

Mycorhization précoce et croissance de deux types de matériel végétal de plantain (*Musa AAB*)

Roger Fogain, Soule Njifenjou, Moïse Kwa, Stéphane Declerck, Justin Lowe

Les bananes et plantains constituent une source de devises et fournissent des aliments de base pour les populations du Cameroun, avec une production annuelle de 1 000 000 de tonnes de plantains et près de 700 000 tonnes de bananes dessert [1]. Cette culture, bien qu'en nette expansion, est soumise à de nombreuses contraintes abiotiques et biotiques qui peuvent, par ailleurs, être exacerbées par le manque de matériel de plantation de qualité.

Des techniques de multiplication de bananiers *in vitro* et *in planta* ont été développées dans le but de mettre à la disposition des planteurs du matériel végétal homogène indemne de parasites et ravageurs. Ces vitroplants ou plants issus de fragments de tige (PIF) sont dépourvus des symbiotes naturels que sont les champignons mycorhiziens à

arbuscules (MA). Ces micro-organismes forment à l'état naturel une association symbiotique avec les racines des végétaux. Dans cette symbiose, qui se traduit par l'apparition d'organes mixtes mycélium-racine appelés mycorhize, le champignon MA permet à la plante de mieux assimiler le phosphore et d'autres éléments nutritifs [2]. Il en résulte des gains de biomasse souvent importants. Les plants produits *in vitro* à partir de cultures de méristèmes ou *in planta* à partir des fragments de tige sont dépourvus de ces symbiotes qui peuvent cependant être réintroduits pendant la phase de sevrage avant la transplantation au champ [3], augmentant de la sorte leur croissance [4] ainsi que leur tolérance aux stress biotiques [5] et abiotiques [6]. Ce travail évalue la possibilité d'une mycorhization précoce de PIF et de vitroplants de plantain c.v. Bâtard (AAB, sous-groupe plantain) et mesure l'effet de cette mycorhization sur la croissance des plants.

réalisée à partir de fragments de tige. La souche de champignon MA du genre *Glomus* utilisée au cours de nos expériences a été initialement isolée de la rhizosphère de plantains au Cameroun. Le champignon MA a été piégé, à partir du sol naturel, sur poireau (*Allium* sp.) et niébé (*Vigna* sp.). Des spores de même morphotype ont ensuite été multipliées sur le système racinaire du niébé en pot sur substrat sableux et sous ombrière (température et humidité ambiantes, arrosage à l'eau de pluie) pour la production d'inoculum. Après six mois de culture, le substrat contenant les propagules (spores, racines mycorhizées, mycélium extraracinaire) du champignon MA a été utilisé comme inoculum pour mycorhizer les plants de bananier. Chaque plant, au stade sevrage, a reçu 10 g d'inoculum déposé entre deux couches de sable stérilisé dans des pots de 200 ml environ. Les plants témoins n'ont pas reçu d'inoculum. Pendant le sevrage, d'une durée de 45 jours, chaque plant a reçu 100 ml d'une solution nutritive constituée en macroéléments (mM) : Ca(NO₃)₂, 0,9 ; CaSO₄, 0,05 ; CaCl₂, 0,05 ; KCl, 0,5 ; K₂SO₄, 0,25 ; MgCl₂, 0,05 ; MgSO₄, 0,05 ; NH₄Cl, 0,1 ; (NH₄)₂SO₄, 0,05 ; NaH₂PO₄, 0,05 ; et en microéléments (μM) FeEDTANa, 80 ; H₃BO₃, 80 ; ZnSO₄, 0,8 ; CuSO₄, 0,8 ; (NH₄)₆Mo₇O₂₄, 5,6 ; MnCl₂, 8 [6]. Un mois et demi après l'inoculation, les plants sont transférés dans des sachets de 2,5 l préalablement remplis avec un substrat constitué d'un mélange de sol volcanique et de parche de café (stérilisé pendant 24 h à 100 °C) en proportions égales.

R. Fogain, M. Kwa, J. Lowe : CRBP (Centre régional de recherches sur bananiers et plantains), BP 832 Douala, Cameroun.

S. Njifenjou : Faculté d'agronomie et des sciences agricoles, Université de Dschang, BP 222 Dschang, Cameroun.

S. Declerck : Université catholique de Louvain, Mycothèque de l'Université catholique de Louvain (MUCL¹), Unité de microbiologie, 3, place Croix du Sud, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgique. <declerck@mbia.ucl.ac.be>

Tirés à part : S. Declerck

Thèmes : Physiologie végétale.

Matériel et méthode

Deux types de matériel végétal du cultivar Bâtard ont été utilisés. Le premier type correspond à des vitroplants multipliés à partir de méristèmes d'apex mis en culture sur le milieu Murashige et Skoog (MS) [7]. Le second type de matériel végétal provient de la multiplication *in planta*

¹ Partie de la Belgian Co-ordinated Collections of Microorganisms (BCCM).

Le plan expérimental comporte quatre traitements : PIF mycorhizés ; PIF non mycorhizés ; vitroplants mycorhizés ; vitroplants non mycorhizés. Chaque traitement se compose de 10 répétitions dans un dispositif de type blocs randomisés. Deux groupes de 10 bananiers (PIF mycorhizés et vitroplants mycorhizés) sont incorporés dans le dispositif expérimental pour les mesures de colonisation racinaire en fin de phase de sevrage. Les données ont été analysées par la méthode d'analyse de variance avec le logiciel STAT-ITCF et les moyennes ont été séparées par le test de Newman-Keuls au seuil 5 %.

En fin de phase de sevrage, la colonisation racinaire par le champignon MA est mesurée sur les deux groupes de 10 plants. Des racines sont prélevées et éclaircies au KOH (10 %) pendant 30 min, puis rincées à l'eau de conduite avant d'être trempées dans un mélange de bleu trypan-lactophénol 0,1 % pendant 15 min. Les racines sont à nouveau rincées à l'eau et 30 radicules (\pm 10 mm de long) sont prises au hasard puis disposées entre lame et lamelle pour l'observation microscopique. La fréquence (% F) de mycorhization (nombre de racines mycorhizées par rapport au nombre observées) est ensuite déterminée.

Des mesures végétatives (hauteur, circonférence, nombre de feuilles émises et surface foliaire) sont faites en fin de phase de sevrage (45 jours) et en fin d'expérience (3 mois). La hauteur est estimée depuis la base du bulbe jusqu'au point de croisement des deux dernières feuilles déroulées. La circonférence est prise à mi-longueur du pseudo-tronc, tandis que la surface foliaire est calculée selon la formule L

(longueur) \times l (largeur) \times 0,7 [8]. La colonisation racinaire par le champignon MA est mesurée en fin d'expérience suivant la méthode décrite ci-dessus.

Résultats

En fin de sevrage, les plants mycorhizés, PIF et vitroplants, ont en moyenne des circonférence, hauteur, surface foliaire et nombre de feuilles émises supérieurs à ceux des plants non mycorhizés (tableau). Ces différences ne sont significatives que pour la surface foliaire des PIF, et pour la hauteur et la surface foliaire des vitroplants. Trois mois après l'inoculation, des différences significatives sont enregistrées entre plants mycorhizés et non mycorhizés pour l'ensemble des paramètres de croissance observés (tableau). La circonférence et la hauteur des plants ont augmenté respectivement de 75 et 85,7 % sur PIF et de 28,9 et 75,8 % sur vitroplants. Un gain de 2,8 feuilles par vitroplant et 3,2 feuilles par PIF a été noté pour les plants mycorhizés par rapport aux plants non mycorhizés. La surface foliaire est accrue de 2,5 fois chez les plants mycorhizés (vitroplants ou PIF) par rapport aux plantes non mycorhizés. De même, la masse racinaire des PIF mycorhizés et celle des vitroplants mycorhizés ont respectivement augmenté de 117 et 45 % par rapport aux matériels correspondants non mycorhizés (tableau). Une bonne mycorhization (46 %) des plants inoculés (PIF et vitroplant) est obtenue en fin de sevrage tandis que, en fin d'expérience, (après trois mois), la fréquence de myco-

rhization est de 48,9 % sur vitroplant et de 51 % sur PIF.

Discussion et conclusion

La colonisation racinaire des vitroplants et des PIF par le champignon MA augmente significativement les paramètres de croissance, ce qui corrobore les résultats obtenus sur vitroplants de bananiers de type dessert (*Musa* AAA) [4] et *Musa* spp. [9]. En outre, cette colonisation racinaire est comparable sur les deux types de matériel végétal, ce qui montre, pour la première fois, la possibilité d'une mycorhization de plants issus de fragments de tige (PIF). Par ailleurs, si la plupart des études réalisées sur la mycorhization des Musacées ont été conduites avec des bananiers du sous-groupe Cavendish (*Musa* AAA), nos travaux montrent que le cultivar Bâtard du sous-groupe plantain (*Musa* AAB) réagit également de manière importante à l'inoculation mycorhizienne. Ceci tend à établir les potentialités considérables de la mycorhization des plantains dans les systèmes agricoles à faibles intrants. Eu égard à ces résultats prometteurs, il y a lieu d'étudier le comportement et le rendement de ces plants mycorhizés au champs. En effet, si ce gain de croissance est maintenu au champ, il pourra permettre d'accroître le rendement des plantains et contribuer ainsi à améliorer l'autonomie alimentaire des populations locales dépendantes de la production de plantain ■

Tableau

Effets de la mycorhization par *Glomus* sp. sur plantules de plantain c.v. Bâtard

	Matériel végétal	Circonférence (cm)	Hauteur (cm)	Surface foliaire (cm ²)	Nombre de feuilles	Masse racinaire (g)
A	PIF	0,56 ^a	6,12 ^a	24,63 ^a	3,9 ^a	—
	PIF + <i>Glomus</i> sp.	0,73 ^a	6,85 ^a	34,60 ^b	4,5 ^a	—
	Vitroplant	0,57 ^a	5,77 ^a	17,57 ^a	6,7 ^a	—
	Vitroplant + <i>Glomus</i> sp.	0,70 ^a	7,06 ^b	29,66 ^b	7,5 ^a	—
B	PIF	1,2 ^a	14 ^a	169,3 ^a	12,4 ^a	6,0 ^a
	PIF + <i>Glomus</i> sp.	2,1 ^b	26 ^b	428,2 ^b	15,6 ^b	13,0 ^b
	Vitroplant	1,52 ^a	12,4 ^a	148,8 ^a	16,0 ^a	8,3 ^a
	Vitroplant + <i>Glomus</i> sp.	1,96 ^b	21,8 ^b	389,2 ^b	18,8 ^b	12,0 ^b

A : mesure en fin de sevrage (45 jours) ; B : mesure en fin de post-sevrage (3 mois).

Pour chaque paramètre et type de matériel végétal, les valeurs suivies d'une lettre identique au sein d'une même colonne ne diffèrent pas significativement entre elles ($p < 0,05$).

Effects of mycorrhization by *Glomus* sp. on Bâtard cultivar plantain plantlets

Remerciements

Ces travaux ont été financés avec les fonds de l'Union européenne dans le cadre d'un projet INCO-DC, contrat N° EEC.ERBI.C1C18.CT97-0208.

Références

1. Anonymous. Estimation des chiffres mondiaux de production et commercialisation de banane. *Fruitrop* 1998 ; 51 : 9-10.
2. Smith SE, Read DJ. *Mycorrhizal symbiosis*, 2nd edition. San Diego : Academic Press, 1997 ; 605 p.
3. Hooker JE, Gianinazzi S, Vestberg M, Barea JM, Atkinson D. The application of arbuscular mycorrhizal fungi to micropropagation systems : an opportunity to reduce chemical inputs. *Agr Sci Finland* 1994 ; 3 : 227-32.
4. Declerck S, Planchette C, Strullu D. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivars. *Plant Soil* 1995 ; 176 : 183-7.
5. Jaizme-Vega MC, Tenoury P, Pinochet J, Jau-mot M. Interactions between the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Glomus mos-seae* in banana. *Plant Soil* 1997 ; 196 : 27-35.
6. Rufiyikiri G, Declerck S, Dufey JE, Delvaux B. Arbuscular mycorrhizal fungi might alleviate aluminium toxicity in banana plants. *New Phytol* 2000 ; 148 : 343-52.
7. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 1962 ; 15 : 473-97.
8. Champion J. *Le bananier*. Paris : GP Maison-neuve et Larose, 1963 ; 263 p.
9. Yano-Melo AM, Saggin Junior OJ, Lima Filho JM, Melo NF, Maia LC. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the acclimatization of micropropagated banana plantlets. *Mycorrhiza* 1999 ; 9 : 119-23.

Summary

Early mycorrhization and growth of two types of plantain (*Musa AAB*) planting materials

R. Fogain, S. Njifenjou, M. Kwa, S. Declerck, J. Lowe

Availability of quality planting material is one of the constraints to the development of banana and plantain production. Several in vitro and in planta techniques have been developed for the production of clean and homogenous planting material, in order to meet producer demand. Planting material produced from meristem cultures in vitro and from mini corm setts produced in planta are free from pathogens and natural symbionts, i.e. arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Our investigation was carried out to evaluate the possibility of an early mycorrhization of planting material and its impact on subsequent growth. Plants were inoculated during the weaning phase with a *Glomus* sp. isolated from plantain in Cameroon. AMF successfully colonized the root system of the plantain c.v. Bâtard. The frequency of root colonization approximated 50%, comparable in the two types of planting materials. Inoculation with AMF resulted in an increase in plant growth parameters, observable as early as the end of the weaning phase. At this time of measuring, the mycorrhized plants had a significantly larger leaf surface area than the non-mycorrhized plants, whatever the planting material, and a significantly larger height for tissue-cultured plants (Table). No further significant differences were observed in circumference or number of leaves between mycorrhized and non-mycorrhized plants. At the end of the post-weaning phase, each measured parameter, i.e. circumference, plant height, leaf surface area, number of leaves and root mass, was larger for the mycorrhized plants than the non-mycorrhized ones, whatever the planting material. This study indicates that early AMF colonization of plants obtained from tissue-culture plants or mini corm setts results in the production of more vigorous plants with increased potential quality for transplantation in the field.

Cahiers Agricultures 2001 ; 10 : 195-7.