;
- Couvrir l'échantillon par la lamelle ;
- Mise au point de l'objectif x10 puis à l'objectif 40
- Observation (lecture) au microscope pour détecter la présence des champignons et des parasites.

2° Coloration Gram

But : Rechercher les bactéries gram positif et les bactéries gram négatives

Mode opératoire :

- ✓ Sur une lame propre et dégraissée, déposer une goutte échantillon,
 - À l'aide d'une pipette pasteur sécher puis fixer à la chaleur douce ;
- ✓ Couvrir la préparation avec le violet de Gentiane pendant une minute ;
 - Ce réactif a pour rôle de colorer toutes les bactéries en violet
- ✓ Rincer à l'eau de robinet ;
- ✓ Couvrir la lame avec le lugol pendant une minute qui viendra renforcer la première coloration
- ✓ Rincer à l'eau de robinet
- ✓ Couvrir la préparation avec l'alcool acétone laissé reposer pendant une minute
 - Son rôle c'est décolorer toutes les bactéries gram négatives
- ✓ Rincer à l'eau de robinet ;

- ✓ couvrir la préparation avec la Fuchisine basique ou safranine pendant une minute ce réactif a pour rôle de colorer les bactéries qui ont été décoloré ^par l'alcool acétone en rose ;
- ✓ Rincer à l'eau de robinet puis sécher à l'air libre ;
- ✓ Lire au microscope avec l'objectif à immersion ou 100X

Il est à noter que les champignons après coloration se comportent comme les grams positif c'est - à-dire ils prennent la coloration violette.

3° Isolement des champignons sur le milieu sélectif *Sabouraud* + Chloramphénicol

But : Rechercher les champignons mycorrhisiens vivant en symbiose avec les arbres ci- haut ciblés.

Description du Milieu *sabouraud* et préparation

Milieu *sabouraud* au chloramphénicol

➤ Composition du milieu :

- Agar = 15 g / L
- Mycological, peptone = 10 g / L
- pH = 5,6
- Chloramphénicol = 40 g / L

➤ Préparation :

- Dissoudre 65 g de poudre du milieu dans 1000 ml d'eau distillée ;
- Mélanger et chauffer en agitant jusqu'à la dissolution complète ;
- Stériliser à l'Autoclave à 121° C pendant 15minutes ;
- Ne pas manger ;
- Laisser refroidir entre 45 à 50 °C enfin
- Couler dans les boites de pétries en respectant les règles d'aseptie et antiseptie au laboratoire

Mode opératoire.

- A l'aide d'une anse de platine, ensemer en strie l'échantillon sur le milieu *Sabouraud* + Chloramphénicol ;
- Incuber à 37°C pendant 24h ;
- Retirer les boites de pétri dans l'incubateur

- Vérifier s'il y a eu pousse si oui continue avec les analyses si non reincuber encore pendant 24h voire 48 H
- S'il y a eu pousse, prélever une colonie d'aspect claire et huile à l'aide de l'anse de platine pour passer au test de confirmation qui est celle de filamentation
- Test de filamentation qui consiste à prélever la colonie (ose) suspecte est mélangé avec le sérum et incubé à 37 ° C pendant 3heures. Ensuite on effectue un montage d'état frais afin de rechercher de tubes germinatifs caractéristiques de champignons

II. EXPRESSION DE RESULTATS ET DISCUSSIONS

II.1. Les résultats de l'étude exploratoire au laboratoire.

A l'issue des analyses effectuées au laboratoire Ami-Labo, nous avons trouvé les résultats ci-après :

Tableau 2: Résultat de laboratoire

Nom de l'échantillon	Résultat à frais	Résultat après coloration	Après culture	Test filamentation
<i>Eucalyptus maideni</i>	Présence de larve d'anguille et des champignons	Présences de filaments mycéliens	Colonie suspecte des champignons	Présences du tube germinatif
<i>Casuarina equisetifolia</i>	Présence des champignons	Présences de filaments mycéliens	Colonie suspecte des champignons	Présence du tube germinatif
<i>Grevillea robusta</i>	Présence des champignons	Présence de filaments mycéliens	Colonie suspecte des champignons	Présence du tube germinatif
<i>Cymbopogon citratus.</i>	Négatif	négatif	négatif	négatif

(Source) : Nos analyses au laboratoire Ami – Labo, 2022.

Les résultats de ce tableau montrent que sur 6 échantillons des sols qui ont été analysés, 5 ont été positifs à la microscopie à frais, après coloration, après culture et après le test de filamentation et 1 échantillon a été révélé négatif en toutes les étapes.

III. DISCUSSION DES RESULTATS

Après analyse au laboratoire des échantillons de sol et de tissus végétaux de l'*Eucalyptus maideni*, *Casuarina equisetifolia*, *Grevilea robusta* et *Cymbopogon citratus*, nous avons constaté la présence de champignons mycorhiziens excepté pour *Cymbopogon citratus*.

Ces résultats corroborent ceux de plusieurs chercheurs comme Dexheimer *et al.* (1994) qui ont mené une étude sur la mycorhization par *Pisolithus tinctorius* de pivots de plantules d'*Eucalyptus globulus* développées en clinostat. Contrairement aux pivots verticaux de plantules développées dans des conditions normales, ces pivots sont fortement colonisés. Le champignon édifie une ectomycorhize avec un manteau dense et des structures intercellulaires massives équivalentes d'un réseau de Hartig. Des perturbations physiologiques, conséquences de la modification de la croissance du pivot, seraient à l'origine de l'aptitude à la mycorhization.

Mousain *et al.* (1994), montrent que dans la région méditerranéenne, les fortes contraintes édaphiques, climatiques et économiques contribuent à l'aggravation de la crise de transplantation des arbres juvéniles. L'utilisation de la mycorhization contrôlée représente un des moyens susceptibles d'atténuer les effets de cette crise en améliorant la qualité des plants forestiers produits en pépinière et celle des reboisements.

Pour Njeru *et al.* (2013), les taux de colonisation observés chez le couvert constitué de moutarde sont faibles. De plus, les observations sont toutes groupées de manière plus dense autour de zéro par rapport aux observations réalisées sur les traitements "5 et 10 espèces". Le potentiel de mycorhization du sol a diminué de 56,5% après une culture de moutarde indienne (*Brassia juncea* L. Czern.). Ceci s'explique par la libération de composés chimiques biotoxiques dans le sol, comme les isothiocyanates, issus de la dégradation des glucosinolates. Koide et Peoples (2012) ont également démontré qu'une culture de colza (*Brassica napus*) précédant une culture de maïs a diminué les taux de colonisation.

IV. CONCLUSION

La tolérance des plantes au stress environnementaux exige des changements morphologiques (longueur des feuilles et des racines, ainsi que leur poids et leur matière sèche) et métaboliques, tel que la sécrétion des molécules osmo-protectrices (la proline et les sucres solubles). La plante profite des associations symbiotiques avec les différents microorganismes de la rhizosphère dont les champignons mycorhiziens arbusculaires, pour déclencher les mécanismes de défense et assurer le fonctionnement racinaire normale contribuant ainsi aux bons développements et croissance des plantes sous divers

stress environnementaux. Ainsi une étude portant sur l'analyse exploratoire de sol et racines de l'*Eucalyptus maideni*, *Casuarina equisetifolia*, *Grevillea robusta* et *Cymbopogon citratus* pour la détection des champignons mycorhiziens a été réalisé au laboratoire à Goma.

Après analyse au laboratoire des échantillons de sol et de tissus végétaux de l'*Eucalyptus maideni*, *Casuarina equisetifolia*, *Grevillea robusta* et *Cymbopogon citratus*, nous avons constaté la présence de champignons mycorhiziens capable d'enter en association avec les cultures pour le trois premières espèces excepté pour *Cymbopogon citratus*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Aubertot, J. N., Barbier, J. M., Carpentier, A., Gril, J. N., Guichard, L., Lucas, P., ... & Voltz, M. (2007). *Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Expertise scientifique collective Inra-Cemagref (décembre 2005)* (pp. 120-p). Quae.
2. Dexheimer, J., Gérard, J., & Genet, P. (1994). Etude des modalités de la mycorhization de pivots d'Eucalyptus globulus développés en clinostat. *Acta botanica gallica*, 141(4), 511-516.
3. E. M. Njeru, L. Avio, C. Sbrana, A. Turrini, G. Bocci, P. Bàrberi, and M. Giovannetti. First evidence for a major cover crop effect on arbuscular mycorrhizal fungi and organic maize growth. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(4) :841848, 2014.
4. Gagné S. et McNicoll H., (2010) : Les inoculants mycorhiziens. Une nouvelle technologie au service de l'agriculture. Journée d'information scientifique sur les grandes cultures Québec. p22.
5. INEAC, 1960. *Carte des sols et de la végétation du Congo Belge et du Ruanda-Urundi*, note explicative, Bruxelles.
6. J. Fortin, (2015) : Les mycorhizes : l'essor de la nouvelle révolution verte, Multi Mondes.
7. Marot J., Rigo V., Fautre H. & Bragard C., (2008) : Contribution à l'actualisation des indicateurs de l'état de l'environnement wallon relatifs à l'utilisation des produits phytopharmaceutiques. *Unité de phytopathologie (FYMY), Université catholique de Louvain, Belgique*.
8. Mousain, D., Plassard, C., Argillier, C., Sardin, T., Leprince, F., El Karkouri, K., ... & Cleyet-Marel, J. C. (1994). Stratégie d'amélioration de la qualité des plants forestiers et des reboisements méditerranéens par utilisation de la mycorhization contrôlée en pépinière. *Acta botanica gallica*, 141(4), 571-580.

9. Muhindo M., 2015. « Contextes géomorphologique et structural du cône volcanique du Lac vert » in : *Annales de l'Unigom*, Volume V(2) : 385-393
10. Musée royal de l'Afrique centrale, 2016 : *Carte géographique de Goma*.
11. R. T. Koide and M. S. Peoples. On the nature of temporary yield loss in maize following canola. *Plant and Soil*, 360(1-2) :259269, 2012.