

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I
FACULTÉ DES SCIENCES

Centre de Recherche et de Formation
Doctorale en Sciences de la Vie, Santé
et Environnement



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE

Centre for Research and Training School
for Life Sciences, Health and Environment

Département de Microbiologie
Department of Microbiology

Centre de Biotechnologie
Biotechnology Center

Laboratoire de Microbiologie du Sol
Laboratory of Soil Microbiology

Potentiel des endophytes locaux pour la production de rhizomes, de curcumine et la stimulation des activités antioxydantes et antimicrobiennes chez *Curcuma longa*

Thèse

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du Doctorat/PhD en Microbiologie

Option : Microbiologie du sol et de l'environnement

Par

SONTSA-DONHOUNG Alain- Martial

Matricule : 10R0702

Master-ès Sciences

Devant le jury :

Président : ESSIA NGANG Jean Justin, Professeur, Université de Yaoundé I

Rapporteur : NWAGA Dieudonné, Professeur, Université de Yaoundé I

Membres : FOKOU Elie, Professeur, Université de Yaoundé I

MEGUENI Clautilde, Professeur, Université de Ngaoundéré

NYEGUE Maximilienne Ascension, Professeur, Université de Yaoundé I

ABOSSOLO ANGUE Monique, Maître de Conférences, Université de Yaoundé I

Année académique 2021-2022



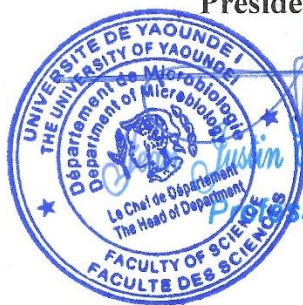


ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés, membres du jury, attestons que monsieur **SONTSA-DONHOUNG Alain-Martial**, Matricule **10R0702** a effectué les corrections conformément aux exigences du jury de sa thèse de Doctorat/Ph.D en Microbiologie, option Microbiologie du Sol et de l'Environnement, soutenue le mardi 15 février 2022 à 09 heures dans la salle Multimédia de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I sur le thème «**Potentiel des endophytes locaux pour la production de rhizomes, de curcumine et la stimulation des activités antioxydantes et antimicrobiennes chez *Curcuma longa***».

En foi de quoi la présente attestation lui est établie pour servir et valoir ce que de droit.


Président du jury



Juslin Essia Ngang
Professeur

Examineurs

Armand Fr. Ngueni
Charles Bassolo Nguire
Etienne Fotame
NYEGUE

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADÉMIQUE 2021/2022

LISTE PROTOCOLAIRE DE LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

(Par Département et par Grade)
DERNIÈRE MISE À JOUR : 22 Septembre, 2021

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur, HDR*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR :
 AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOUGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOU Marcelline	Maître de Conférences	En poste

15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	EWANE Cécile Anne	Maître de Conférences	En poste
17	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
18	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

23	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
26	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
27	DJUWKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
28	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
30	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
35	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste

36	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistant	En poste
37	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
38	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (46)

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	DAARS/FS
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	Vice Doyen/FMSB/UYI
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
9	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
10	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
11	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
12	NOLA Moïse	Professeur	En poste
13	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
14	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE
15	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
19	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
21	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste

22	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
23	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
34	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
35	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
40	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste

42	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
43	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistant	En poste
44	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
45	LEME BANOCK Lucie	Assistant	En poste
46	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (33)			
---	--	--	--

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
11	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
12	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	CE / MINRESI
14	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
16	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
17	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste

18	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
19	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
20	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
21	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
22	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste

23	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
24	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
25	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
26	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste

27	GODSWILL NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
28	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
29	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
30	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
31	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
32	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
33	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (33)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ. Ngaoundere</i>
4	GHOLOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss. PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UD</i>
10	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancelor/UB</i>

11	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
12	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUNBI Georges	Maître de Conférences	En poste
15	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
16	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
17	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
20	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste

21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NEBA née NDOIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste

31	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
32	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
33	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)			
1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/FSE/UIYI
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
5	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/</i> Chef de Département
6	WANDJI Jean	Professeur	En poste

7	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
8	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	C.E/ MINESUP
20	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	C.S/ MINESUP
21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
26	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
27	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

28	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
29	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
30	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
31	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
32	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste

33	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
34	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)			
--	--	--	--

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>

3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
---	---------------	-----------------------	----------

4	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
5	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
7	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste

9	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
11	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
12	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	Directeur adjoint Enset. Ebolowa
14	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

18	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistant	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>

3	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes/FS/UYI</i>
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
10	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

11	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
12	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
16	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
21	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
22	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
23	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste

26	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistant	En poste
27	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste

28	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
29	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3	NWAGA Dieudonné	Professeur	En poste

4	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistant	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistant	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBEA FOUHA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. UN</i>
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen FS Univ/Bda
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
19	EYEBE FOUHA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste

23	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25	SAIDOU	Maître de Conférences	MINRESI
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UYI</i>

30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MEL'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
37	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

39	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
40	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
12	GHOHOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
13	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
14	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
17	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel/UYII</i>
18	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste

27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAPCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
41	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
42	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé

I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	14 (10)	13 (05)	3 (02)	38 (18)
BPA	15 (01)	8 (06)	18 (05)	05 (02)	46 (14)
BPV	07 (01)	10 (01)	9 (06)	07 (01)	33 (9)
CI	10 (01)	10 (02)	10 (02)	03 (0)	33 (5)
CO	6 (0)	21 (05)	05 (02)	02 (0)	34(7)
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	08 (01)	25 (2)
MAT	2 (0)	8 (0)	15 (01)	05 (02)	30 (3)
MIB	3 (0)	4 (02)	05 (01)	06 (02)	18 (5)
PHY	15 (0)	14 (02)	09 (03)	02 (0)	40 (5)
ST	7 (1)	15 (01)	18 (05)	02 (0)	42(7)
Total	75 (5)	105 (29)	116 (31)	43 (10)	339 (75)

Soit un total de **339 (75)** dont :

- Professeurs **75 (5)**
- Maîtres de Conférences **105 (29)**
- Chargés de Cours **116 (31)**
- Assistants **43 (10)**

() = Nombre de Femmes **75**

DÉDICACE

*À toute la famille **SONTSA**, particulièrement mes parents **Memi Sontakoueu Monique Rachel, Sontsa Martin** et mon épouse **Kengne Kamga Sandra Mandela**.*

REMERCIEMENTS

En cette circonstance où j'achève cette thèse réalisée à la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I notamment au Département de Microbiologie, je tiens à remercier sincèrement **Dieu** d'avoir veillé sur moi et pour m'avoir donné la force et la persévérance.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à l'endroit de mon directeur de thèse **Prof NWAGA Dieudonné** du Département de Microbiologie, Chef de la section de Biotechnologies Végétales et Chef du Laboratoire de Microbiologie du Sol du Centre de Biotechnologie de Nkolbisson de l'Université de Yaoundé I, qui a dirigé ces travaux de recherche. Je vous prie de trouver ici l'expression de mon profond respect et de mon entière gratitude pour votre disponibilité, votre compréhension, vos critiques et votre suivi au sein du laboratoire.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance et ma gratitude envers tous ceux ou celles qui ont contribué à la réalisation de ce travail. Je pense spécialement :

- au **Prof ESSIA NGANG Jean Justin**, Chef du Département de Microbiologie et à tous les enseignants du Département de Microbiologie pour la formation offerte ;
- au **Prof NKENGFAK Augustin Ephrem**, Chef du « Laboratory of Natural Products and Applied Organic Synthesis » pour son soutien et pour avoir mis à notre disposition son laboratoire ;
- au **Pr FOKOM Raymond**, Maître de Conférences à l'Université de Douala pour les conseils techniques et pratiques à ma formation;
- au **Dr ADAMOU Souleymanou**, secrétaire du Centre de Recherche et de Formation Doctorale en Sciences de la Vie, Santé et Environnement de l'Université de Yaoundé I et Chargé de Cours à l'Université de Dschang qui m'a suivi durant les analyses de laboratoire;
- au **Dr ESSONO Damien**, Chargé de Cours au Département de Microbiologie de la Faculté des Sciences à l'Université de Yaoundé I, pour les conseils techniques ;
- à **M. MBASSI Gilbert** et **M. TAIZOUMBE KIZERBO Armand** pour m'avoir assisté dans les travaux de laboratoire ;
- à toute l'équipe de recherche du Laboratoire de Microbiologie du Sol, plus particulièrement aux Doctorants **Mme HAWAOU**, **M. BAHDJOLBE Marcellin** qui ont contribué aux manipulations et aux prises des données en serre ;

A tous ceux que je n'ai pas pu citer et qui d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE DE LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I.....	I
DÉDICACE.....	XI
REMERCIEMENTS	XII
SOMMAIRE	XIII
RÉSUMÉ.....	XV
ABSTRACT	XVI
LISTE DES ABRÉVIATIONS	XVII
LISTE DES TABLEAUX.....	XIX
LISTE DES FIGURES.....	XXI
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTÉRATURE	5
1.1. GÉNÉRALITÉS SUR LES ENDOPHYTES.....	6
1.1.1. Définition d'un organisme endophyte	6
1.1.2. Colonisation de la plante par les endophytes	6
1.1.3. Écologie des endophytes.....	7
1.1.4. Diversités des endophytes.....	7
1.1.5. Importance des endophytes en agriculture.....	9
1.1.6. Diversité des endophytes associés à la famille des Zingibéraceae.....	16
1.2. GÉNÉRALITÉS SUR LE <i>CURCUMA</i> ET LA CURCUMINE.....	17
1.2.1. Étymologie et historique.....	17
1.2.2. Classification systématique et description du <i>Curcuma longa</i>	18
1.2.3. Culture du <i>Curcuma longa</i>	21
1.2.4. Huiles essentielles du <i>Curcuma</i>	25
1.2.5. La curcumine	26
1.2.6. Propriétés pharmacologiques des composés actifs du <i>Curcuma</i> (curcumine et huiles essentielles).....	28
1.3. GÉNÉRALITÉS SUR LES ANTIOXYDANTS	31
1.3.1. Notions d'espèces oxygénées actives et de radicaux libres	31
1.3.2. Importance des formes réactives de l'oxygène dans la vie d'une plante	33
1.3.3. Définition du stress oxydant	34
1.3.4. Sources des espèces réactives d'oxygène dans les plantes durant le stress.....	35
1.3.5. Les antioxydants	37
1.3. GÉNÉRALITÉS SUR LES ANTIMICROBIENS.....	40
1.3.1. Les maladies des plantes.....	41
1.3.2. Contrôle biologique par les microorganismes	43
1.3.3. Les endophytes comme agents de lutte biologique.....	44

1.3.4. Méthodes d'évaluations de l'activité antimicrobienne	45
CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES	47
2.1. CADRE DE L'ÉTUDE	50
2.2. CARACTÉRISTIQUES DES SITES DE PRÉLÈVEMENT DES SOLS	50
2.2.1. Zone I ou zone soudano-sahélienne	52
2.2.2. Zone II ou zone des hautes savanes guinéennes	52
2.2.3. Zone III ou zone des hauts plateaux de l'Ouest	52
2.2.4. Zone IV ou zone de forêts denses humides à pluviométrie monomodale	53
2.2.5. Zone V ou zone de forêts humides à pluviométrie bimodale	53
2.3. MATÉRIEL	56
2.3.1. Matériel végétal	56
2.3.2. Matériel microbien et engrais conventionnel	56
2.4. MÉTHODES	57
2.4.1. Mise en évidence de l'effet des substrats sur la production de <i>Curcuma longa</i>	57
2.4.2. Isolement et caractérisation des endophytes locaux piégés de <i>Curcuma longa</i>	61
2.4.3. Evaluation de l'effet des endophytes sur la croissance, la production de rhizomes de <i>Curcuma longa</i> et de curcumine	68
2.4.4. Détermination des activités antimicrobiennes des endophytes et antioxydantes des extraits de <i>Curcuma longa</i>	73
2.5. ANALYSES STATISTIQUES	77
CHAPITRE 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION	78
3.1. RÉSULTATS	79
3.1.1. Caractéristiques du substrat adapté pour la production de <i>Curcuma longa</i>	79
3.1.2. Diversité des endophytes isolés du <i>Curcuma longa</i> , sélection et caractérisation	87
3.1.3. Effets des endophytes sélectionnés sur le <i>Curcuma longa</i> sur substrat stérilisé	105
3.1.4. Activités antimicrobiennes des endophytes sélectionnés et antioxydantes des extraits de <i>Curcuma longa</i> biofertilisés	114
3.2. DISCUSSION	121
3.2.1. Effet des substrats des 5 zones agroécologiques du Cameroun sur la croissance et la production des rhizomes de <i>Curcuma longa</i>	121
3.2.2. Propriétés des endophytes locaux isolés de la rhizosphère du <i>Curcuma longa</i>	125
3.2.3. Potentiel des endophytes sélectionnés pour la production de rhizomes de <i>Curcuma longa</i> et de curcumine	131
3.2.4. Propriétés antimicrobiennes des endophytes sélectionnés et antioxydantes des extraits de <i>Curcuma longa</i>	133
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	138
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	142
ANNEXES	A

RÉSUMÉ

Le *Curcuma* possède d'énormes propriétés médicinales dues à la présence de curcumine d'où sa forte demande sur le marché international. Cependant, la production de *Curcuma* et de curcumine demeure faible et peu connue au Cameroun. L'une des pistes pour maximiser cette production est d'évaluer l'association *Curcuma*-endophytes. Ce travail a pour objectif de déterminer l'effet produit par les endophytes locaux sur la production de rhizomes, de curcumine et sur la stimulation des activités antioxydantes et antimicrobiennes du *Curcuma longa*. Pour cela, une culture de *Curcuma* a été réalisée sur 8 substrats différents. Au 3^{ème} mois de culture, les endophytes piégés des racines de *Curcuma* ont été isolés sur différents milieux de culture. L'isolement a été réalisé par la méthode des fragments après stérilisation de surface. Les endophytes ont par la suite été caractérisés puis, les plus efficaces ont été appliqués sur une autre culture de *Curcuma* suivant un dispositif en blocs non randomisés. Ceux-ci ont été confrontés *in vitro* à 4 pathogènes majeurs des plantes ; les teneurs en curcumine et les marqueurs de l'oxydation du *Curcuma* biofertilisé ont été déterminés par spectrophotométrie. Après 7 mois de culture en pots sur 8 substrats (issus de 5 zones agroécologiques du Cameroun), la biomasse des rhizomes obtenue varie de 5,0 à 11,44 g/plante respectivement pour les substrats de Douala et Dschang. Les substrats les mieux adaptés à la production de rhizomes correspondent à ceux qui ont une texture argileuse à limono-argilo-sableuse, moyennement à faiblement acide (pH 5,6 - 6,5) et proche de la neutralité (pH 6,6). Biologiquement, ils montrent une sporulation de Champignons Mycorhiziens Arbusculaires (CMA) moyenne à élevée (28-41spores/g) et une colonisation racinaire des CMA moyenne à élevée (55%-78%). Près de 105 isolats d'endophytes différents sont obtenus dont 83 types de bactéries et 22 types de champignons. Ces endophytes tolèrent le stress. Sur la base de leur capacité à tolérer niveaux élevés de stress (15 % de NaCl ; 100 mM d'Al³⁺ et pH 3) et de renfermer des propriétés favorisant la croissance des plantes, 23 endophytes ont été sélectionnés. Ceux-ci améliorent la croissance du *Curcuma* et la production de rhizomes en raccourcissant le cycle de 12 mois. En outre, 74% des isolats favorisent l'augmentation de la teneur en curcumine comparés au témoin ; 84% présentent des effets antagonistes sur 4 agents pathogènes majeurs des plantes : *Fusarium oxysporum*, *Ralstonia solanacearum*, *Pythium myriotylum* et *Phytophthora megakarya*. Également, on observe une stimulation significative de la production des composés du métabolisme du soufre (glutathion, thiols totaux de 22% et 26%) et des précurseurs de la vitamine A (caroténoïdes de 91%) par ces endophytes comparés au témoin. En général, l'association endophytes-*Curcuma* stimule fortement les activités antimicrobiennes et antioxydantes ; et donc les propriétés fonctionnelles de cette épice.

Mots clés : *Curcuma* (*Curcuma longa*) ; curcumine ; endophytes ; antimicrobiens ; antioxydants

ABSTRACT

Turmeric has enormous medicinal properties due to the presence of curcumin, hence its high demand on the international market. However, the production of turmeric and curcumin in Cameroon remains low and not well known. One of the ways to maximise this production is to evaluate the association between turmeric and endophytes. The objective of this work is to determine the effect of local endophytes on the production of rhizomes and curcumin and on the stimulation of the antioxidant and antimicrobial activities of *Curcuma longa*. For this purpose, turmeric was grown on 8 different substrates. At the 3rd month of culture, endophytes trapped in turmeric roots were isolated on different culture media. Isolation was performed by the fragment method after surface sterilisation. Endophytes were then characterised, and the most efficient ones were applied to another turmeric culture in a non-randomised block design. Endophytes were tested in vitro against 4 major plant pathogens and the curcumin content and oxidation markers of the biofertilised turmeric were determined by spectrophotometry. After 7 months of cultivation in pots on 8 substrates (from 5 agro-ecological zones of Cameroon), the rhizome biomass obtained ranged from 5.0 to 11.44 g/plant for the Douala and Dschang substrates respectively. The most suitable substrates for rhizome production are those with a clayey to silty-sandy texture, moderately to slightly acidic (pH 5.6 - 6.5) and close to neutral (pH 6.6). Biologically, they show medium to high sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) (28-41 spores/g) and medium to high root colonisation of AMF (55%-78%). About 105 different endophyte isolates were obtained, including 83 types of bacteria and 22 types of fungi. These endophytes are stress tolerant. Based on their ability to tolerate high levels of stress (15% NaCl; 100 mM Al³⁺ and pH 3) and to contain plant growth promoting properties, 23 endophytes were selected. These improve turmeric growth and rhizome production by shortening the cycle by 12 months. In addition, 74% of the isolates increased curcumin content compared to the control; 84% showed antagonistic effects on 4 major plant pathogens: *Fusarium oxysporum*, *Ralstonia solanacearum*, *Pythium myriotylum* and *Phytophthora megakarya*. Also, a significant stimulation of the production of sulphur metabolism compounds (glutathione, total thiols by 22% and 26%) and vitamin A precursors (carotenoids by 91%) was observed by these endophytes compared to the control. In general, the endophyte-turmeric association strongly stimulates the antimicrobial and antioxidant activities; and thus the functional properties of this spice.

Keywords: Turmeric (*Curcuma longa*); curcumin; endophytes; antimicrobials; antioxidants

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACC :	1-aminocyclopropane-1-carboxylate
Be:	Bertoua
BFA:	Bactérie Fixatrice d'Azotes
Bi :	Bini
BNL :	Bactérie Nodulant les Légumineuses
CA :	<i>Curcuma</i> Agar
CAR :	Caroténoïdes
CEA :	<i>Curcuma</i> Soil Extract Agar
CMA :	Champignon Mycorhizien Arbusculaire
CMC:	Carboxy Méthyl Cellulose
CtMA:	Carott Mannitol Agar
DJ:	Djarengol
DI:	Douala
Ds:	Dschang
DTNB	acide dinitro-2,2'-dithio-5,5'-dibenzoïque
EA:	Soil Extract Agar
Eb:	Ebolowa
EBIC:	European Biostimulants Industry Council
ECAM :	Enquête Camerounaise auprès des Ménages
EOA :	Espèce Oxygénées Actives
ERO	Espèces Réactives Oxydantes
FAO :	Food and Agriculture organisation
FBN :	Fixation Biologique de l'azote
FO :	<i>Fusarium oxysporum</i>
GLM :	Glucose levure extrait de malt
GSH:	Glutathion
IAA:	Indole Acetic Acid
IFAD:	International Fund for Agricultural Development
IITA:	International Institute of Tropical Agriculture
RL	Radical libre
IS :	Indice de Solubilisation

MFCP :	Microorganisme Favorisant la Croissance de la plante
MINADER :	Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
MINEPAT	Ministère de l'Economie, de la Planification et de l'Aménagement du Territoire
MSP :	Microorganisme solubilisant le Phosphore
NBRIP :	National Botanical Research Institute's Phosphate
NFM :	Nitrogen Free Medium
Nk :	Nkometou
NUBACS :	Nutraceutica Bioavailability Classification Scheme
PIC :	Pourcentage d'Inhibition de croissance
PCD	Programmed Cell Death
PM :	<i>Phytophthora megakarya</i>
PNIA :	Plan National d'Investissement Agricole
PY:	<i>Pythium Myriothylum</i>
RS:	<i>Ralstonia Solanacearum</i>
SGA:	Sucrose Glucose Agar
SMA:	Skill Milk Agar
Tb:	Touboro
TT:	Thiol Totaux
UNICEF:	United Nations Children's Emergency Fund
USDA:	United States Department of Agriculture
YGPA:	Yeast Glucose Peptone Agar
WFP:	World Food Program
WHO:	World Health Organisation

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Composés actifs du broyat de <i>Curcuma longa</i>	27
Tableau II. Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques	32
Tableau III. Caractéristiques des pathogènes des plantes	42
Tableau IV. Propriétés physico-chimiques de la terre humifère de forêt des environs de Yaoundé	69
Tableau V. Protocole de dosage du glutathion réduit	76
Tableau VI. Composition granulométrique et texture des sols des 5 zones agroécologiques du Cameroun.	80
Tableau VII. Propriétés chimiques des sols des 5 zones agroécologiques du Cameroun.	82
Tableau VIII. Endophytes isolés, sporulation des CMA et colonisation racinaire des sols des 5 zones agroécologiques.....	83
Tableau IX. Caractéristiques des morphotypes de CMA extraits de la rhizosphère de <i>Curcuma longa</i>	83
Tableau X. Récapitulatif des endophytes bactériens isolés à partir des racines de <i>Curcuma longa</i> piégés sur divers substrats en fonction de l'origine des sols.....	89
Tableau XI. Récapitulatif des endophytes fongiques isolés à partir des racines de <i>Curcuma longa</i> piégés sur divers substrats en fonction de l'origine des sols.....	89
Tableau XII. Récapitulatif des endophytes bactériens isolés à partir des racines de <i>Curcuma longa</i> piégés sur divers substrats en fonction du milieu d'isolement.....	90
Tableau XIII. Récapitulatif des endophytes fongiques isolés à partir des racines de <i>Curcuma longa</i> piégés sur divers substrats en fonction du milieu d'isolement.....	90
Tableau XIV. Sensibilité des endophytes isolés des substrats représentatifs des 5 zones agroécologiques du Cameroun aux paramètres environnementaux locaux.	92
Tableau XV. Description macroscopique des endophytes bactériens pré-sélectionnés.	95
Tableau XVI. Caractéristiques morphoculturelles des endophytes fongiques pré-sélectionnés.	96
Tableau XVII. Descriptions microscopiques des endophytes fongiques pré-sélectionnés après coloration au bleu de méthylène et observation au grossissement G X 400.	97
Tableau XVIII. Récapitulatif des caractéristiques biochimiques des endophytes pré-sélectionnés.	99
Tableau XIX. Récapitulatif des propriétés favorisant la croissance des plantes des endophytes pré-sélectionnés.	102
Tableau XX. Tentative d'identification des endophytes bactériens pré-sélectionnés.....	103

Tableau XXI. Réponse à l'inoculation de l'activité des endophytes sélectionnés sur le rendement de production et la teneur en curcumine de <i>Curcuma longa</i> 240 jours après le semis.	112
Tableau XXII. Pourcentage et diamètre d'inhibition de croissance des endophytes sélectionnés des racines de <i>Curcuma longa</i> contre 4 agents pathogènes majeurs des plantes <i>in vitro</i>	115
Tableau XXIII. Réponse à l'inoculation de l'activité des isolats d'endophytes sélectionnés sur les teneurs en glutathion, thiols totaux et caroténoïdes de <i>Curcuma longa</i> 240 jours après le semis.....	120
Tableau XXIV. Synthèse sur les 3 meilleurs isolats d'endophytes (bactéries et champignons (C)) pour l'amélioration de la production de <i>Curcuma longa</i> et de métabolites fonctionnels	137

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Abondance des endophytes appartenant à divers embranchements	8
Figure 2. Arbre phylogénétique des bactéries	9
Figure 3. Diagramme schématique des différentes interactions endophytes-plantes et leurs applications.....	15
Figure 4. Représentation schématique des impacts bénéfiques de différents endophytes associés à la famille des zingiberaceae	16
Figure 5. Aspect général du <i>Curcuma longa</i>	19
Figure 6. Part des importations mondiales du <i>Curcuma longa</i> en 2010 (%)	21
Figure 7. Quelques espèces de <i>Curcuma</i> sources de curcumines	25
Figure 8. Structure chimique des principaux constituants de l'huile essentielle de <i>Curcuma</i>	26
Figure 9. Structures chimiques des curcuminoïdes	27
Figure 10. Activités pharmacologiques de la curcumine	31
Figure 11. Feuille de chêne montrant (a) les symptômes d'oxydation de la chlorophylle et (b) les nécroses liées à la mort de cellules.....	34
Figure 12. La balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production d'ERO.	35
Figure 13. Sites de production intra-organites des ERO dans la cellule végétale.....	36
Figure 14. Diagramme synoptique du protocole de recherche sur les endophytes du <i>Curcuma longa</i>	49
Figure 15. Les cinq zones agroécologiques du Cameroun	51
Figure 16. Carte du Cameroun montrant les différents types de sols.....	55
Figure 17. Rhizomes de <i>Curcuma longa</i> utilisés comme semences	56
Figure 18. Inoculum de champignon mycorhizien (MYCO F).....	57
Figure 19. Échantillon d'urée	57
Figure 20. Dispositif expérimental I : piégeage des endophytes et production du <i>Curcuma longa</i> sur 8 substrats des 5 zones agroécologiques du Cameroun.....	59
Figure 21. Méthode de calcul du nombre de spores d'un échantillon après extraction	60
Figure 22. Activité catalase des endophytes	64
Figure 23. Test de production de protéase des endophytes	64
Figure 24. Test de production de cellulase	65
Figure 25. Activité uréase des endophytes bactériens.....	65
Figure 26. Utilisation des substrats carbonés des endophytes bactériens	66
Figure 27. Test de production d'ACC désaminase.....	66

Figure 28. Test de production d'indole	66
Figure 29. Solubilisation du phosphore par un endophyte bactérien	67
Figure 30. Test de fixation de l'azote par les endophytes bactériens.....	67
Figure 31. Test de production d'ammoniac.....	68
Figure 32. Dispositif expérimental II : interaction entre les endophytes et le <i>Curcuma longa</i> sur sol stérilisé de terre humifère de forêt.....	70
Figure 33. Courbe d'étalonnage de la curcumine.....	73
Figure 34. Couleurs des sols provenant des cinq zones agroécologiques du Cameroun.	79
Figure 35. Classification des sols provenant des cinq zones agroécologiques du Cameroun dans le triangle des textures USDA.....	80
Figure 36. Colonisation racinaire des plants de <i>Curcuma longa</i> par les CMA et observation après coloration à la fuchsine acide au grossissement G x 100.....	84
Figure 37. Variation du diamètre au collet des plants de <i>Curcuma longa</i> pendant 16 semaines sur différents substrats.....	85
Figure 38. Variation de la hauteur des plants de <i>Curcuma longa</i> durant 16 semaines sur différents substrats.....	86
Figure 39. Comparaison de la hauteur des plants de <i>Curcuma longa</i> produits sur divers substrats après 7 mois de culture.....	86
Figure 40. Rendement de production en rhizomes de <i>Curcuma longa</i> selon les substrats après 7 mois de culture	87
Figure 41. Endophytes bactériens et fongiques isolés des racines après piégeage du <i>Curcuma longa</i> sur 8 substrats représentatifs des zones agroécologiques.....	91
Figure 42. Aspects microscopiques de quelques isolats de bactéries endophytes des racines de <i>Curcuma longa</i> après coloration de Gram et observation au grossissement G x 1000 à huile à immersion.....	95
Figure 43. Schéma de l'essai d'identification des isolats fongiques des endophytes pré-sélectionnés	104
Figure 44. (a) Exemple de l'influence de quelques endophytes sélectionnés sur la croissance du <i>Curcuma longa</i> 7 mois après le semis ; (b) Rhizomes de <i>Curcuma longa</i> biofertilisés obtenus après 8 mois de culture	106
Figure 45. Comparaison d'isolats d'endophytes sélectionnés pour la croissance de <i>Curcuma longa</i> en pot sur sol stérilisé 90 et 210 jours après le semis.....	108
Figure 46. Effet des endophytes sélectionnés sur le rendement en production de rhizomes de <i>Curcuma longa</i> biofertilisés récoltés 8 mois après semis	109
Figure 47. Rhizomes frais de <i>Curcuma longa</i> biofertilisés récoltés 8 mois après semis.....	110

Figure 48. Effet des endophytes sélectionnés sur la teneur en curcumine des rhizomes de <i>Curcuma longa</i> biofertilisés obtenus après 8 mois de culture.	111
Figure 49. Itinéraire technique proposé pour une protection et une production de <i>Curcuma longa</i> biofertilisé.....	113
Figure 50. Activités antagonistes de quelques isolats endophytes contre (A) <i>Phytophthora megakarya</i> 7 jours après incubation et contre (B) <i>Ralstonia solanacearum</i> 48h après incubation	114
Figure 51. Efficacité des endophytes sélectionnés contre 4 agents pathogènes des plantes <i>in vitro</i>	116
Figure 52. Effet des endophytes sélectionnés sur la teneur en glutathion réduit des rhizomes de <i>Curcuma longa</i> biofertilisés après 8 mois de culture	117
Figure 53. Effet des endophytes sélectionnés sur la teneur en thiols totaux des rhizomes de <i>Curcuma longa</i> biofertilisés après 8 mois de culture	118
Figure 54. Effets des endophytes sélectionnés sur la teneur en caroténoïdes totaux des rhizomes de <i>Curcuma longa</i> biofertilisés obtenus après 8 mois de culture.....	119

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Pour la période 2020-2030, le Cameroun se donne pour objectif d'accroître en quantité et en qualité la production de produits agricoles afin d'assurer son autosuffisance alimentaire, d'approvisionner la demande croissante des agro-industries nationales en matières premières agricoles et de conquérir les marchés internationaux (MINEPAT, 2020). En effet, l'agriculture occupe une place de choix au Cameroun. C'est un secteur clé de l'économie camerounaise qui lui assure son autosuffisance alimentaire et des devises. Elle contribue pour 22,9% au PIB et représente en 2013 environ 23 % des exportations totales du pays. Le secteur agricole est le premier employeur avec 62% de la population active. La gamme des produits cultivés est très diversifiée et s'étend des cultures vivrières (mil, sorgho, manioc, ignames) aux cultures d'exportation (banane, ananas, café, cacao, huile de palme, coton) (Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de La forêt, 2015).

L'atteinte de cet objectif sus-jacent passe par une révolution agricole dont l'accent sera mis sur les filières prioritaires de développement agroindustriel notamment : le coton, le cacao-café, l'huile de palme, le sucre, le caoutchouc, le riz, le maïs, la banane-plantain, le poisson, le lait et la viande. Elles feront l'objet de plans de développement spécifiques à moyen et longs termes, visant à augmenter leurs productions, renforcer leurs compétitivités et développer en aval les chaînes de valeur grâce notamment à l'implantation d'industries de transformation (MINEPAT, 2020).

Cependant, le *Curcuma* (*Curcuma longa*) qui est une plante économiquement rentable et adaptée aux conditions climatiques du pays ne fait ni parti des politiques agricoles, ni des filières prioritaires de développement agroindustriel choisies par le gouvernement.

Le *Curcuma* (*Curcuma longa*) est une plante vivace herbacée qui appartient à la famille des Zingiberaceae et qui est originaire d'Asie du Sud, en particulier d'Inde et cultivée pour son rhizome souterrain (Chirangi *et al.*, 2004). En raison de ses activités biologiques, le *Curcuma* est largement cultivé partout sous les tropiques notamment dans un climat chaud et humide sur des sols meubles et friables, bien drainés, limoneux, argileux riches en matières organiques (Jansen *et al.*, 2005). Toutefois sa production commerciale est limitée à l'Inde et à l'Asie du Sud-Est (Jansen *et al.*, 2005). Les échanges mondiaux de *Curcuma* en 2010 représentent 133 millions de dollars USD (Intracen, 2018). Selon statista (2021), le marché mondial de *Curcuma* devrait passer de 1,05 million de tonnes en 2017 à 1,7 million de tonnes en 2027. La poudre de rhizome du *Curcuma* est constituée d'une fraction volatile (2-7% d'huiles essentielles) et une fraction non volatile (4 à 8% de curcuminoïdes) qui représentent les composés actifs majeurs de la plante (Jayaprakasha *et al.*, 2005 ; Jansen *et al.*, 2005 ; Aggarwal *et al.*, 2007 ; Dohare *et al.*, 2008 ;). Parmi les curcuminoïdes

on distingue principalement la curcumine (94%), la déméthoxycurcumine (6%) et la bisdéméthoxycurcumine (0,3%) (Dohare *et al.*, 2008 ; Harikrishna, 2013). La curcumine est très sollicitée sur le marché mondial qui devrait atteindre 94,3 millions de dollars d'ici à 2022 (Nabavi *et al.*, 2018). L'Amérique du Nord représente le plus grand marché pour la curcumine, suivie par l'Europe et le marché de l'Asie-Pacifique (Nabavi *et al.*, 2018). Le plus grand marché d'application de la curcumine est celui des produits pharmaceutiques, en raison du large éventail de propriétés biologiques associées à celle-ci (Darvesh *et al.*, 2012). En Afrique centrale, particulièrement au Cameroun, la production du *Curcuma* est encore faible et peu connue des agriculteurs. Celle-ci se rencontre dans quelques localités du pays notamment Santchou dans la Menoua ; Melong dans le Mounjo ; Ntui dans le Mbam-et-Kim ; Bafia dans le Mbam-et-Inoubou ; Tibati dans le Djérem et Ebolowa dans la Mvila (Enquête socio-économique Sontsa-Donhoung, 2018-2019).

De plus, le MINADER ne dispose pas d'itinéraire technique de production de cette culture. Sur le terrain, les producteurs ne disposent pas de méthodes culturales adaptées pour cette plante et dès lors font face à de nombreuses difficultés dont les principales sont le temps de production ; la pauvreté et la dégradation des sols (en majorité acides) ; mais également de nombreuses maladies (Enquête socio-économique Sontsa-Donhoung, 2018-2019). En effet, le *Curcuma*, étant une espèce Zingiberaceae, a des problèmes de maladies similaires à ceux du gingembre (Dohroo, 2005). Il y a des maladies qui affectent les rhizomes, comme la pourriture du rhizome, qui tue la plante, et celles qui affectent les pousses aériennes, comme la tache des feuilles et les taches foliaires, qui entraînent une grave réduction du rendement. Ces maladies sont présentes dans toutes les régions productrices de *Curcuma*, mais leur apparition et leur gravité varient beaucoup selon la région et les conditions de culture (Dohroo, 2007). Parmi les maladies affectant le *Curcuma*, la pourriture du rhizome et les maladies foliaires sont les plus graves (Dohroo, 2007).

Pour accroître la production d'une part et d'autre part pour lutter contre ces maladies, de nombreux producteurs utilisent les produits phytosanitaires (herbicides, fongicides, pesticides, nématicides) à l'instar du ridomil, du carbendazim, de la bouillie bordelaise, du zineb, du mancozeb (...) et des engrais chimiques dont les coûts ne cessent d'augmenter tels que le NPK, l'urée, le P₂O₅, le K₂O (...) (TNAU, 2004 ; Behailu & Weyessa, 2019). L'utilisation abusive de ces produits a des conséquences néfastes aussi bien pour les producteurs que pour les consommateurs car ils sont cancérigènes. En outre, cette utilisation abusive favorise le développement de résistance des plantes face à de nombreux traitements. C'est ainsi que ces produits sont de plus en plus retirés des marchés pour des raisons de sécurité, ce qui exerce une pression supplémentaire sur les agriculteurs qui se tournent de plus en plus vers l'usage des biofertilisants.

D'après la définition retenue par l'EBIC (European Biostimulants Industry Council) un biofertilisant est : « un matériel qui contient une (des) substance(s) et/ou microorganisme(s) dont la fonction, quand ils sont appliqués aux plantes ou à la rhizosphère, est de stimuler les processus naturels pour améliorer/avantager l'absorption des nutriments, l'efficacité des nutriments, la tolérance aux stress abiotiques et la qualité des cultures, indépendamment du contenu en nutriments du biostimulant. » Cette approche inclut une large gamme de microorganismes comme les endophytes. Nous pensons que les solutions établies sur l'utilisation des endophytes comme biofertilisant pour faire face à ces défis fourniront des approches alternatives et durables susceptibles de contribuer à une meilleure gestion des espaces naturels.

L'utilisation des propriétés bénéfiques des microorganismes associés aux plantes est importante pour : l'augmentation des rendements de production; la stimulation de l'assimilation des éléments nutritifs du sol ; agir comme agent de stress abiotique et activateur de la tolérance à la sécheresse ; contrôler les maladies des plantes ou les ravageurs ; l'adaptation des plantes aux conditions de croissance appropriées ou pour les activités de reboisement (Nwaga *et al.*, 2010; Deshmukh *et al.*, 2018). En effet, plusieurs essais ont été menés avec les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) au Cameroun sur diverses cultures tels que les céréales, les légumineuses, les tubercules, les arbres fruitiers, les cultures de rente ou les cultures maraîchères et ont montré que le rendement augmente après inoculation de mycorhizes (Nwaga *et al.*, 2000, 2010, 2013 ; Begoude *et al.*, 2016 ; Hawaou, 2018).

Toutefois, les avantages des microorganismes locaux sont peu explorés et lorsque des inoculants commerciaux sont utilisés, ils ne sont généralement pas adaptés aux conditions du milieu et peuvent ne pas être efficaces (Adesemoye & Egamberdieva, 2013). Dans l'ensemble, il en résulte une faible production, ce qui souligne l'urgence de développer des pratiques de gestion et des applications des biotechnologies qui peuvent améliorer la productivité des sols, réduire l'érosion et améliorer la sécurité alimentaire (Adesemoye & Egamberdieva, 2013). En effet, divers microorganismes tels que les endophytes sont utilisés par les plantes pour accroître leurs propriétés.

Très peu d'études ont été réalisées, notamment sur la stimulation de la production de curcumine par le *Curcuma* et la stimulation des activités biologiques de la plante à l'aide des endophytes. Face à la longue période d'attente nécessaire pour une production optimale (2 ans) de curcumine rencontrée par les agriculteurs et exportateurs au Cameroun, l'importance pratique et économique de la production de *Curcuma* et la diversité d'endophytes dans les sols du Cameroun, des études devraient être intensifiées pour une meilleure compréhension.

Il y a donc lieu de se poser la question principale suivante : les endophytes locaux peuvent-ils stimuler la production de rhizomes, de curcumine et assurer la protection de *Curcuma longa* face

aux stress ? L'hypothèse qui en découle est : « les endophytes locaux stimulent la production de rhizomes, de curcumine et les activités biologiques de *Curcuma longa*. »

Pour vérifier cette hypothèse, nous nous sommes proposés comme objectif général de déterminer l'effet produit par les endophytes locaux sur la production de rhizomes, de curcumine et sur la stimulation des activités antioxydantes et antimicrobiennes du *Curcuma longa*. De manière spécifique, ce travail consiste à :

- ❖ déterminer le substrat le plus adapté à la production de *Curcuma longa* au Cameroun ;
- ❖ monter une collection d'isolats d'endophytes locaux d'après leurs caractérisations physiologiques et biochimiques ;
- ❖ proposer un itinéraire technique pour l'optimisation de la culture de *Curcuma longa* après évaluation des performances des endophytes;
- ❖ déterminer les activités antimicrobiennes des endophytes et antioxydantes (les marqueurs de l'oxydation) des extraits de *Curcuma longa*.

La première partie de cette étude présentera une étude bibliographique sur les différents concepts évoqués. Elle résumera les connaissances sur les endophytes, le *Curcuma longa* et la curcumine, les antioxydants et les antimicrobiens. La seconde partie appelée « Matériels et Méthodes », mettra en exergue le cadre de l'étude, le matériel végétal et microbien étudié ainsi que les méthodes suivies pour déterminer le substrat apte à la culture du *Curcuma* et encore les techniques de biotechnologie qui nous permettent d'isoler et caractériser les endophytes. Nous allons également donner un aperçu sur les dispositifs expérimentaux utilisés durant ce travail de recherche ainsi que les méthodes suivies pour réaliser les tests antimicrobiens afin de valoriser l'activité biologique des endophytes étudiés. Une macération à froid a été réalisée pour obtenir des extraits de *Curcuma* qui ont fait l'objet de dosage en utilisant le spectrophotomètre afin de déterminer leur teneur en curcumine et en marqueurs de l'oxydation. Dans la troisième partie, appelée « Résultats et Discussions », nous rapporterons les caractéristiques du substrat adapté pour la culture du *Curcuma* ; la diversité des endophytes locaux isolés du *Curcuma* et leurs caractéristiques ; l'effet produit par les endophytes sur le *Curcuma* et encore les activités antibactérienne et antifongique des endophytes et antioxydantes des extraits de *Curcuma*. Une discussion bien détaillée de ces résultats sera établie en se basant sur la comparaison avec les résultats cités dans la littérature.



CHAPITRE 1
REVUE DE LA LITTÉRATURE

1.1. GÉNÉRALITÉS SUR LES ENDOPHYTES

1.1.1. Définition d'un organisme endophyte

Au sens littéraire, un endophyte est un organisme qui vit à l'intérieur d'une plante (du Grec *endon* = dans, et *phyton* = plante). Des champignons et bactéries endophytes ont été retrouvés dans pratiquement toutes les plantes étudiées rendant universelle la colonisation des plantes par les endophytes, attestant d'un large spectre d'individus colonisés (Hyde & Soyong, 2008).

Le sens du terme « endophyte » a évolué depuis les premières descriptions de ces organismes et continue encore d'évoluer. Cependant, la proposition majoritairement acceptée est que les endophytes sont des microorganismes associés aux plantes qui colonisent et vivent une partie de leur cycle de vie au sein (des tissus) d'une plante sans causer de dommages ni de maladies (telles que lésions, retard de croissance, décoloration ou chlorose, etc.) chez leur hôte (Kumar *et al.*, 2016 ; Deshmukh *et al.*, 2018).

Les endophytes vivant à l'intérieur des tissus végétaux sont transmis soit de génération en génération par des graines, ce que l'on appelle la transmission verticale, soit peuvent être obtenus horizontalement depuis l'environnement, chaque nouvelle génération étant appelée transmission horizontale (Frank *et al.*, 2017). De façon spécifique, les endophytes sont, au sens large, tous les microorganismes qui peuvent vivre à l'intérieur des plantes (Hodkinson & Murphy, 2019).

1.1.2. Colonisation de la plante par les endophytes

La réussite des interactions endophyte-plante nécessite la colonisation d'une plante par l'endophyte. Les champignons endophytes résident entièrement dans la plante. Ceux-ci sont représentés par 2 grands groupes, les Clavicipitaceae (C-endophytes) qui infectent certaines Poaceae, et les non-Clavicipitaceae (NC-endophytes), qui peuvent être retrouvés dans les tissus des plantes non vasculaires, des Gymnospermes et des Angiospermes (Rodriguez *et al.*, 2009). La plupart des travaux à ce jour se sont concentrés sur les interactions C-endophytes-graminées, où ces associations d'endophyte sont limitées aux tissus végétaux et sont situées dans l'espace intercellulaire. En revanche, les NC-endophytes peuvent se développer autant dans les tissus aériens que souterrains, ou ils peuvent se limiter aux tissus aériens ou aux racines (Rodriguez *et al.*, 2009). L'entrée des champignons endophytes dans les plantes peut se produire à travers des plaies ou par les stomates, avec une bonne croissance dans les tissus méristématiques riches en nutriments, mais moins dans les tissus matures (White *et al.*, 1991).

Les infections des bactéries endophytes se produisent normalement par des plaies ouvertes ou des cassures dans les tissus radiculaires ou par d'autres ouvertures naturelles dans les tissus végétaux (Bacon & Hinton, 2002). Il a été suggéré que l'endoglucanase et l'endopolygalacturonase

produites par les bactéries étaient impliquées dans la dégradation localisée de la paroi cellulaire, aidant à l'entrée bactérienne par les fissures au niveau des sites d'émergence des racines ou à l'extrémité des racines, ainsi qu'à leur mouvement à travers l'endoderme dans le xylème (Compant *et al.*, 2005).

La colonisation des espaces intercellulaires par des endophytes fongiques et bactériens n'est pas surprenante, car ces espaces sont des environnements riches en minéraux, contenant du potassium, du calcium, du soufre, du phosphore et du chlore, de même que de nombreux sucres et métabolites non glucidiques, y compris divers acides aminés et acides organiques (Canny & Huang, 1993).

1.1.3. Écologie des endophytes

Ce n'est qu'au cours des dernières décennies que les écologistes ont reconnu le potentiel des endophytes, autres que les champignons mycorhiziens et les diazotrophes, à modifier la croissance et la physiologie de l'hôte, la biochimie interne, la reproduction et la dynamique des populations. Dans la nature, et comme cela est également vrai pour le microbiome humain, les endophytes existent dans des combinaisons fonctionnelles et comportementales dynamiques et complexes. Une étude (Latz *et al.*, 2018) a attiré l'attention sur les lacunes de nos connaissances sur les interactions complexes entre la plante et l'endophyte et sur le rôle écologique des endophytes dans la suppression des maladies. La présence d'un microbiome associé à des espèces végétales particulières a été mise en évidence pour *Brassicaceae sp.* et pour la plante *Brachiaria*, ce qui suggère que de nombreuses espèces d'endophytes concomitantes soient compatibles et même mutuellement bénéfiques dans le système végétal (Johnson *et al.*, 2018).

Des espèces ou des souches d'endophytes particulières peuvent se comporter très différemment selon l'hôte et l'environnement environnant, ce qui inclut tout, des caractéristiques physico-chimiques du sol aux autres organismes et microorganismes qui font partie de l'ensemble du macro-système végétal étendu (Murphy *et al.*, 2019). Diverses contributions confirment le paradigme accepté selon lequel l'effet des endophytes sur les espèces hôtes est fondamentalement corrélé avec l'environnement, le type de tissu, les génotypes et le microbiome (Deepthi & Ray, 2018).

D'autres aspects importants des effets des endophytes sur les plantes ont trait à l'absorption, l'utilisation des nutriments et à l'activité de lutte biologique (Murphy *et al.*, 2019).

1.1.4. Diversités des endophytes

Les microorganismes représentent la majeure partie de la diversité de la vie sur la planète. La biodiversité microbienne potentielle est plus élevée en comparaison à la diversité combinée des

plantes, des vertébrés et des insectes (Yadav *et al.*, 2020). Différents groupes de microorganismes ont été rapportés pour leur association avec différentes plantes hôtes sous forme d'épiphytes, d'endophytes et de rhizosphériques (Yadav *et al.*, 2020).

Rana *et al.* (2020) ont signalés une grande diversité d'endophytes appartenant à 3 domaines :

- domaine des Archea ;
- domaine des Eubacteria, Règne des Bacteria. Les bactéries en qualité d'endophytes constituent le groupe d'organismes le plus diversifié et le plus abondant sur terre. Ils ont été signalés dans les embranchements Actinobacteria, Acidobacteria, Bacteroidètes, Deinococcus, Firmicutes, Proteobacteria et Verrucomicrobia (Figure 1). L'embranchement le plus dominant parmi les bactéries s'est avéré être celui des Protéobactéries, tandis que ceux des Acidobacteria, Bacteroidètes et Deinococcus-thermus ont le moins de bactéries endophytes isolées (Figure 2);
- domaine des Euryarchaeota, Règne des champignons appartenant aux embranchements Ascomycota, Basidiomycota et Mucoromycota, dans lesquels les Ascomycota sont les plus dominants.

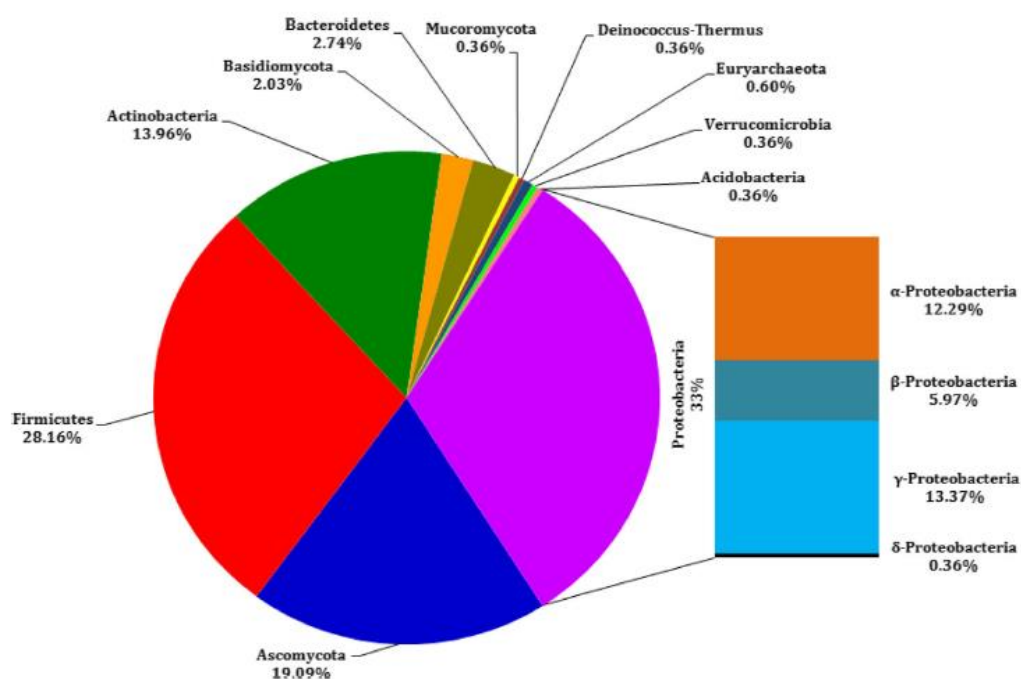


Figure 1. Abondance des endophytes appartenant à divers embranchements (Rana *et al.*, 2020)

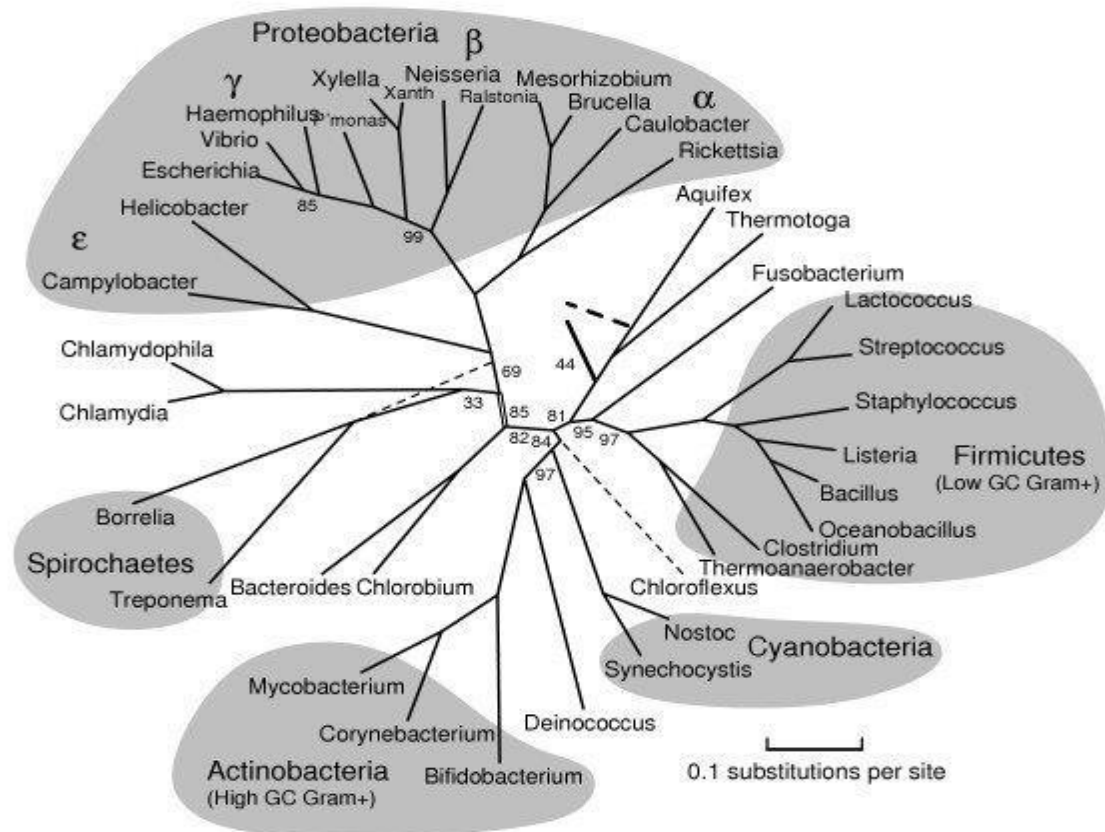


Figure 2. Arbre phylogénétique des bactéries (Bern & Goldberg, 2005)

1.1.5. Importance des endophytes en agriculture

Les endophytes sont importants sur le plan agricole, car ils peuvent favoriser la croissance des plantes et améliorer la nutrition des plantes grâce à la fixation de l'azote et à d'autres mécanismes (Sun *et al.*, 2008 ; Verma *et al.*, 2015). Les endophytes peuvent augmenter les rendements des cultures, éliminer les contaminants, inhiber les agents pathogènes et fixer l'azote ou produire de nouvelles substances (Verma *et al.*, 2015). Dans les relations endophytiques, les microorganismes favorisant la croissance des plantes (MFCP) résident dans les espaces apoplasmiques des plantes hôtes. Il existe des preuves directes de l'existence d'endophytes dans les espaces intercellulaires apoplasmiques du tissu parenchymateux et les vaisseaux du xylème (Glick, 2015).

La stimulation de la croissance par les endophytes peut être une conséquence de : la fixation de l'azote ; la production de phytohormones ; la lutte biologique contre les phytopathogènes par la production d'agents antimicrobiens ; la production de sidérophores ; la compétition pour les nutriments et l'induction de la résistance acquise de l'hôte ; ou l'amélioration de la biodisponibilité des minéraux (Sun *et al.*, 2008 ; Verma *et al.*, 2015). Plusieurs études ont indiqué que la colonisation endophytique peut également entraîner une augmentation de la vigueur

des plantes et conférer une tolérance aux stress biotiques et abiotiques, une meilleure tolérance à la sécheresse et une meilleure utilisation du phosphore (Verma *et al.*, 2015).

Les MFCP peuvent affecter la croissance des plantes directement ou indirectement. La promotion directe de la croissance des plantes par les MFCP, pour la plupart, implique de fournir à la plante un composé synthétisé par le microorganisme ou de faciliter l'absorption de certains nutriments de l'environnement. La promotion indirecte de la croissance des plantes se produit lorsque les MFCP diminuent ou préviennent les effets délétères d'un ou plusieurs organismes phytopathogènes.

1.1.5.1. Activités directes de promotion de la croissance des plantes

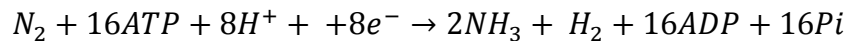
Les endophytes exercent des effets bénéfiques sur les plantes. Ils peuvent améliorer la croissance des plantes directement ou indirectement via plusieurs mécanismes. Les mécanismes de croissance directe comprennent : la solubilisation de nutriments minéraux immobilisés tels que le phosphore et le zinc ou la minéralisation de composés organiques du phosphore ; la fixation d'azote atmosphérique ; la production de différents types de phytohormones (les auxines, les cytokines) ; la séquestration du fer par les sidérophores ; l'oxydation du soufre ; la production d'acide aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) désaminase (Van Loon, 2007).

❖ La fixation biologique de l'azote

L'azote (N) est le nutriment le plus vital pour la croissance et la productivité des plantes. Bien qu'il y ait environ 78 % d' N_2 dans l'atmosphère, il n'est pas disponible pour les plantes en croissance. L'azote atmosphérique N_2 est converti en formes utilisables par les plantes par fixation biologique (FBN). Celle-ci transforme l'azote en ammoniac (NH_3) par des rhizobia, microorganismes fixant l'azote à l'aide d'un système enzymatique complexe connu sous le nom de nitrogénase (Kim & Rees, 1994). En effet, la FBN représente approximativement les deux tiers de l'azote fixé globalement, tandis que le reste de l'azote est synthétisé industriellement (Rubio & Ludden, 2008). De plus, la FBN représente une alternative économiquement avantageuse et écologiquement rationnelle face aux engrais chimiques (Verma *et al.*, 2015).

La structure de la nitrogénase a été élucidée par Dean & Jacobson (1992) comme métalloenzyme à deux composants consistant en (i) la dinitrogénase réductase qui est la protéine du fer et (ii) la dinitrogénase qui a un cofacteur métallique. La dinitrogénase réductase fournit aux électrons un pouvoir réducteur élevé tandis que la dinitrogénase utilise ces électrons pour réduire N_2 en NH_3 . Sur la base du cofacteur métallique, trois systèmes différents de fixation d'azote ont été identifiés (a) Molybdène-nitrogénase (b) Vanadium-nitrogénase et (c) Fer-nitrogénase (Bishop & Jorger, 1990). Structurellement, le système de fixation de N_2 varie selon les différents genres

bactériens. La plus grande partie de la fixation biologique de l'azote est réalisée par l'activité de la nitrogénase du molybdène (Bishop & Jorerger, 1990). L'équation globale de cette fixation est la suivante :



Dans les sols acides tropicaux tels que les sols ferrallitiques du Cameroun, la FBN est fortement limitée par les oxydes d'aluminium et de fer (Ngo Nkot, 2009)

❖ La solubilisation du phosphore

Le phosphore (P), le deuxième nutriment important limitant la croissance des plantes après l'azote, est abondamment disponible dans les sols sous forme organique et inorganique (Khan *et al.*, 2009). Malgré le grand réservoir de P, la quantité de formes disponibles pour les plantes est généralement faible. Cette faible disponibilité du phosphore pour les plantes est due au fait que la majorité du P du sol se trouve sous des formes insolubles. Alors que les plantes ne l'absorbent que sous deux formes solubles, les ions monobasiques ($H_2PO_4^-$) et dibasiques ($H_2PO_4^{2-}$) (Bhattacharyya & Jha, 2012). Le P insoluble est présent sous forme de minéral inorganique tel que l'apatite ou sous l'une des nombreuses formes organiques, notamment l'inositol phosphate (phytate du sol), les phosphomonomères et les phosphotriesters (Glick, 2012).

Typiquement, la solubilisation du phosphore inorganique se produit suite à l'action d'acides organiques de faible poids moléculaire qui sont synthétisés par divers microorganismes du sol (Zandi *et al.*, 2010). À l'inverse, la minéralisation du phosphore organique se produit par la synthèse d'une variété de phosphatases différentes, catalysant l'hydrolyse des esters phosphoriques (Glick, 2012). Il est important de noter que la solubilisation et la minéralisation du phosphate peuvent coexister dans la même souche microbienne (Tao *et al.*, 2008). L'utilisation des microorganismes solubilisant le phosphore (MSP) dans les pratiques agricoles compenserait non seulement le coût élevé de la fabrication des engrais phosphatés, mais mobiliserait également le phosphore insoluble dans les engrais et les sols sur lesquels ils sont appliqués (Gurjot, 2016). Parmi l'ensemble de la population microbienne du sol, les bactéries solubilisant les phosphores représentent 1 à 50 %, tandis que les champignons solubilisant le phosphore ne représentent que 0,1 à 0,5 % du potentiel de solubilisation du phosphore (Fankem *et al.*, 2007 ; Mohammadi, 2012).

❖ La production de phytohormone

Les endophytes produisent des phytohormones qui améliorent la promotion de la croissance des plantes et modifient la morphologie et la structure de la plante. Ils aident à l'amélioration de la croissance et à la protection des plantes non-légumineuses par la sécrétion d'acide gibbérellique, d'indole et éthylène (Babalola, 2010 ; Dutta *et al.*, 2014).

Les hormones végétales sont des régulateurs qui influencent la croissance et le développement des plantes et l'acide 3-indole-3-acétique (IAA) est l'une des auxines les plus actives physiologiquement (Gurjot, 2016). L'IAA favorise la division, la différenciation et l'extension des cellules végétales ; il stimule la germination des graines et des tubercules ; augmente le taux de développement des racines et du xylème, améliore l'initiation latérale, contrôle le taux de croissance végétative et la formation de racines adventives ; ainsi que la formation de pigments et la biosynthèse des métabolites ; il affecte la photosynthèse et la résistance aux conditions extrêmes (Ahemad & Kibret, 2014).

❖ L'activité ACC désaminase

En général, l'éthylène est un métabolite essentiel pour la croissance et le développement normal des plantes (Khalid *et al.*, 2006). Cette hormone de croissance végétale est produite de manière endogène par approximativement toutes les plantes et est également produite par différents processus biotiques et abiotiques dans les sols et est importante pour induire de multiples changements physiologiques chez les plantes. En plus d'être un régulateur de croissance des plantes, l'éthylène a de plus été établi comme une hormone de stress (Saleem *et al.*, 2007). Dans des conditions de stress telles que celles générées par la salinité, la sécheresse, les métaux lourds et la pathogénicité, le niveau endogène d'éthylène est considérablement augmenté, ce qui affecte négativement la croissance globale des plantes.

Par exemple, la forte concentration d'éthylène induit une défoliation et d'autres processus cellulaires pouvant entraîner une baisse des performances des cultures (Saleem *et al.*, 2007 ; Bhattacharyya & Jha, 2012). Les endophytes qui possèdent l'enzyme ACC désaminase, facilitent la croissance et le développement des plantes en diminuant les niveaux d'éthylène, induisant la tolérance au sel et réduisant le stress hydrique chez les plantes (Zahir *et al.*, 2008). Ces derniers absorbent l'ACC, précurseur de l'éthylène et le convertissent en 2-oxobutanoate et NH₃ (Arshad *et al.*, 2007).

1.1.5.2. Activités indirectes de promotion de la croissance des plantes

Le mécanisme indirect de la croissance des plantes se produit lorsque les microorganismes atténuent ou préviennent les effets néfastes des agents pathogènes sur les plantes en produisant des substances inhibitrices ou en induisant la résistance naturelle de l'hôte. Les mécanismes indirects de croissance des plantes comprennent : l'antibiose ; la production de sidérophores ; la résistance systémique induite (RSI) ; la concurrence pour des ressources limitées ; la production de cyanure d'hydrogène (HCN) ; la production d'ammoniac (NH₃), la production d'une large gamme

d'enzymes dégradant la paroi cellulaire (β -1, 3-glucanase, chitinases, lipases, protéases...) (Glick *et al.*, 2007).

❖ La production d'antibiotiques et d'enzymes lytiques

La production d'antibiotiques est considérée comme l'un des mécanismes de biocontrôle les plus puissants et est de mieux en mieux comprise au cours des deux dernières décennies (Gupta *et al.*, 2015). Des variétés d'antibiotiques ont été identifiés, y compris des composés tels que l'amphisine, l'oomycine A, la phénazine, la pyolutéorine, la pyrrolnitrine, la tensine, la tropolone et les lipopeptides cycliques produits par les *Pseudomonas* et l'oligomycine A, la kanosamine, la zwittermicine A et le xanthobaccin produit par *Bacillus*, *Streptomyces* et *Stenotrophomonas sp.* pour empêcher la prolifération d'agents pathogènes des plantes.

L'amélioration de la croissance par l'activité enzymatique est un autre mécanisme utilisé par les MFCP. Ils peuvent produire certaines enzymes telles que les chitinases, déshydrogénase, β -glucanase, lipase, phosphatase, protéase, etc., et présenter une activité hyperparasitaire, attaquant les agents pathogènes en produisant des hydrolases de la paroi cellulaire. Des études ont montré que la production d'enzymes de dégradation de la paroi cellulaire telles que cellulase, phosphatase ou pectinase par les MFCP était importante pour faciliter l'entrée des bactéries dans les espaces intercellulaires (Etesami *et al.*, 2013).

Grâce à ces activités enzymatiques, les MFCP jouent un rôle très important dans la promotion de la croissance de celles-ci, notamment pour les protéger des stress biotiques et abiotiques.

❖ La production de sidérophore

Dans les sols anaérobies et acides, de fortes concentrations d'ions ferreux (Fe^{2+}) générées par la réduction d'oxydes de fer (Fe^{3+}) dans les sols inondés entraînent une toxicité ferreuse due à une absorption excessive de fer. Il a également été démontré que l'excès de fer inhibait la croissance des plantes et entraînait une diminution de la productivité (Gurjot, 2016).

La production des sidérophores par les microorganismes rhizosphériques stimule la croissance des plantes soit en améliorant la nutrition en Fe des plantes, soit en rendant le Fe indisponible pour les phytopathogènes, protégeant ainsi les plantes des agents pathogènes (Souza *et al.*, 2013).

❖ La production de cyanure d'hydrogène (HCN) et d'ammoniac (NH_3)

Le HCN est couramment utilisé comme agent de lutte biologique dans le système agricole sur le principe d'une toxicité significative contre les phytopathogènes ; il est aussi utilisé dans la chélation des ions métalliques ainsi qu'indirectement impliqué dans la mise à disposition du phosphate (Rijavec & Lapanje, 2016). La production et la synthèse de HCN par les MFCP sont

indépendantes de leur genre, et leur impact suggère leur possibilité d'être utilisé comme engrais biologique ou comme biocontrôle pour améliorer la production des plantes (Rijavec & Lapanje, 2016). De nombreux auteurs ont signalé la capacité des MFCP à produire du HCN et son utilisation comme biofertilisant dans la promotion de la croissance et l'amélioration du rendement (Rijavec & Lapanje, 2016 ; Kumar *et al.*, 2016).

Outre le HCN, la production de NH_3 est un autre trait des MFCP qui a un rôle de signalisation entre les interactions entre les plantes et les microorganismes (Ahemad & Khan, 2010). L'ammoniac produit peut-être absorbé par les plantes comme source d'azote et favoriser ainsi l'élongation des racines, des pousses, l'augmentation de leur biomasse et par conséquent la croissance des plantes ou de manière indirecte comme agent de lutte biologique dans le système agricole sur le fondement d'une toxicité contre les phytopathogènes (Deepa *et al.*, 2010 ; Marques *et al.*, 2010 ; Kumar *et al.*, 2016). Ces différentes interactions endophytes-plantes et leurs caractéristiques sont présentées dans la figure 3 (Suman *et al.*, 2016) ci-après :

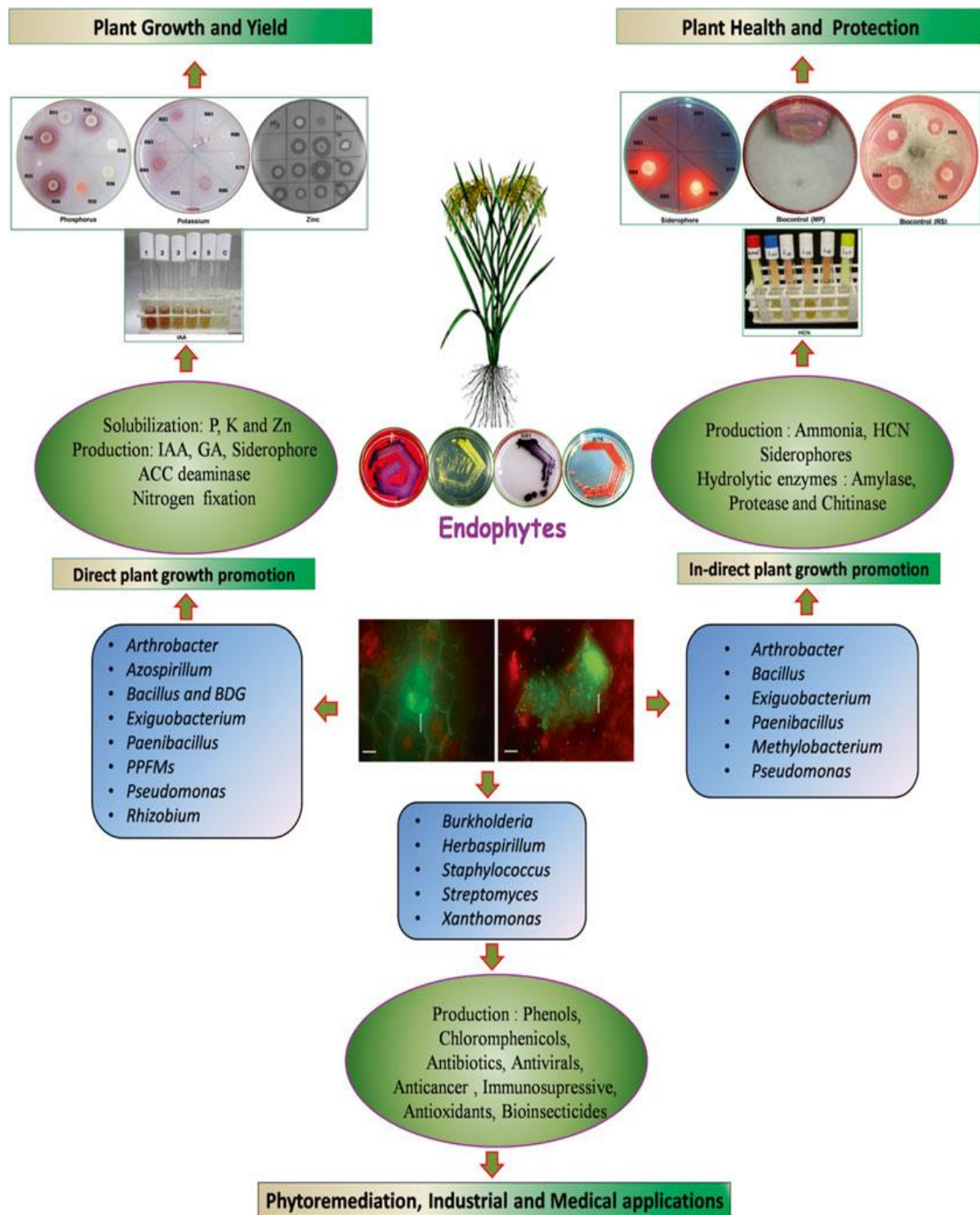


Figure 3. Diagramme schématique des différentes interactions endophytes-plantes et leurs applications (Suman *et al.*, 2016)

1.1.6. Diversité des endophytes associés à la famille des Zingibéraceae

Les endophytes associés à la famille des Zingiberaceae ont été isolés grâce à différentes parties (les segments de feuille et de la nervure médiane ; le méristème ; les racines ; la tige ; le limbe de la feuille et le pétiole). Ils sont généralement isolés par stérilisation de surface suivie d'une culture à partir d'extrait de tissus broyés ou par culture de tissus végétaux sur des milieux appropriés (Hata & Sone, 2008). L'identification des endophytes a été effectuée en fonction de caractéristiques morphologiques corroborées par des essais biochimiques. Les techniques biologiques moléculaires modernes ont également été explorées pour l'identification des microorganismes ainsi que leurs relations phylogénétiques. Les endophytes associés aux Zingiberaceae sont très diversifiés (figure 4).

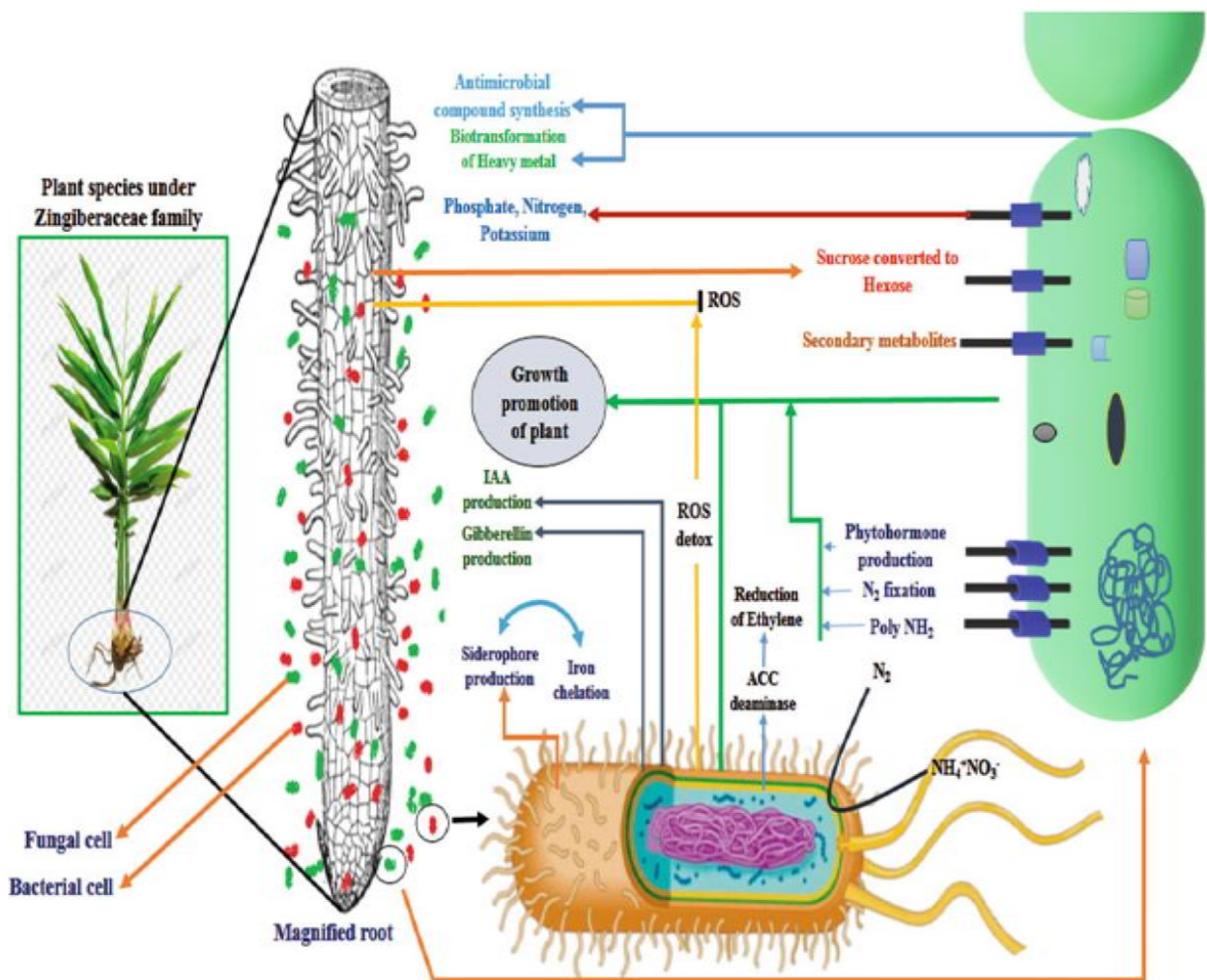


Figure 4. Représentation schématique des impacts bénéfiques de différents endophytes associés à la famille des Zingiberaceae (Chakraborty *et al.*, 2019)

Le rhizome de *Curcuma longa* sous terre favorise la croissance de diverses communautés microbiennes ou endophytes, qui modulent la croissance des plantes par la synthèse de substances biochimiques et de métabolites secondaires (Kumar *et al.*, 2016).

Les champignons endophytes dominants isolés avec succès des Zingiberaceae proviennent des Ascomycètes, puis des Basidiomycètes, Zygomycètes et Deuteromycètes (Hartanti, 2015). Les Ascomycètes les plus souvent isolés sont *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Colletotrichum spp.*, *Acremonium spp.*, *Trichoderma spp.* (Hapsari *et al.*, 2014).

Diverses bactéries endophytes (*Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sp.*, *Bacillus pumilis*, *Pseudomonas putida*, *Clavibacter michiganensis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus safensis*, *Brevibacterium halotolerans*) ont été isolées du rhizome de *Curcuma longa* (Kumar *et al.*, 2016 ; Septiana *et al.*, 2017 ; Deshmukh *et al.*, 2018), ils hébergent des caractères favorisant la croissance des plantes de degré variable pour répondre aux besoins de l'hôte.

1.2. GÉNÉRALITÉS SUR LE CURCUMA ET LA CURCUMINE

1.2.1. Étymologie et historique

1.2.1.1. Étymologie

Le terme *Curcuma* est d'origine irano-indienne. Il dérive du sanscrit *kartouma* qui a donné *kurkum* en persan ancien, *kourkoum* en arabe et *Curcuma* en latin (Delaveau, 1987). C'est sous cette dernière forme qu'il est passé dans les langues européennes, le « c » se transformant parfois en « k » dans les langues germaniques, à l'exception de l'anglais qui le désigne sous le nom de *turmeric*. C'est d'ailleurs la langue anglaise qui a conservé l'origine de son appellation en latin médiéval, *terra merita* (terre mérite) par le mot "*turmeric*".

1.2.1.2. Historique

C'est une épice qui fait l'objet d'échanges commerciaux depuis des millénaires dont on ne peut déterminer avec certitude son origine.

Le curcuma (*Curcuma longa*) est originaire du sud de l'Asie. Il est largement cultivé en Inde mais aussi, à un moindre degré, en Chine, à Taïwan, au Japon, en Birmanie, en Indonésie et en (Lepoivre, 2003). Cette plante est décrite et utilisée depuis au moins 4000 ans dans le système médical populaire traditionnel indien où elle se nomme Haridra en ancien Sanskrit. Elle était, et est toujours, une des pièces centrales de la médecine Ayurvédique, considérée comme symbole de prospérité et de bonne santé. Elle a aussi une longue tradition dans la médecine chinoise. Outre ses propriétés médicinales, on l'utilisait (et on l'utilise toujours) à la fois pour son odeur, sa couleur jaune orangé comme colorant alimentaire et textile, et sa flaveur en tant qu'épice alimentaire au goût légèrement âpre et amer, poivré et aromatique. Des propriétés de conservation des aliments lui sont également attribuées (Aggarwal *et al.*, 2007). En Europe, les moines font mention de la plante, introduite par les navigateurs, dans leurs écrits dès le 6^e siècle. Elle est connue en Chine

depuis le 7^e siècle, en Afrique de l'Est depuis le 8^e siècle, en Afrique de l'Ouest depuis le 13^e siècle. C'est une plante ramenée en Europe en 1298 par Marco Polo qui le découvre en Chine et par les arabes au 13^e siècle (Delaveau, 1987)

1.2.2. Classification systématique et description du *Curcuma longa*

1.2.2.1. Classification systématique

La classification phylogénétique du *curcuma* selon Roskov *et al.* (2021) est la suivante :

- Domaine : Eukaryota
- Règne : Plantae
- Embranchement : Tracheophyta
- Classe : Liliopsida
- Ordre : Scitaminales ou Zingiberales
- Famille des Zingiberaceae
- Genre : *Curcuma*
- Espèce : *Curcuma longa* L.

Le genre *Curcuma* comprend une quarantaine d'espèces à 110 selon les sources, originellement répandues dans les régions d'Asie tropicale et d'Australie septentrionale, aux précipitations très saisonnières (Zakaria, 2012). Il regroupe de nombreuses espèces ornementales, tandis que d'autres se sont démarquées par l'utilisation de leur rhizome, aux propriétés culinaires et médicinales. Parmi ces espèces, *Curcuma longa* est de loin la plus utilisée et par conséquent la plus étudiée, mais on retrouve également *Curcuma xanthorrhiza* dit *temoe lawak* et la zédoaire, décrite sous le nom de *Curcuma zedoaria* Roscoe ou *Curcuma zerumbet* Roxburgh (Delaveau, 1987).

1.2.2.2. Description du *Curcuma longa*

Le *Curcuma longa* est une plante herbacée touffue, haute de moins d'un mètre. Il est représenté sur la figure 5 suivante :



Figure 5. Aspect général du *Curcuma longa*. (a) Schémas (b) Photographie de la plante (c) Rhizomes primaires et secondaires obtenus après 8 mois (Jourdan, 2015)

Le rhizome peut être simplement ovoïde ou garni de ramifications plus ou moins longues et nombreuses. Les feuilles sont pétiolées, de forme lancéolée, oblongue ou ovale, de couleur vert vif à vert profond sur le dessus, généralement plus pâle sur le dessous (Zakaria, 2012). Elles naissent à partir du rhizome, sont alternes et distiques, présentent un pétiole engainant, portant un limbe penninervé, oblong-lancéolé, long d'une cinquantaine de centimètres, glabre sur les deux faces (Ravindran *et al.*, 2007). Ces feuilles dépérissent majoritairement pendant la saison sèche tropicale et laissent apparaître les tiges florales au sommet desquelles les fleurs sont arrangées en un court épi, formé par les bractées fusionnées entre elles sur les côtés. Les bractées du bas de l'inflorescence sont fertiles, peu colorées, souvent vertes, et plus largement soudées entre elles,

formant de petites poches abritant les fleurs (Zakaria, 2012). Les bractées supérieures sont plus grandes et longues, et plus vivement colorées.

Le rhizome est écaillé, charnu, comportant un tubercule primaire ellipsoïde d'environ 5 cm×2,5 cm, présentant à maturité de nombreux rhizomes latéraux découpés en forme de doigts d'un diamètre voisin du centimètre. La surface externe est gris-jaune et porte la cicatrice des racines. La cassure est franche et finement granuleuse, non fibreuse, variant du jaune à l'orange sombre (Zakaria, 2012).

Le fruit du *curcuma* est une capsule globuleuse, mais il n'est pas produit chez l'espèce *Curcuma longa*, plante stérile répandue par division de son rhizome (Zakaria, 2012).

1.2.2.3. Production et commerce international

Actuellement, l'Inde est le plus gros producteur, avec 400 000 tonnes soit 70 à 75% de production mondiale sur 150 000 hectares de plantations et domine le commerce international qui est estimé à 20 000 tonnes par an (Lamouche, 2011). En 2009, la récolte de *Curcuma* frais indien a été évaluée à 336 000 tonnes (Lamouche, 2011). Cette production est principalement destinée au marché intérieur puisque la consommation nationale annuelle est estimée à 300 000 t, c'est-à-dire environ 89 % de la production indienne. Or, la faible proportion de *Curcuma* indien exportée représente tout de même 69,7 % des exportations mondiales de *Curcuma* en 2009 (Intracen, 2018).

On compte parmi les autres producteurs d'Asie, le Bangladesh, le Pakistan, le Sri Lanka, Taïwan, la Chine, le Myanmar et l'Indonésie (Hombourger, 2010). Les échanges mondiaux de *Curcuma* en 2010 représentent 133 millions de dollars USD avec une évolution positive de 87% en comparaison avec 2009 (Intracen, 2018). Ainsi, le *Curcuma* fait partie des épices où la demande sur le marché international est exponentielle. En effet, il bénéficie d'une forte demande sur les marchés de produits naturels que ce soit comme colorant, épice ou médicament. Ces échanges sont à destination d'une multitude de pays comme le montre la figure 6 ci-dessous ; Effectivement, la Malaisie, premier pays importateur de *Curcuma* en 2010 avec 10,6% des importations mondiales, est suivie de près par le Japon et les USA avec respectivement une part de 10,1% et de 10% dans les importations mondiales (Intracen, 2018).

On peut en déduire que le marché du *Curcuma* est internationalisé et il n'y a pas d'accapement de la production par un pays importateur dominant.

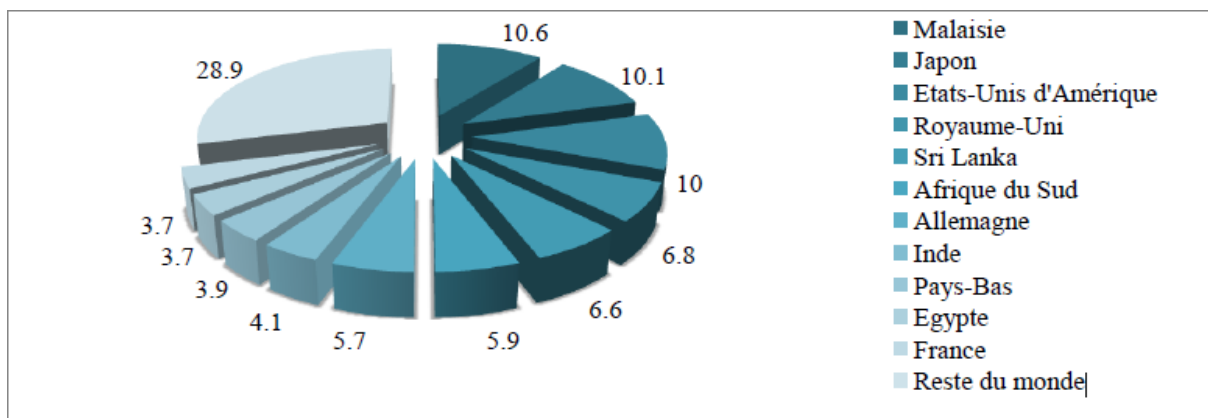


Figure 6. Part des importations mondiales du *Curcuma longa* en 2010 (%) (Intracen, 2018)

1.2.3. Culture du *Curcuma longa*

1.2.3.1. Croissance, développement, récolte et rendement

Deux à quatre semaines après la mise en terre de la culture, la germination des plants est achevée ; après quoi intervient une période de croissance végétative active. La floraison et le développement des rhizomes débutent environ cinq mois après la plantation.

La période de croissance végétative se déroule 7 à 10 mois après la germination des plants. Une fois cette période passée, les feuilles jaunissent et la récolte est prête à être arrachée. Le rendement moyen observé en rhizome frais est de 17-23 t/ha si la culture est irriguée et de 6,5-9 t/ha en culture pluviale (Cardon, 2005). Cependant, ces rendements varient en fonction du cultivar, des conditions pédoclimatiques, de la conduite de l'exploitation, de la période de récolte, etc. (Cardon, 2005).

1.2.3.2. Écologie

Le *Curcuma* demande un climat humide et chaud. Il peut être cultivé dans la plupart des régions tropicales et subtropicales pourvu que les précipitations soient suffisantes (1000-2000 mm) ou que l'on puisse irriguer. Des précipitations de 1200 à 1400 mm bien réparties sur 100 à 120 jours sont idéales. La culture a été étendue à des régions où les précipitations dépassent 2000 mm (Jansen *et al.*, 2005). Le curcuma est cultivé jusqu'à 1200 m d'altitude sur les contreforts de l'Himalaya mais il pousse mieux à des altitudes comprises entre 450 et 900 m (Jansen *et al.*, 2005). La culture se fait sans irrigation, là où les précipitations sont bimodales et abondantes et avec irrigation dans les plaines où les précipitations sont faibles et unimodales (Sarma *et al.*, 2003, Pradhan *et al.*, 2003). Les températures optimales sont de 30 à 35°C pendant le démarrage, de 25 à 30°C pendant le tallage, de 20 à 25°C pendant l'initiation des rhizomes et de 18 à 20°C pendant leur développement (Jansen *et al.*, 2005).

Le *Curcuma* se développe bien sur les sols meubles et friables, bien drainés, limoneux ou alluviaux et argileux riches en matières organiques. Les sols grossiers ou lourds empêchent le développement des rhizomes. La culture est sensible aux sols salins et à l'irrigation avec de l'eau saline. Elle pousse dans des sols dont le pH est compris entre 5 et 7,5 (Nybe *et al.*, 2003 ; Sarma *et al.*, 2003, Pradhan *et al.*, 2003 ; Jansen *et al.*, 2005). Il ne supporte pas l'asphyxie racinaire ou les sols alcalins (Jansen *et al.*, 2005). Affectionnant l'ombre, il vient bien à mi-ombre et peut être cultivé sous des arbres fruitiers (Jansen *et al.*, 2005). Les rhizomes sont plantés à une profondeur comprise entre 8 et 12 cm (Ishimine *et al.*, 2003).

De nombreux auteurs ont montré que le *Curcuma* nécessite de grands apports en nutriments qui varient en fonction du cultivar, des conditions agroécologiques et des pratiques culturales. TNAU (2004) en Inde recommande l'application de 200-300 kg d'N/ha ; 125-150 kg de P₂O₅/ha et 100-150 kg de K₂O/ha en 3 doses. En Éthiopie Behailu & Weyessa (2019) recommande l'application de 115 kg d'N/ha. Sa croissance nécessite également la présence de micronutriments tels que le Mg, le Fe, le Zn et le bore (TNAU, 2004).

1.2.3.3. Multiplication et plantation

La multiplication se fait de façon végétative par les rhizomes. On utilise généralement des rhizomes mères, entiers ou coupés en morceaux, et des rhizomes filles (les doigts). En qualité de matériel de reproduction, les rhizomes mères sont meilleurs que les filles.

Néanmoins, il a aussi été établi que des rhizomes filles de grande taille germaient mieux et avaient des rendements supérieurs aux rhizomes mères. Les doigts se stockent plus facilement, tolèrent mieux les sols humides et peuvent être plantés à une densité inférieure (Jansen *et al.*, 2005).

Il faut entreposer les rhizomes deux à trois mois entre la récolte et la plantation. Pour cela, on les étale en couche fine sous une couverture de feuilles de *Curcuma* ou bien on les entasse en tas sous une couche de paille et de terre (Jansen *et al.*, 2005).

Le champ doit être bien préparé par labour ou bêchage, en retournant la terre jusqu'à environ 30 cm de profondeur, afin d'obtenir une bonne couche arable. D'importantes quantités d'engrais organique (fumier de ferme, tourteau d'oléagineux, feuilles vertes) sont généralement appliquées. L'optimum serait d'approximativement 25 t/ha de fumier ou de compost (Jansen *et al.*, 2005).

Il y a en général deux façons de planter : à plat ou sur billons. La culture à plat est normalement meilleure, mais aux endroits trop ou pas assez humides, la culture sur billons s'avère supérieure, car elle facilite le drainage et l'irrigation. Les billons doivent avoir 20 à 25 cm de haut et 45 à 50 cm de large et les rhizomes doivent être plantés à une distance de 30 à 40 cm. Le meilleur

espacement en culture à plat est de 25 cm x 25 cm. Toutefois, de bons résultats ont été obtenus avec des espacements de 30 cm x 15 cm ou de 15 cm x 15 cm. S'il est en culture associée, l'espacement est ajusté en conséquence (Jansen *et al.*, 2005).

1.2.3.4. Maladies et ravageurs

La maladie des taches foliaires, ainsi que la pourriture du rhizome sont les principales maladies du *Curcuma* rencontrées sous les tropiques et en Inde.

La maladie des taches foliaires, provoquée par le champignon *Taphrina malucans*, se caractérise par l'apparition de taches sur les deux côtés des feuilles, de 1 à 2 mm de diamètre, qui fusionnent largement ; Les feuilles infectées se tordent, prennent un aspect brun rougeâtre et ne tardent pas à jaunir (Jansen *et al.*, 2005). On peut lutter raisonnablement contre cette maladie en appliquant des fongicides comme la bouillie bordelaise ou le zinèbe. Il existe des cultivars résistant à cette maladie (Jansen *et al.*, 2005). Une autre maladie des taches foliaires est causée par le champignon *Colletotrichum capsici*, qui provoque des taches de taille variable, pouvant atteindre 4 à 5 cm x 3 cm, qui envahissent souvent presque toute la feuille, laquelle finit par se dessécher ; En cas d'infestation très grave, la plupart des feuilles se dessèchent et prennent un aspect roussi, ce qui se traduit par une perte de rendement supérieure à 50% (Jansen *et al.*, 2005).

De nombreux auteurs ont montré que la pourriture du rhizome est principalement provoquée par l'oomycète *Pythium aphanidermatum* (Sharma *et al.*, 2010 ; Sarathi *et al.*, 2014). Celle-ci entraîne un dessèchement progressif des feuilles sur les plantes contaminées. La base des pousses aériennes montre de molles lésions imbibées d'eau. La maladie progressant, l'infection se transmet progressivement aux rhizomes, qui commencent à pourrir et à devenir mous. D'orange vif, les rhizomes deviennent marrons. La maladie peut se limiter à quelques plantes isolées, ou bien s'étendre en plages dans le champ. En cas d'attaque grave, le rendement est sérieusement limité. En outre, cette maladie est également causée par d'autres microorganismes à savoir : *Rhizoctonia*, *Pythium myriotylum*, *Fusarium oxysporum* et *Pseudomonas* (Sharma *et al.*, 2010).

L'une des méthodes efficaces pour en venir à bout est d'éliminer les plantes infectées et de les brûler. Pour les cas sérieux, il est judicieux de désinfecter le sol avec un fongicide. Traiter le matériel de plantation au fongicide permet de prévenir la maladie (Jansen *et al.*, 2005).

Parmi les ravageurs du *Curcuma*, on trouve les foreurs des pousses, les insectes mangeurs de feuilles, les insectes suceurs et les nématodes (Jansen *et al.*, 2005). En Afrique et dans le Pacifique du sud, la cochenille *Aspidiella hartii* est un insecte suceur qui détruit les rhizomes encore au champ ; Elle se multiplie par ailleurs sur les rhizomes frais stockés pour la plantation. Les rhizomes finissent par se dessécher. Parmi les nématodes répertoriés s'attaquant au *Curcuma*

figurent le nématode à galles (*Meloidogyne incognita*) et le nématode foreur des racines (*Radopholus similis*) (Jansen *et al.*, 2005).

1.2.3.5. Importance du *Curcuma longa*

Étant en même temps une épice, une plante médicinale et un colorant, le *Curcuma* est un produit d'intérêt pour les industries agroalimentaires, textiles, cosmétiques et pharmaceutiques. Le principal usage de celui-ci est alimentaire dans le rôle d'une épice où il est utilisé sous forme de poudre ; C'est un ingrédient largement utilisé dans différentes cuisines dans le monde telles que les cuisines asiatiques et créoles (Lamouche, 2011). L'industrie agroalimentaire emploie largement de la curcumine concentrée comme colorant alimentaire naturel nommé, E100 (Kamble & Soni, 2009).

Il sert aussi de colorant pour les textiles et est reconnu comme une couleur étant captable de teindre le coton sans mordant ; Des recettes datant ainsi des Assyriens (600 ans av. JC.) ont été retrouvées, mentionnant l'utilisation du *Curcuma* comme colorant et qu'il est traditionnellement utilisé pour confectionner les tissus de Madras (Lamouche, 2011).

Enfin, de manière ancestrale, il fait partie d'un des principaux médicaments de la médecine Âyurvédique, médecine traditionnelle Indienne et est utilisé de façon récurrente comme composant de masque traditionnel de beauté à travers le monde (Lamouche, 2011). Le principe actif qui confère au *Curcuma* de nombreuses propriétés bienfaitantes est la curcumine. Des recherches sur cette molécule ont débuté depuis les années 1970 et se multiplient ces dernières années dans le monde entier. On attribue aujourd'hui au *Curcuma* de multiples propriétés bénéfiques pour la santé comme étant un antioxydant, antiinflammatoire et anticancérigène (Lamouche, 2011). La communication des résultats de ces études a induit une forte popularité auprès d'un public surtout européen/occidental toujours en quête de solutions pour palier à ces pathologies. Ainsi, les industries pharmaceutiques développent de plus en plus de produits à base de *Curcuma* afin de trouver des compositions de « produit miracle » satisfaisant ce public (Lamouche, 2011).

1.2.3.6. Composition nutritive

Pour 100 g de partie comestible, la poudre de *Curcuma* contient approximativement : 11,4 g d'eau ; 1481 kJ (354 kcal) d'énergie ; 7,8 g protéines ; 9,9 g de lipides ; 64,9 g de glucides ; 21,1 g de fibres alimentaires ; 183 mg de Ca ; 193 mg de Mg ; 268 mg de P ; 41,4 mg de Fe et 4,4 mg de Zn (Hombourger, 2010). Le rhizome du *Curcuma longa* est la partie du végétal qui regroupe la grande majorité des molécules d'intérêt (Savina, 2014).

La curcumine a été isolée pour la première fois en 1815 et sa structure chimique a été déterminée par Roughley et Whiting en 1973. Elle a un point de fusion de 176–177°C ; et est

soluble dans l'éthanol, l'acétone, l'acide acétique et le chloroforme (Kumar *et al.*, 2011). Elle présente différentes sources illustrées par la figure 7 ci-après :

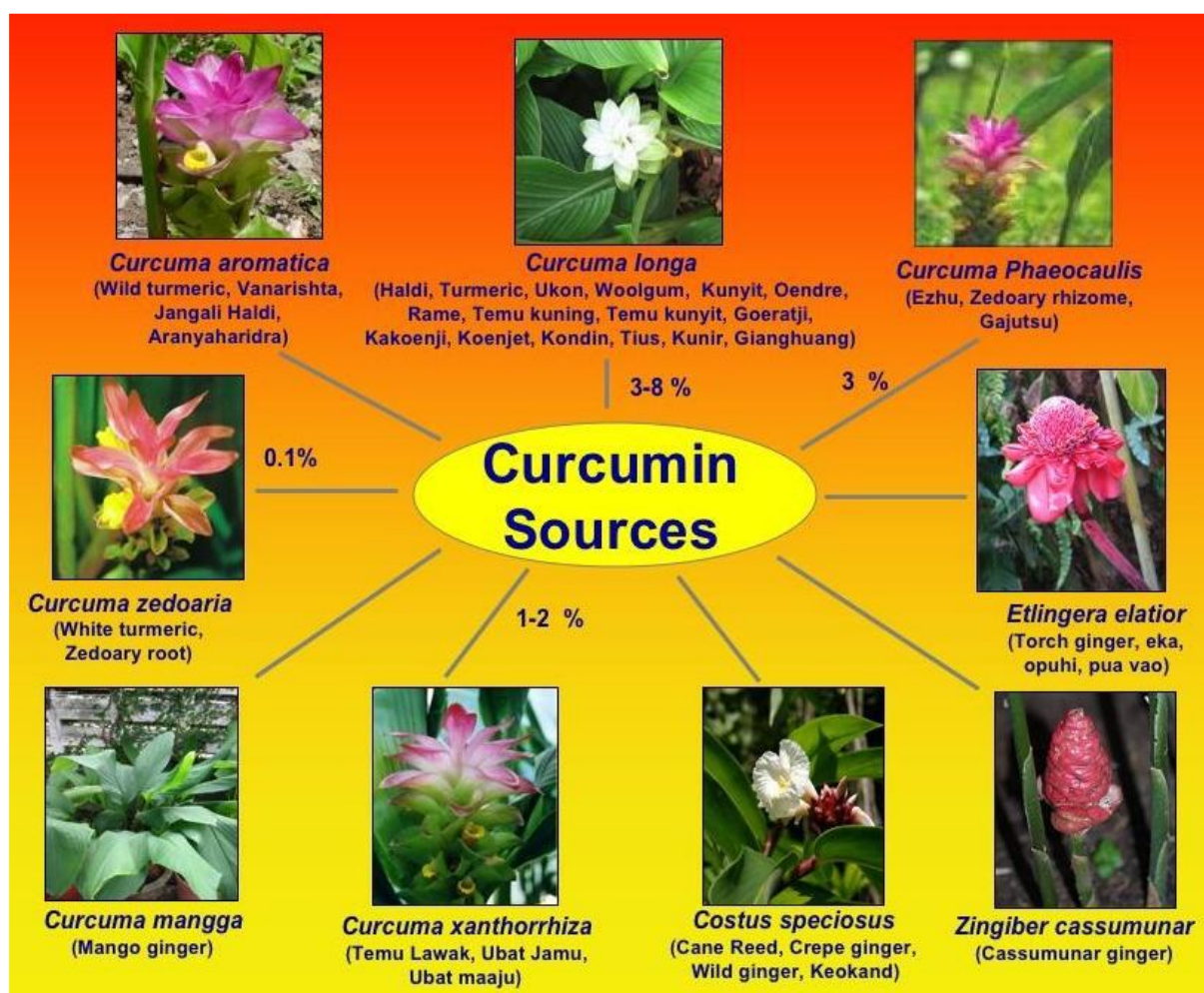


Figure 7. Quelques espèces de *Curcuma* sources de curcumines (Aggarwal *et al.*, 2007)

La curcumine est d'un intérêt capital, en santé publique, pour ses propriétés anti-inflammatoires, anti-cancéreuses, antivirales, antifongiques et antibactériennes (Thangapazham *et al.*, 2013). En outre, de nombreuses études ont démontré que l'action de ce composé actif met en jeu des processus de régulation impliquant des facteurs de transcriptions, des facteurs de croissance, des cytokines inflammatoires, des protéines kinases et autres enzymes biologiques (Thangapazham *et al.*, 2013).

1.2.4. Huiles essentielles du *Curcuma*

Par distillation à la vapeur d'eau, les rhizomes produisent 2 à 7% d'huile essentielle, qui est rouge orangé et légèrement fluorescente. Ses constituants principaux sont un sesquiterpène, le zingibérène (25%) et ses dérivés cétoniques : la turmérone (35%) et l'ar-turmérone (déhydroturmérone) (12%) (Jansen *et al.*, 2005) (Figure 8).

L'huile essentielle de *Curcuma* se compose également en petites quantités de monoterpènes oxygénés, associés à de petites quantités de sesquiterpènes hydrocarbonés et de monoterpènes hydrocarbonés. La contribution relative de chaque composant à l'arôme et à la saveur est mal connue. L'arôme de l'huile essentielle distillée à la vapeur est différent de celui de l'épice, ce qui serait dû, pense-t-on, à la formation d'artefacts lors de la distillation (Jansen *et al.*, 2005).

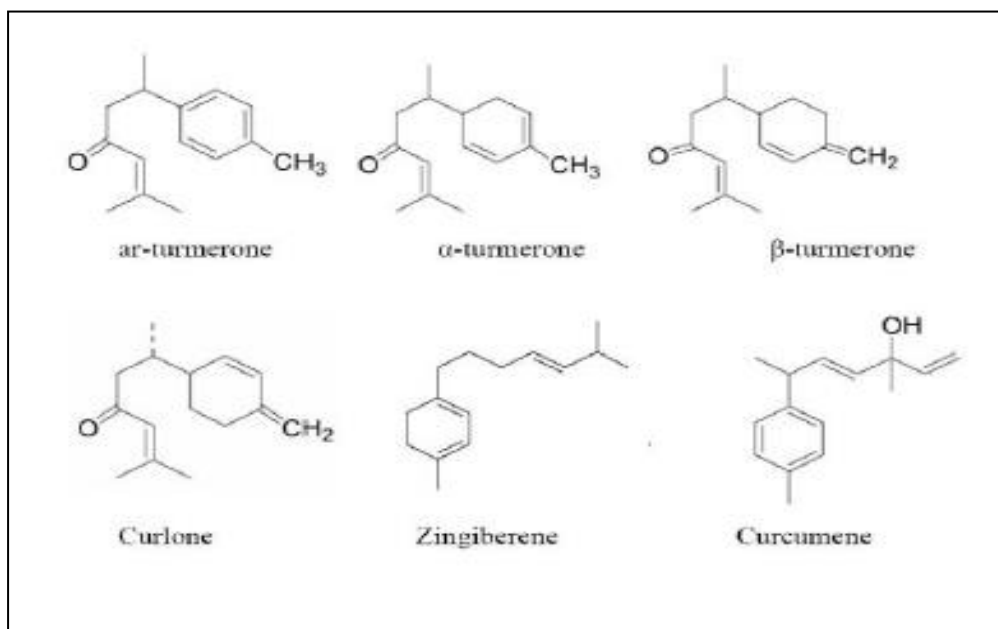


Figure 8. Structure chimique des principaux constituants de l'huile essentielle de *Curcuma* (Dohare *et al.*, 2008)

1.2.5. La curcumine

L'extraction du rhizome de *Curcuma longa* à l'aide de solvants (Ethanol, méthanol, acétone, éthyl acétate...) permet d'obtenir les curcuminoïdes qui sont des composés phénoliques. Ils comprennent principalement la curcumine (95%) (diferuloyl méthane), la déméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine (5%) (Amalraj *et al.*, 2017). Le *Curcuma* est composé de 3 à 8% de curcumine (Aggarwal *et al.*, 2007). La curcumine est l'une des fractions les plus importantes responsables des activités biologiques du *Curcuma*. La figure 9 suivante présente les structures chimiques des curcuminoïdes.

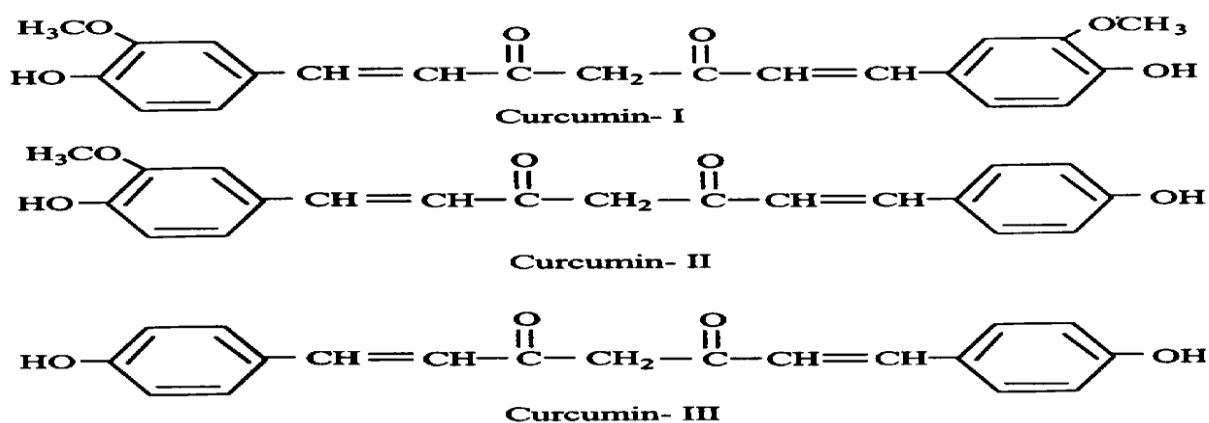


Figure 9. Structures chimiques des curcuminoïdes. Curcumin (Curcumin-I), demthoxycurcumin (Curcumin-II) et bisdemethoxycurcumin (Curcumin-III) (Kumar *et al.*, 2011)

Le broyage du rhizome de *Curcuma longa* fournit donc une fraction volatile et une fraction non volatile de composition chimique bien distincte (Jayaprakasha *et al.*, 2005).

Tableau I. Composés actifs du broyat de *Curcuma longa* (Jayaprakasha *et al.*, 2005 ; Dohare *et al.*, 2008)

Fraction volatile	Fraction non volatile
Curlone	Composés phénoliques
α -Turmérone	Curcuminoïdes :
β -Turmérone	-Curcumine
<i>Ar</i> -Turmérone	- Bisdéméthoxycurcumine
Zingiberène	-Déméthoxycurcumine
curcumène	

1.2.5.1. Propriétés chimiques de la curcumine

La curcumine [1,7-bis-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) -hepta-1,6-diène-3,5-dione, (C₂₁H₂₀O₆), est un composé polyphénolique hydrophobe isolé du rhizome de *Curcuma longa* (Nabavi *et al.*, 2014).

Selon la Nutraceutica Bioavailability Classification Scheme (NuBACS), la curcumine présente une bioaccessibilité médiocre en raison de sa faible solubilité dans les liquides gastro-intestinaux et de sa faible stabilité au pH alcalin et à l'oxygène. La curcumine existe généralement sous la forme céto dans des conditions neutres et acides et dans la phase solide, à cause de son fragment dicétone (Nabavi *et al.*, 2018). La solubilité de la curcumine est en réalité assez faible dans l'eau à pH acide et possède une faible stabilité à pH 7. En outre, la curcumine a une biodisponibilité limitée. En effet, son absorption intestinale et son métabolisme rapide entraînent une glucuronidation et une sulfatation importante et une élimination rapide ultérieure. Tous ces facteurs sont responsables de la concentration à des niveaux nanomolaires dans le plasma humain, ce qui limite les effets biologiques de ce composé (Yang *et al.*, 2013).

1.2.5.2. Marché international de la curcumine

Le marché mondial de la curcumine devrait atteindre 94,3 millions de dollars d'ici à 2022 (Nabavi *et al.*, 2018). L'Amérique du Nord représente le plus grand marché pour la curcumine, suivie par l'Europe et le marché de l'Asie-Pacifique (Nabavi *et al.*, 2018). Le plus grand marché d'application de la curcumine est celui des produits pharmaceutiques, en raison du large éventail de propriétés biologiques associées à la curcumine (activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antifongiques, antibactériennes, antivirales, anti-ischémiques, anticancéreuses, hépatoprotectrices) (Darvesh *et al.*, 2012). En effet, le nombre de publications sur la curcumine a rapidement augmenté, passant de 108 en 2000 à environ 1 232 en 2015, avec environ 4 700 articles au cours des cinq dernières années (Nabavi *et al.*, 2018).

1.2.5.3. Méthodes de dosage de la curcumine

Différentes méthodes analytiques ont été développées ces dernières années pour l'analyse de contrôle de qualité des curcuminoïdes dans l'extrait de *Curcuma longa*, notamment la HPLC (High Performance Liquid Chromatography), la HPTLC (High-performance thin-layer chromatography) et la spectrophotométrie UV-Visible.

La curcumine quant à elle peut être déterminée par une méthode simple développée et validée selon l'harmonisation de la conférence internationale (HCI). Cette détermination peut se faire soit par spectrophotométrie UV-visible ($\lambda = 424$ nm), soit par HPLC. Ces méthodes conviennent à la détermination de la curcumine de l'extrait de *Curcuma longa* dans les conditions prescrites (Prasad *et al.*, 2018).

1.2.6. Propriétés pharmacologiques des composés actifs du *Curcuma* (curcumine et huiles essentielles)

En raison de ses activités biologiques, un grand nombre d'études ont été présentées sur la curcumine. Selon les études, la curcumine présente des activités antioxydante ; anti-inflammatoire ; antimicrobienne ; anticarcinogène (Aggarwal *et al.*, 2007, 2011 ; Amalraj *et al.*, 2017 ; Rahmani *et al.*, 2018). Outre ces propriétés, la curcumine possède diverses propriétés potentiellement thérapeutiques.

❖ Propriété hépatoprotectrice

On a constaté que le *Curcuma* avait une caractéristique hépatoprotectrice identique à celle de la silymarine (Akram *et al.*, 2010). Des études sur les animaux ont mis en évidence les effets hépatoprotecteurs du *Curcuma* sur une variété de lésions hépatotoxiques, notamment le tétrachlorure de carbone (CCl₄), la galactosamine, l'acétaminophène (paracétamol) et l'aflatoxine. Son effet hépatoprotecteur résulte principalement de ses propriétés antioxydantes, ainsi que de sa capacité à diminuer la formation de cytokines pro-inflammatoires (Akram *et al.*, 2010). Le

curcuminate de sodium, un sel de curcumine, exerce ainsi des effets cholérétiques en augmentant l'excrétion biliaire des sels biliaires, du cholestérol et de la bilirubine, en augmentant la solubilité biliaire, empêchant et traitant éventuellement la cholélithiase (Akram *et al.*, 2010).

❖ **Propriété antiinflammatoire**

Les études montrent que la curcumine est une molécule capable d'interagir avec de nombreuses cibles moléculaires impliquées dans l'inflammation (Jurenka, 2009). La curcumine module la réponse inflammatoire en régulant à la baisse l'activité des enzymes cyclooxygénase-2 (COX-2), lipoxigénase et l'oxyde nitrique synthase inductible ; inhibe la production de cytokines inflammatoires (TNF- α), interleukine (IL) -1, -2, -6, -8 et -12, protéine chimioattractrice des monocytes et protéine inhibitrice de la migration ; et régule à la baisse les kinases activées par les agents mitogènes (Goel *et al.*, 2008). Des études *in vitro* indiquent que la curcumine régule l'activation de certains facteurs de transcription tels que l'activation de la protéine-1 (AP-1) et du NF-KB dans les monocytes et les macrophages alvéolaires stimulés, bloquant ainsi l'expression du gène de la cytokine (Jurenka, 2009)

❖ **Propriété anticardiovasculaire**

Les maladies cardiovasculaires représentent l'une des maladies les plus dangereuses, imprévisibles et à la source de nombreux décès dans le monde entier. Une étude *in vivo* antérieure établie sur deux modèles de rats hypertendus sensibles au sel soit un modèle d'insuffisance cardiaque et un modèle d'infarctus du myocarde induit chirurgicalement a montré que la curcumine inhibait la p300 HAT et empêchait finalement le développement d'une insuffisance cardiaque (Morimoto *et al.*, 2008). Une étude récente a rapporté que la curcumine empêchait une hypertrophie cardiaque induite par un stress oxydatif, des événements inflammatoires, une nécrose et une infiltration de neutrophiles et protégeait les cardiomyocytes des lésions cellulaires (Izem-Méziane *et al.*, 2012).

❖ **Propriété gastroprotectrice**

La curcumine présente un effet gastroprotecteur et réduit également l'ulcère peptique et ses complications associées (Rahmani *et al.*, 2018). Des recherches antérieures ont montré que la curcumine augmente la sécrétion de mucine et peut donc agir comme un protecteur du tube gastrique contre les irritants (Lee *et al.*, 2003).

❖ **Propriété antioxydante**

Les extraits solubles aqueux et lipidiques du *Curcuma* et de la curcumine présentent une forte activité antioxydante, comparable aux vitamines C et E (Akram *et al.*, 2010). La propriété anticancéreuse efficace de la curcumine est attribuée à son effet antioxydant qui contrôle les dommages de l'ADN et la peroxydation des lipides induite par les radicaux libres (Shukla *et al.*,

2003). Il exerce également un puissant effet inhibiteur contre les lésions induites par le peroxyde d'hydrogène dans les kératinocytes et les fibroblastes humains (Phan *et al.*, 2001).

La principale action de la curcumine tout comme les caroténoïdes, le glutathion et les composés thiols est sa capacité à inhiber la formation d'espèces oxygénées actives comme les radicaux hydroxyles et l'anion superoxyde (Portes, 2008).

❖ **Propriété antimicrobienne**

La fréquence de la résistance aux microorganismes augmente rapidement dans le monde entier et la résistance aux agents antimicrobiens est l'une des principales causes de la résistance aux traitements (Rahmani *et al.*, 2018). Une source naturelle sûre et efficace est nécessaire pour surmonter cela. Le *Curcuma* inhibe la croissance de nombreuses bactéries (Gram positif et négatif) et plusieurs champignons pathogènes. Le *Curcuma*, en effet exerce une activité antiprotéase inhibant l'action du HIV ainsi qu'une activité anticancéreuse (Portes, 2008). Il a été confirmé que la curcumine possédait des activités antibactériennes, antivirales et antifongiques (Moghadamtousi *et al.*, 2014).

La curcumine, composant majoritaire du *Curcuma longa* est un produit doté de nombreuses propriétés telles qu'il a été représenté sur la figure 10 ci-après :

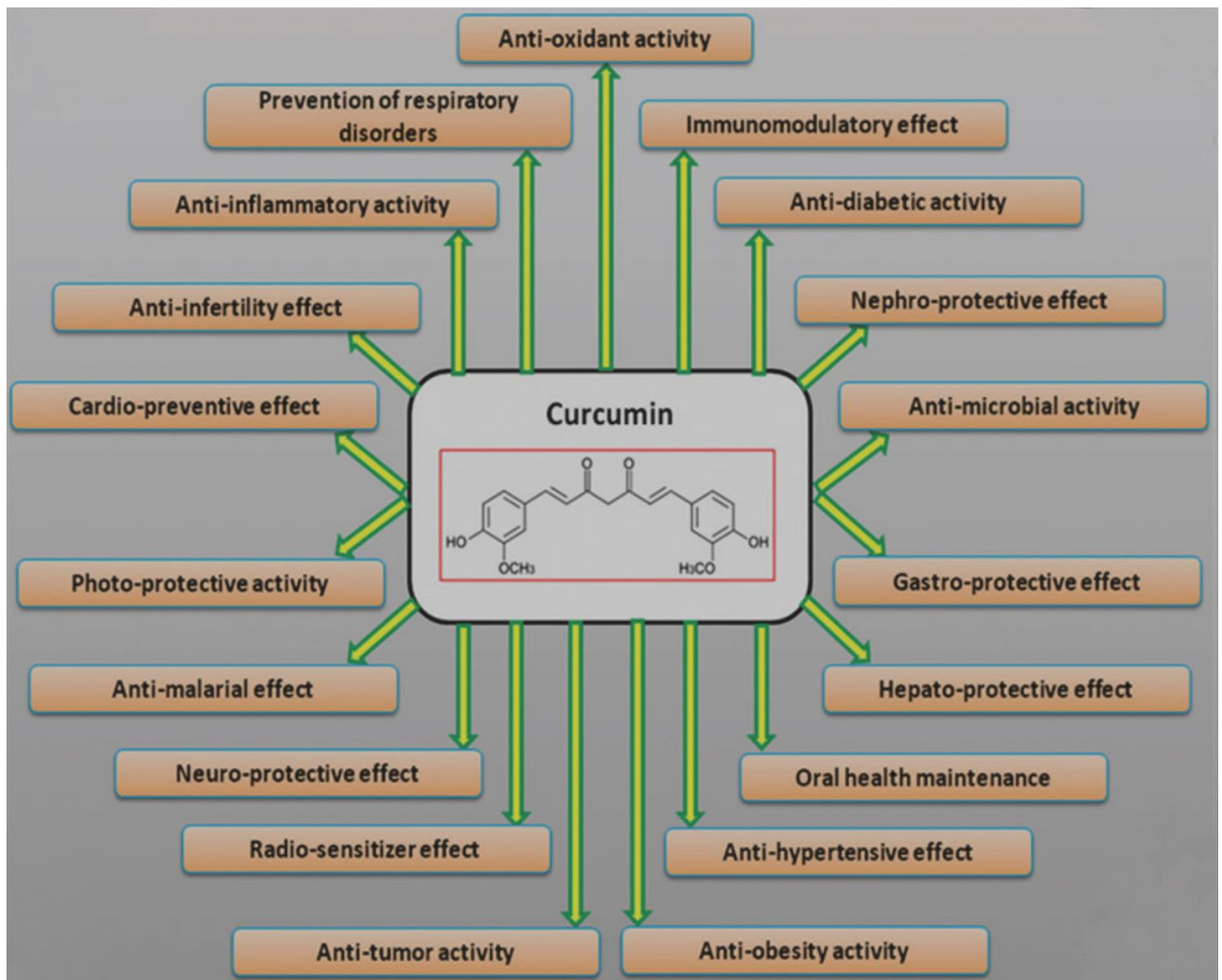


Figure 10. Activités pharmacologiques de la curcumine (Rahmani *et al.*, 2018)

1.3. GÉNÉRALITÉS SUR LES ANTIOXYDANTS

1.3.1. Notions d'espèces oxygénées actives et de radicaux libres

Un radical libre (RL) est une entité chimique (atome, molécule, fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron libre sur sa couche externe (ou contenant deux électrons de même spin dans une case quantique), ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (Finaud *et al.* 2006 ; Mac Laren, 2007). Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voire quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe ($\cdot\text{OH}$) (Sayre *et al.*, 2005 ; Mac Laren, 2007). Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés :

- Addition d'un électron libre à un non radical ($\text{NR} + e \rightarrow \text{R}^\cdot$)
- Perte d'un électron par un non radical ($\text{NR} - e \rightarrow \text{R}^\cdot$)
- Scission homolytique d'une liaison covalente ($\text{A:B} \rightarrow \text{A}^\cdot + \text{B}^\cdot$)

La réactivité des RL dépendra des éléments en présence : si un radical rencontre un autre radical, le produit sera un non radical ($A^{\bullet}+B^{\bullet}\rightarrow AB$). Si un radical rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé ($A^{\bullet}+B\rightarrow A+B^{\bullet}$) et donnera l'origine à une chaîne qui continuera jusqu'à ce que le radical rencontre un autre radical ou un antioxydant (Finaud *et al.* 2006, Mac Laren, 2007).

Les espèces oxygénées actives (EOA ou ROS Reactive Oxygen Species) également désignées dans la littérature de dérivés réactifs de l'oxygène ou d'espèces réactives de l'oxygène peuvent être définies comme des molécules qui contiennent de l'oxygène et sont plus réactives que l'oxygène présent dans l'air (Mac Laren, 2007). Les EOA incluent les RL et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux (HOCl), le singulet d'oxygène, et l'ozone (O_3). Plus récemment les espèces azotées actives (EAA ou RNS Reactive Nitrogen Species) ont été définies comme un sous-groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote (NO). Ceci a poussé certains auteurs à parler de RONS (Reactive Oxygen and Nitrogen Species) au lieu de ROS pour désigner l'ensemble des espèces réactives oxydantes radicalaires ou non radicalaires (Mac Laren, 2007), que nous désignons par l'abréviation ERO (Tableau II).

Les principales espèces réactives oxydantes sont dérivées de l'oxygène et de l'azote, et peuvent être produites par le métabolisme cellulaire normal tout comme pathologique ou par exposition environnementale (ex : tabagisme, ozone, alimentation, température corporelle...) (Mac Laren, 2007 ; Bloomer *et al.*, 2008).

Tableau II. Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques (Mac Laren, 2007 ; Bloomer *et al.*, 2008).

Espèces oxygénées actives (EOA)	Espèces azotées actives (EAA)	Espèces soufrées actives (ESA)
Radical (ion, anion) superoxyde ($\bullet O_2^-$) ;	Oxyde Nitrique ou monoxyde d'Azote ($\bullet NO$) ;	Radical thiyl ($RS\bullet$)
Radical hydroperoxyde ($HO_2\bullet$) ;	Dioxyde d'azote ($\bullet NO_2$);	
Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ;	Peroxynitrite ($ONOO^-$)	
Radical hydroxyle ($\bullet OH$) ;		
Singulet oxygène (1O_2)		
Ozone (O_3)		

1.3.2. Importance des formes réactives de l'oxygène dans la vie d'une plante

Les ERO sont depuis longtemps reconnues pour leur importance dans la réponse des plantes aux contraintes environnementales. Certains symptômes observés en situation de stress d'origine biotique ou abiotique (blanchiment des feuilles, nécroses) sont la conséquence d'une forte accumulation de radicaux libres oxygénés et d'une altération de l'homéostasie cellulaire. Ces symptômes traduisent à la fois une oxydation de la chlorophylle au niveau des feuilles, mais aussi la mort par nécrose de cellules isolées ou de groupements de cellules dans les différents tissus végétaux (Figure 11) (Parent *et al.*, 2008). Ainsi, même si les ERO sont formées au cours du métabolisme normal de la plante, l'augmentation de leur concentration intracellulaire est souvent synonyme de stress.

La plupart des symptômes liés aux conditions de stress est amplifiée par l'effet des ERO. Par exemple, une forte augmentation du taux de peroxyde d'hydrogène dans les chloroplastes et les peroxysomes est observée en réponse à une exposition à de fortes intensités lumineuses (Willekens *et al.*, 1997). Lors d'un stress hydrique ou salin, l'inhibition de la photosynthèse, et plus précisément la fuite d'électrons due à la diminution de la fixation du CO₂, entraîne une forte accumulation de ERO (Dat *et al.*, 2000). C'est cette même inhibition de la cascade photosynthétique qui est à l'origine de la production de formes réactives de l'oxygène lorsque la plante subit des fluctuations importantes de température (Larkindale *et al.*, 2005). De nombreuses autres contraintes abiotiques s'accompagnent également d'un stress oxydatif. On observe ainsi, en présence de métaux lourds, une peroxydation lipidique due à l'accumulation des ERO, les ultraviolets entraînant la formation de radicaux superoxydes ; il en est de même pour l'ozone ou encore les stress mécaniques (Dat *et al.*, 2000).

Cependant, malgré leur nature extrêmement réactive, les ERO ne sont pas uniquement impliquées dans des réponses délétères chez les végétaux. De nombreuses études ont montré que les ERO peuvent aussi intervenir dans les cascades de signalisation responsables de l'induction et de la régulation de nombreux gènes de défenses (protéines chaperonnes, *Heat Shock Proteins* ; enzymes antioxydantes, ascorbate peroxydase (APX), glutathionne-S-transférase (GST) ; gènes liés à la pathogénèse (PR) (Zago *et al.*, 2006). Les ERO sont désormais aussi considérées comme agents régulateurs de la mort cellulaire programmée (PCD : *Programmed Cell Death*) chez les plantes (Van Breusegem & Dat, 2006). Ce processus de mort cellulaire, actif et contrôlé génétiquement, se retrouve tout au long de la vie des plantes. En effet, différents types cellulaires ou organes sont éliminés, au moment approprié, au profit de l'organisme et de la population ; ils constituent des modèles de la PCD végétale (Parent *et al.*, 2008). Au cours du développement, la PCD est impliquée dans de nombreux phénomènes comme la germination (couche aleurone), la différenciation des vaisseaux conducteurs de la sève brute et élaborée, la croissance (coiffe

racinaire), la reproduction (tube pollinique), ou bien encore la sénescence (feuilles). Par ailleurs, les plantes ont aussi recours à cette mort contrôlée pour s'adapter et résister aux conditions adverses de leur environnement, comme durant des déficiences en alimentation minérale ou hydrique, les extrêmes de température, l'hypoxie ou encore l'attaque pathogène (Parent *et al.*, 2008).

Lors de l'établissement de la réponse hypersensible, une des réponses les plus étudiées entre un pathogène et une plante hôte (Draper, 1997 ; Torres *et al.*, 2006), le développement d'une lésion nécrotique localisée autour des sites d'infection du pathogène permet à la plante d'isoler l'agent infectieux. Ce processus est initié par la production rapide et transitoire d'ERO autour du site d'infection. Cette forte accumulation se déroule en deux phases distinctes. La première est commune aux interactions compatibles et incompatibles ; la seconde débute environ 6 à 12 h après le début du stress et n'est observée que lorsque l'interaction est incompatible (Draper, 1997). Ce second *burst* oxydatif est impliqué dans la cascade de signaux nécessaire à l'induction de nombreux gènes de défense (protéines de la pathogénèse), dans la fortification des parois cellulaires (lignification, subérisation...), et il joue sans doute aussi un rôle antimicrobien (Draper, 1997).

Après le premier burst d'ERO, la biosynthèse de nombreuses hormones végétales est stimulée (acide jasmonique, éthylène...) et notamment l'acide salicylique, dont l'accumulation précède la seconde production d'ERO lors d'interactions incompatibles (Draper, 1997). D'ailleurs, dans de nombreux cas étudiés à ce jour, l'accumulation de l'acide salicylique et des ERO est nécessaire pour l'induction de la PCD durant la réponse hypersensible.

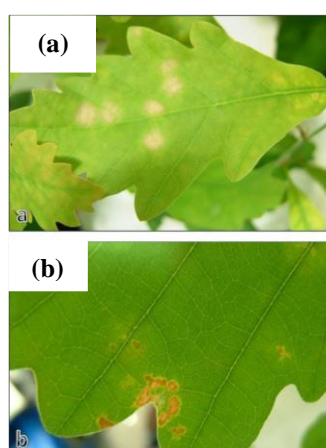


Figure 11. Feuille de chêne montrant (a) les symptômes d'oxydation de la chlorophylle et (b) les nécroses liées à la mort de cellules (Parent *et al.*, 2008)

1.3.3. Définition du stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des ERO et ceux qui sont responsables de leur contrôle et élimination (Bloomer *et al.*, 2008, Power *et al.*, 2010) (Figure 12). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de

défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink *et al.*, 2008). L'équilibre ou homéostasie redox est perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques par les ERO (Mac Laren 2007).

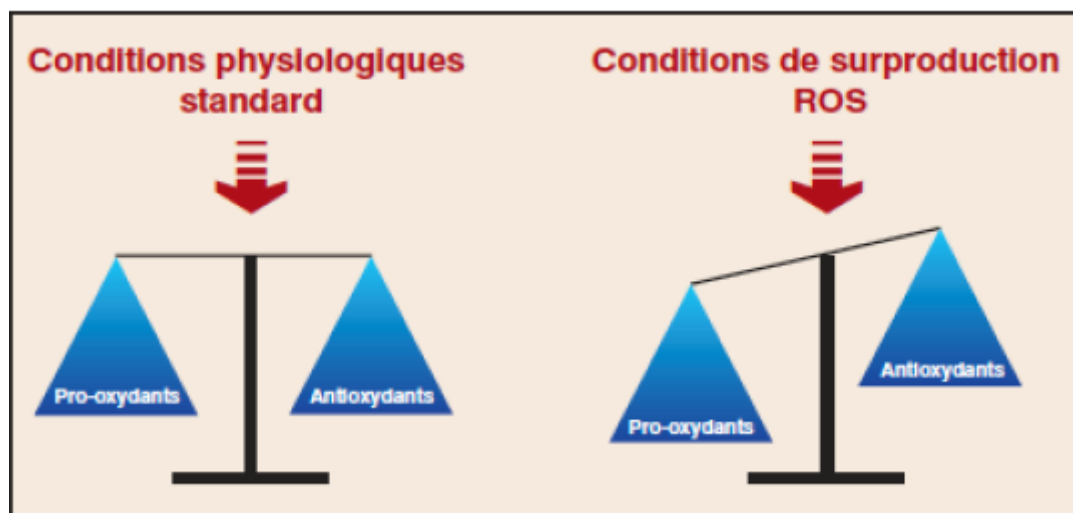


Figure 12. La balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production d'ERO (Pincemail *et al.*, 2013).

1.3.4. Sources des espèces réactives d'oxygène dans les plantes durant le stress

Comme indiqué précédemment, la production de formes réactives de l'oxygène est une réponse cellulaire commune à de nombreux stress chez les végétaux qui se localise au niveau de différentes sources, selon, notamment, qu'il s'agisse d'un stress d'origine biotique ou abiotique (Dat *et al.*, 2000). Chez les animaux, les mitochondries constituent la source principale d'ERO. Chez les plantes, la production d'ERO par les mitochondries a été historiquement minimisée par rapport à celle des chloroplastes. Cependant, avec l'identification de l'alternative oxydase (AOX), la mitochondrie pourrait devenir un acteur important dans la régulation du stress oxydatif chez les plantes (Vidal *et al.*, 2007). En effet, cette enzyme agit comme une « soupape de sécurité », contrôlant la réduction du pool d'ubiquinone, source importante d'ERO (Rhoads & Subbaiah, 2007). Pour cette raison, la mitochondrie a été proposée comme médiateur entre les changements métaboliques, la production d'ERO et l'induction de gènes. Cependant, la contribution de la mitochondrie à la production d'ERO lors de la réponse au stress reste encore mal définie.

Dans la plupart des situations où les conditions environnementales sont modifiées, une forte augmentation de la production des ERO est observée au niveau des chloroplastes (Figure 12) (Dat *et al.*, 2000 ; Mittler, 2002). En effet, de nombreuses situations de stress abiotiques entraînent une inhibition de la photosynthèse et les électrons qui ne participent plus à la fixation du CO₂ vont entraîner la production et l'accumulation d'ERO. Durant les conditions de photoinhibition, la carboxylation du ribulose 1,5-biphosphate (RuBP) est inhibée, favorisant son oxygénation et

entraînant la production de phosphoglycolate. Celui-ci est transporté vers le peroxyosome où il est converti en glyoxylate par la glycolate oxydase, produisant ainsi le peroxyde d'hydrogène (Laloi *et al.*, 2004). Les chloroplastes et les peroxyosomes sont ainsi considérés comme « *sensors/capteurs* » des changements environnementaux. Les ERO se comportent donc comme signaux « rédox », dérivés des chloroplastes, et sont susceptibles de réguler l'expression de gènes de la réponse et de l'adaptation au stress (Laloi *et al.*, 2004).

Lors de la réponse à un stress d'origine biotique, la production de radicaux oxygénés est généralement attribuée à un complexe NADPH-oxydase associé à la membrane plasmique (Figure 13) (Torres & Dangl, 2005). Cependant, des études récentes indiquent que, lors d'une attaque par un pathogène incompatible, la production d'ERO par les chloroplastes participe activement au blocage de la progression de la maladie (Montillet *et al.*, 2005). Ceci est illustré par la réponse du tabac à une agression pathogène, où deux profils différents de peroxydation des lipides sont observés selon la présence ou l'absence de lumière (Montillet *et al.*, 2005). Toutefois, l'origine de la production d'ERO ne se limite pas au chloroplaste, à la NADPH-oxydase et à la mitochondrie. La grande variété des types de stress nécessite la mobilisation de multiples mécanismes de production des ERO, parmi lesquels les amines oxydases où les peroxydases jouent certainement un rôle important (Figure 13) (Bolwell, 1999).

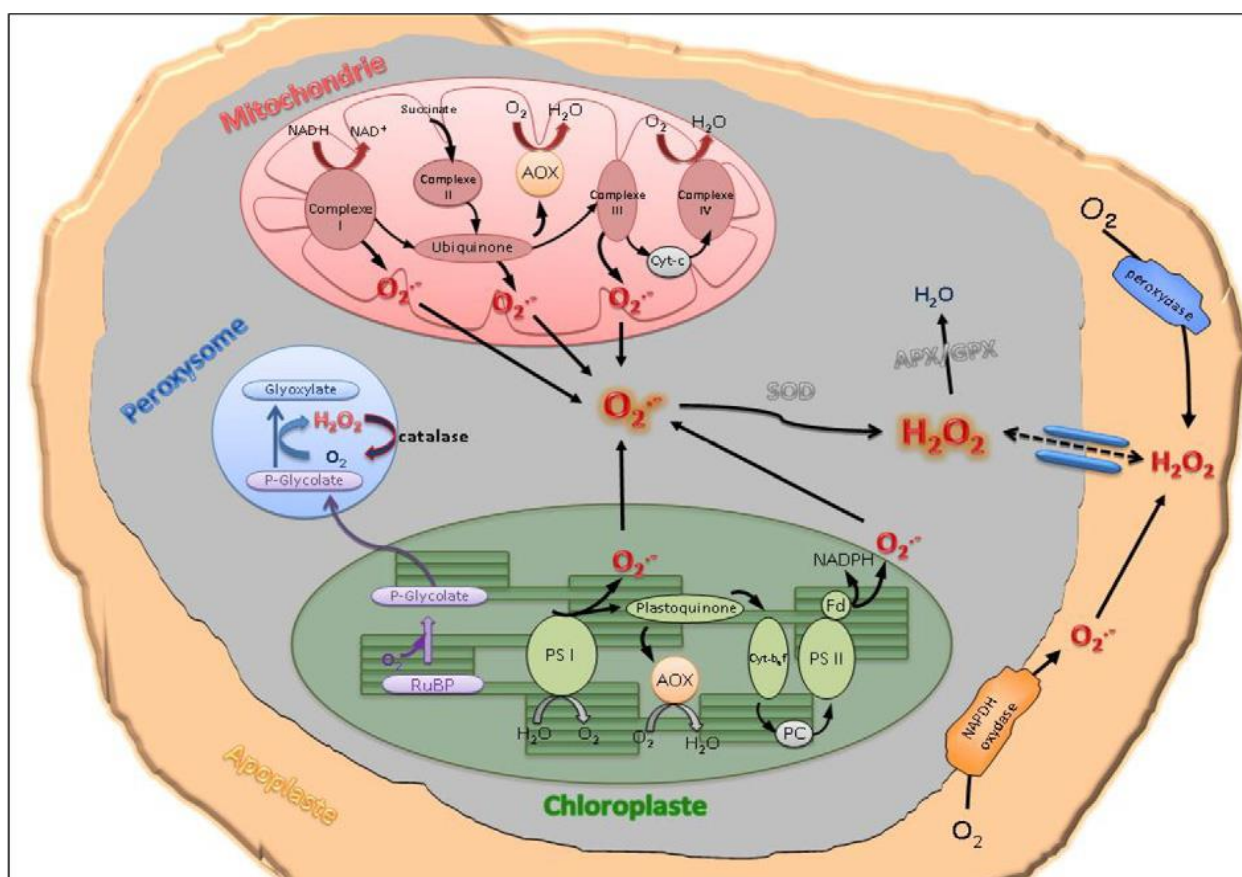


Figure 13. Sites de production intra-organites des ERO dans la cellule végétale (Parent *et al.*, 2008).

1.3.5. Les antioxydants

Les antioxydants sont des agents qui réagissent facilement avec les substances oxydantes pour les inactiver et les éliminer, ou diminuer leur production. Ils sont fonction des apports alimentaires (vitamines, sels minéraux, flavonoïdes...) qui fournissent des antioxydants exogènes et de la production par l'organisme d'antioxydants endogènes (enzymes, protéines, bilirubine, acide urique...) (Massart, 2011). La plupart des antioxydants peuvent être divisés en 2 groupes, hydrophobes ou hydrophiles (Kirschvink *et al.*, 2008, Browne *et al.*, 2008). Les hydrophobes constitués par les vitamines A, E, les flavonoïdes, l'ubiquinol (Coenzyme Q10), la bilirubine, la mélatonine, qui agissent essentiellement sur la protection des milieux lipidiques. Les hydrophiles comme les glutathions, l'acide urique, la vitamine C, les thiols, les protéoglycans, l'acide hyaluronique qui protègent contre l'oxydation des lipides, des protéines, des sucres, et de l'ADN dans les milieux liquides comme le sang, les liquides interstitiels et le cytosol (Kirschvink *et al.*, 2008, Browne *et al.*, 2008).

1.3.5.1. Les biomarqueurs enzymatiques du stress oxydatif

Des enzymes comme les superoxydes dismutases (SOD), les catalases (CAT), les glutathions peroxydases (Gpx), supportés par l'action des enzymes glutathions réductases (GR) et glucose-6-phosphate déshydrogénases, font partie du système de défense contre les ERO. La SOD décompose 2 molécules de superoxyde en O_2 et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) moins toxiques. Le H_2O_2 sera à son tour transformé en O_2 et H_2O par la catalase ; ou en H_2O par le glutathion peroxydase, qui désintoxique le H_2O_2 , avec l'aide du glutathion réduit (GSH). Le glutathion réduit, sert de substrat à la Gpx pour former du glutathion oxydé (GSSG) et un oxydant désactivé par réduction. Avec l'aide d'une glutathion réductase et de $NADPH^{+H^+}$, le GSH sera régénéré à partir du GSSG (Sayre *et al.*, 2005). En plus d'éliminer directement les ERO, les enzymes antioxydants participent à la régulation du stress oxydant (Sayre *et al.*, 2005). L'activité des enzymes antioxydants dépend de cofacteurs minéraux, qui sont le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe), et sont qualifiés d'antioxydants non enzymatiques indirects (Sayre *et al.*, 2005 ; Finaud *et al.*, 2006 ; Kirschvink *et al.*, 2008). Bien qu'elle soit à l'origine de la production de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), la superoxyde dismutase a un effet antioxydant ; en son absence, les singulets d'oxygènes et les peroxy-nitrites augmentent, pendant que les réducteurs cellulaires (vitamine C, les GSH et le NADPH) diminuent (Sayre *et al.*, 2005). Le Cu et le Zn font partie des SOD cytosoliques et le Mn fait partie des SOD mitochondriales. Il existe aussi des SOD extracellulaires (Sayre *et al.*, 2005 ; Finaud *et al.*, 2006). Le ratio plasmatique de Cu/Zn est important pour l'activité de la SOD et la diminution des cofacteurs enzymatiques entraînent une baisse de l'activité des SOD (Finaud *et al.*, 2006 ; De Moffarts *et al.*, 2007). La

SOD en plus de la dismutation du superoxyde, est également efficace contre les peroxytrinitres et agira plutôt à niveau intracellulaire (Finaud *et al.*, 2006).

La glutathion peroxydase (Gpx) est une enzyme antioxydante du plasma, des fluides extracellulaires et du cytosol, dépendante du sélénium et dont l'action permet d'éliminer le H₂O₂ produit, de manière à éviter sa participation comme pro-oxydant. Elle convertit aussi les hydroperoxydes lipidiques en des alcools non toxiques et de ce fait participe à l'interruption de la chaîne de peroxydation lipidique (Sayre *et al.*, 2005 ; Mac Laren 2007). La consommation du sélénium est souvent insuffisante dans les pays développés, ce qui induit une diminution de l'activité des enzymes Se dépendants. L'action des Gpx dépend aussi de la disponibilité en GSH, GR et en NADPH, ce qui démontre bien que le système antioxydant endogène agit en interdépendance (Sayre *et al.*, 2005 ; Mac Laren 2007).

La catalase (CAT) est une enzyme dépendante du Fe, qui entre en compétition avec la Gpx pour l'H₂O₂, son utilisation devenant importante quand les quantités d'H₂O₂ sont élevées (Finaud *et al.*, 2006, Sayre *et al.*, 2008).

La SOD, CAT, GR et la Gpx ont été analysées par spectrophotométrie, tout comme le sélénium, le cuivre, le zinc par spectrométrie (De Moffarts *et al.*, 2007).

1.3.5.2. Les biomarqueurs non enzymatiques du stress oxydatif

a) Vitamines

❖ Vitamine E

La vitamine E est un terme générique pour tous les tocophérols et les tocotriénols, desquels existent 8 dérivatifs et dont l'alfa-tocophérol est le plus abondant (Shils *et al.*, 2006). La vitamine E agit directement sur une grande variété d'ERO pour former un radical peu réactif. Par la suite la vitamine E oxydée pourra être reconvertie principalement par la vitamine C, mais également par d'autres composés comme le GSH, la vitamine A et l'ubiquinol. La vitamine E est liposoluble et a été démontrée comme le principal antioxydant dans les membranes des cellules, en particulier celles des mitochondries (Shils *et al.*, 2006, Traber *et al.*, 2007). Elle pourrait augmenter l'activité des SOD et des CAT (Lyn, 2006). Pour certains auteurs, même si le potentiel antioxydant de la vitamine E est démontré *in vitro*, *in vivo* elle remplirait plutôt de nombreux rôles physiologiques non antioxydants de régulation du fonctionnement de la cellule. Sa faible concentration ne lui permettrait pas d'être un antioxydant prépondérant et son utilisation à cette fin pourrait compromettre le fonctionnement cellulaire (Atkinson *et al.*, 2008).

❖ Vitamine A

La vitamine A est un nom générique pour les rétinoïdes et les provitamines A ou les caroténoïdes dont plusieurs centaines sont répertoriés (Wolinsky, 1998). Les rétinoïdes (rétinol,

rétinal et acide rétinol) sont présents dans les aliments d'origine animale (lait, foie, jaune d'œuf), alors que les provitamines A (bêta-carotène, lutéines, lycopènes...) se rencontrent dans de nombreux fruits et légumes. Le bêta-carotène est le principal précurseur de la vitamine A. Les autres caroténoïdes peuvent être de puissants antioxydants, mais ils sont moins connus et abondants (Shils *et al.*, 2006). La vitamine A est responsable de la neutralisation de singulet d'oxygène, d'anion superoxyde, de peroxy-nitrites, de radicaux lipidiques et son action se fait dans les milieux lipidiques. Dans les huiles végétales, la vitamine A ne serait efficace qu'en présence de vitamine E et il existe une étroite collaboration entre ces deux vitamines liposolubles (Finaud *et al.*, 2006, Fisher-Wellman *et al.*, 2009). La vitamine A agit sur les ERO en formant un radical de vitamine A qui pourra agir comme antioxydant en réagissant avec un autre radical pour former un non radical, ou sera régénéré en vitamine A (Finaud *et al.*, 2006, Fisher-Wellman *et al.*, 2009). En excès, la vitamine A pourrait agir comme pro oxydants, et favoriser l'oxydation de l'ADN (Shils *et al.*, 2006).

❖ Vitamine C

La vitamine C ou acide L-ascorbique est hydrosoluble. Elle joue un rôle de prévention de l'oxydation dans le plasma et les fluides extracellulaires, dont elle est considérée comme le plus important antioxydant (Koolman *et al.*, 1999). Son action est directe et indirecte, elle agit directement sur les ERO (superoxydes, hydroxyle, singulet oxygène, radicaux lipidiques) et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH (Lyn, 2006 ; Mac Laren 2007, Fisher-Wellman *et al.*, 2009). La vitamine C est principalement antioxydante, mais en doses trop élevées et dans le processus de défense immunitaire, elle peut exercer un action pro-oxydante au travers de son habilité à réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) qui est un puissant catalyseur de plusieurs réaction redox comme la réaction de Fenton/Haber-Weiss (Sayre *et al.*, 2005 ; Mac Laren, 2007). En augmentant la disponibilité du fer ferreux, la vitamine C pourrait favoriser les dommages causés à l'ADN et paradoxalement stimuler la réparation de l'ADN oxydé (Duarte *et al.*, 2009).

c) Les caroténoïdes

Ils sont majoritairement représentés par le β -carotène, appelé aussi « provitamine A » (Krinsky, 2014). Il existe principalement deux groupes de caroténoïdes qui sont des puissants neutraliseurs des ERO : ceux porteurs de substituants oxygénés (lutéine, zéaxanthine et la cryptoxanthine) et ceux qui manquent d'oxygène (α -carotène, β -carotène et lycopène). Ils sont présents dans les compartiments lipidiques, car ils sont plutôt lipophiles (Guillouty, 2016). Du fait de leur faible concentration dans l'organisme, leurs rôles antioxydants sont considérés comme

faibles, mais complémentaires des systèmes principaux évoqués plus haut. Le β -carotène désactive l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$, et piège les radicaux peroxydes ROO (Krinsky, 2014).

Les méthodes généralement utilisées pour le dosage des caroténoïdes extraits d'un milieu naturel sont basées sur la spectrophotométrie d'absorption visible (Isler, 1971).

d) Le glutathion et les thiols totaux

Le GSH est formé à base d'un tripeptide (Glu-Cys-Gly ou acide glutamique-cystéine-glycocolle). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intra-cellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH) (Haleng *et al.*, 2007). Sous l'action de la Gpx il désintoxique les ERO (H_2O_2 , peroxydites, peroxydes lipidiques, ...) en formant du GSSG (glutathion oxydé) composé de deux molécules de GSH (Lyn, 2006, Douris *et al.*, 2009). Le GSH est un antioxydant protéique abondant dans l'organisme où il joue un important rôle de protection des tissus et des protéines transporteuses d'ions redox actifs comme l'hémoglobine, la transferrine, la ferritine, l'albumine. Le GSH est capable de régénérer les vitamines E et C oxydées. Il est détoxifiant au niveau hépatique et peut se lier aux métaux toxiques (mercure, arsenic...) (Lyn, 2006). Sous sa forme GSH, GSSG et de son ratio GSH/GSSG, le glutathion est utilisé comme marqueur du système antioxydant et du stress oxydant, et peut être analysé par spectrophotométrie (De Moffarts *et al.*, 2007). L'apport recommandé journalier est d'environ 300 mg (agrumes) (Haleng *et al.*, 2007).

La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées (Haleng *et al.*, 2007).

Le glutathion réduit et les thiols totaux peuvent être déterminés par spectrophotométrie avec le réactif d'Ellman. En effet, les thiols réduits (groupements sulfhydryles -RSH) réagissent avec le DTNB (acide dinitro-2,2'-dithio-5,5'-dibenzoïque) pour former quantitativement le dianion de l'acide 5-thio-2-nitrobenzoïque (TNB). Ce dianion est un composé de couleur jaune, dont la teneur peut être mesurée dans le domaine du visible à $\lambda = 412 \text{ nm}$ (Eyer *et al.*, 2003).

1.3. GÉNÉRALITÉS SUR LES ANTIMICROBIENS

En agriculture, les antimicrobiens sont utilisés pour traiter, contrôler ou prévenir les maladies causées par des microorganismes et pour améliorer la production, la croissance ou la reproduction des plantes.

1.3.1. Les maladies des plantes

Les maladies des cultures constituent une menace majeure car elles réduisent considérablement la production et la qualité de l'agriculture. Par conséquent, la détection précoce et la classification des maladies sont des défis importants pour la production agricole (Bhadur & Rani, 2020). Les dommages causés par les agents pathogènes agricoles sont dévastateurs. Les pertes agricoles dues aux maladies dans le monde s'élèvent à plus de 220 milliards de dollars par an (FAO, 2020). Les maladies des plantes peuvent être causées par différentes bactéries, champignons et autres agents. Les symptômes des plantes malades peuvent inclure des taches sur les feuilles, des brûlures foliaires, la pourriture des racines, la pourriture des fruits, des taches sur les fruits, le flétrissement, le dépérissement et le déclin (Pacios-Michelena *et al.*, 2021). L'impact significatif des maladies des plantes est de réduire la nourriture disponible pour les humains en diminuant finalement le rendement des cultures. Cela peut se traduire par une alimentation inadaptée pour les humains ou conduire à la faim dans certaines régions (Loey *et al.*, 2020). Par conséquent, la reconnaissance des maladies des plantes est de la plus haute importance pour recommander et choisir le traitement des plantes malades et prévenir les infections des plantes saines. La feuille de la plante est le moyen le plus courant de détecter les maladies des plantes car elle présente des symptômes différents selon les maladies (Pacios-Michelena *et al.*, 2021).

1.3.1.1. Principales bactéries phytopathogènes

Les phyto-bactéries constituent un groupe important d'agents pathogènes des plantes qui réduisent les rendements des cultures de valeur. Elles se propagent facilement et rapidement, provoquant de graves infections bactériennes difficiles à contrôler (Kering *et al.*, 2019). Les bactéries phytopathogènes provoquent des maladies chez de nombreuses plantes, provoquant des symptômes tels que des taches, des chancres, des pourritures, déséquilibres hormonaux qui entraînent une croissance excessive des plantes ou un retard de croissance, la ramification des racines, l'épinastie foliaire, parmi autres (Kannan *et al.*, 2015a). Ces problèmes affectent les plantes au niveau qualitatif et quantitatif, nuisant ainsi à l'approvisionnement alimentaire mondial (Kannan *et al.*, 2015b), générant des dommages dévastateurs et des pertes économiques importantes dans le monde entier chaque année. Parmi les bactéries phytopathogènes ayant la plus forte incidence en agriculture on a : *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas syringe*, *Pseudomonas corrugate*, *Xanthomonas campestris* (Andrade-Bustamante *et al.*, 2017), *Erwinia amylovora*, *Ralstonia solanacearum* et *Xylella fastidiosa* (Martins *et al.*, 2018). Certains auteurs placent ces phytopathogènes comme ceux qui ont l'impact économique le plus important au niveau mondial.

1.3.1.2. Principaux champignons phytopathogènes

Les champignons phytopathogènes posent de sérieux problèmes dans le monde entier pour la culture de plantes économiquement importantes, en particulier dans les régions subtropicales et tropicales. Les champignons phytopathogènes sont responsables de maladies dans de nombreux produits végétaux et fruitiers, apparaissant pendant le développement de la culture ou après la récolte. En outre, le champignon phytopathogène produit des métabolites toxiques qui peuvent être cancérigènes et constituer un risque pour la santé publique (Pacios-Michelena *et al.*, 2021). En revanche, la croissance de champignons spécifiques entraîne des modifications nutritionnelles et chimiques, une mauvaise apparence et le développement de la saveur des aliments (Vashistha & Chaudhary, 2019). Parmi les champignons phytopathogènes dont l'incidence est la plus élevée en agriculture et dont l'impact économique est le plus important, on trouve *Fusarium*, *Alternaria alternata*, *Pythium* et *Phytophthora* (Pacios-Michelena *et al.*, 2021).

Le tableau III ci-après présente les caractéristiques de 4 espèces phytopathogènes parmi les plus importantes qui attaquent les cultures au Cameroun. Trois agents pathogènes fongiques *Fusarium oxysporum* ; *Phytophthora megakarya* ; *Pythium myriotylum* et un pathogène bactérien *Ralstonia solanacearum*.

Tableau III. Caractéristiques des pathogènes des plantes (Nwaga *et al.*, 1988 ; Roskov *et al.*, 2021).

Pathogènes	Systématique	Spécificité
<i>Fusarium oxysporum</i>	Règne : champignon Embranchement : Ascomycota Classe : Sordariomycètes Ordre : Hypocreales Famille : Nectriaceae Genre : <i>Fusarium</i> Espèce : <i>Fusarium oxysporum</i>	Polyphage (plus de 100 espèces de plantes)
<i>Phytophthora megakarya</i>	Règne : Chromista Embranchement : Oomycota Classe : Oomycètes Ordre : Peronosporales Famille : Peronosporaceae Genre : <i>Phytophthora</i> Espèce : <i>Phytophthora megakarya</i>	Spécificité étroite (plus spécifique au cacaoyer)
<i>Pythium myriotylum</i>	Règne : Chromista Embranchement : Oomycota Classe : Peronospora Ordre : Peronosporales Famille : Pythiaceae Genre : <i>Pythium</i> Espèce : <i>Pythium myriotylum</i>	Polyphage (plus de 200 espèces de plantes)

<i>Ralstonia solanacearum</i>	Règne : Bacteria	
	Embranchement : Proteobacterie	
	Classe : β – Proteobacterie	
	Ordre: Burkholderiales	Polyphage (plus de 200 espèces de plantes)
	Famille: Burkholderiaceae	
	Genre: <i>Ralstonia</i>	
Espèce : <i>Ralstonia solanacearum</i>		

1.3.2. Contrôle biologique par les microorganismes

Les États-Unis et l'Union européenne sont les principaux consommateurs de fongicides chimiques dans le monde. Cependant, depuis 2011, l'utilisation de ces agents chimiques a diminué, principalement aux États-Unis, peut-être en raison des réglementations en matière de protection de l'environnement et de santé des consommateurs (Carbù *et al.*, 2016). Les principales entreprises de protection des cultures ont investi dans le domaine du biocontrôle en réponse aux restrictions légales et à la demande des consommateurs pour des aliments sans pesticides (Romanazzi *et al.*, 2016). En 2011, le marché mondial du biocontrôle représentait une valeur déclarée de 2,1 milliards de dollars US et il a été influencé par la demande croissante de produits biologiques (Velivelli *et al.*, 2014).

L'utilisation de microorganismes ou de leurs métabolites pour lutter contre les maladies des plantes a fait l'objet d'une plus grande attention, à quelques exceptions près et lorsqu'ils n'ont pas d'effets négatifs sur la santé humaine ou animale et sont respectueux de l'environnement. Contrairement à leurs homologues chimiques, ils n'affectent généralement pas les autres organismes bénéfiques (Parnell *et al.*, 2016 ; Syed Ab Rahman *et al.*, 2018). Bien que les méthodes biologiques de lutte contre les agents pathogènes des plantes soient à l'étude depuis plus de 70 ans, les produits de biocontrôle ne représentent que 3,5 % du marché mondial des pesticides, qui est encore dominé par les pesticides synthétiques (Carbù *et al.*, 2016 ; Parnell *et al.*, 2016).

Le marché du biocontrôle des champignons est dominé par les produits à base de bactéries et de champignons, qui représentent environ 85 % des produits disponibles. Les 15 % restants sont constitués de produits à base de virus, de prédateurs et d'autres organismes (p. ex., protozoaires, nématodes) (Glare *et al.*, 2012). Au cours de la lutte biologique, les agents de contrôle biologiques peuvent inhiber les agents pathogènes directement, soit en établissant un contact physique, soit au moyen de mécanismes très spécifiques de lutte contre l'agent pathogène (hyperparasitisme, prédation, etc.). Elles peuvent agir indirectement par des moyens qui ne ciblent pas un type spécifique de pathogène (stimulation des défenses de la plante, compétition par les substrats, etc.) ou elles peuvent agir par antagonisme de voies mixtes (antibiotiques, enzymes lytiques, etc.) qui sont mutuellement compatibles et peuvent agir simultanément ou en synergie (Bardin *et al.*, 2015). Cependant, l'efficacité des agents de contrôle biologiques dépend de facteurs tels que les variations

climatiques, la compétition écologique, les traits intrinsèques des agents de contrôle biologiques, l'exercice d'une pression de sélection et la qualité du produit tel qu'il est formulé. De plus, les traits de l'agent pathogène tels que sa diversité génétique et sa capacité à évoluer en réponse aux pressions de sélection doivent également être pris en compte (Bardin *et al.*, 2015).

Les bactéries utilisées comme agents de contrôle biologiques ont été isolées principalement dans la zone racinaire, mais certaines ont également été isolées dans d'autres environnements liés aux plantes, tels que l'endosphère, la phyllosphère et l'espermosphère (Lazarovits *et al.*, 2014). Les bactéries exercent leur mécanisme de contrôle principalement par la compétition pour la niche, la production de substances allélochimiques et l'induction de voies de résistance dans les plantes (Compant *et al.*, 2005 ; Lazarovits *et al.*, 2014).

Les champignons, comme les bactéries, agissent comme biocontrôle par divers mécanismes tels que l'antibiose, la compétition, le parasitisme, la prédation et la stimulation des mécanismes de défense des plantes (Lazarovits *et al.*, 2014).

1.3.3. Les endophytes comme agents de lutte biologique

Parmi les quelque 300 000 espèces de plantes supérieures qui existent aujourd'hui, chacune peut héberger plusieurs espèces d'endophytes (Ryan *et al.*, 2008 ; Senthilkumar *et al.*, 2011). Cependant, seul un petit nombre de ces plantes a fait l'objet d'études approfondies sur leur microbiote endophytique, malgré le fait que les endophytes sont une source potentielle de nouveaux produits naturels pour la médecine, la biotechnologie, l'industrie et l'agriculture (Ryan *et al.*, 2008 ; Senthilkumar *et al.*, 2011).

Le fait que les endophytes soient capables de coloniser une niche écologique similaire à celle de certains phytopathogènes signifie qu'ils ont un potentiel comme agents de biocontrôle. Cependant, leur efficacité dépend de nombreux facteurs, notamment la spécificité de l'hôte et les modes de colonisation, la dynamique de la population, la capacité à se déplacer dans les tissus de l'hôte, la capacité à induire une résistance systémique, la structure physique du sol, les conditions environnementales et la phase de croissance et l'état physiologique de la plante (Ryan *et al.*, 2008 ; Senthilkumar *et al.*, 2011 ; Eun & Mee, 2016). Le succès des endophytes comme agents de contrôle biologiques est lié à tous ces facteurs.

Parce que l'administration et l'établissement des microorganismes dans les plantes est difficile, l'utilisation des endophytes génère une plus grande attente car, en raison de leur cycle de vie, cela pourrait aider à surmonter les difficultés de livraison et de survie dans la plante (Lazarovits *et al.*, 2014 ; Busby *et al.*, 2016). Les avantages du microbiote endophytique pour les plantes hôtes incluent leur capacité à agir comme agents de biocontrôle par le biais de mécanismes tels que la compétition pour une niche ou un substrat, l'hyperparasitisme, la prédation, la

production de substances allélochimiques (antibiotiques, enzymes lytiques, sidérophores) et en induisant une résistance systémique chez les plantes (RSI) (Compant *et al.*, 2005). Les mécanismes tels que le parasitisme et la compétition pour les substrats sont probablement moins efficaces que l'antibiose et la RSI comme stratégies de lutte biologique chez les endophytes (Card *et al.*, 2016).

L'inoculation de plantes avec des endophytes peut inhiber les symptômes de maladies causées par des insectes, des virus, des bactéries, des nématodes et des champignons (Eun & Mee, 2016). Dans les premiers stades, l'interaction entre les endophytes et leur plante hôte favorise une réponse immunitaire de la plante. Cependant, ces endophytes sont capables de surmonter cette réponse et de coloniser avec succès la plante, agissant comme un stimulant immunitaire ou une vaccination naturelle (Hardoim *et al.*, 2015). Les endophytes ont également la capacité de synthétiser un large éventail de composés chimiques bioactifs que les plantes utilisent pour se défendre contre les agents pathogènes (Nair & Padmavathy 2014). Les agents pathogènes peuvent inciter les endophytes à synthétiser ces composés antimicrobiens. De plus, les endophytes ont une influence sur le métabolisme secondaire de leur plante hôte (Hardoim *et al.*, 2015). Les produits obtenus à partir de endophytes comprennent des antibiotiques, des immunosuppresseurs, des agents anticancéreux, des antioxydants et d'autres substances biologiquement actives (Zhang *et al.*, 2006 ; Dutta *et al.*, 2014). Ces composés appartiennent à divers groupes structurels tels que les terpénoïdes, les stéroïdes, les phénols, les coumarines et autres (Ludwig-Müller, 2015).

1.3.4. Méthodes d'évaluations de l'activité antimicrobienne

Il existe différentes méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne. Celles-ci sont fonction de la nature du microorganisme.

1.3.4.1. Méthodes de détermination des activités antibactériennes

Les protocoles permettant de déterminer la CMI apparaissent dans de nombreuses recommandations : le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) pour la France (Jehl, 2014) ; l'*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) (Kahlmeter *et al.*, 2006) au niveau européen ; le *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) au niveau américain (CLSI, 2012). Les méthodes fréquemment utilisées sont :

❖ la méthode en milieu gélosé

Dans cette méthode, la substance à tester est incorporée dans la gélose, avant que celle-ci ne soit coulée dans les boîtes de Pétri. La gélose ne peut être coulée qu'après avoir été maintenue en surfusion (entre 50 et 60°C). Lorsque cette gélose est prise en masse, il ne reste qu'à ensemercer les bactéries, puis incubé à 35°C pendant 24h. La CMI ainsi obtenue s'observe à l'œil nu par l'absence de croissance bactérienne à la surface de la boîte de Pétri.

❖ la méthode des disques

Actuellement, cette méthode est la plus connue et la plus utilisée, elle consiste en l'ensemencement sur un milieu gélosé, dans une boîte de Pétri, d'une suspension bactérienne. La substance à tester est ensuite imprégnée sur un disque de cellulose, lui-même déposé sur la boîte de Pétri. Durant l'incubation, la substance est alors censée diffuser dans la gélose (à la surface et/ou dans la masse) ce qui crée un gradient de concentration dépendant de la substance.

❖ la méthode en milieu liquide

Elle peut se décliner en 2 techniques distinctes : soit en tube, appelée « macrométhode en milieu liquide » ; soit en plaque de 96 puits (fond en « U »), appelée « microméthode en milieu liquide ». Dans ces deux cas de figure, une gamme de concentrations de la substance à tester est réalisée.

1.3.4.2. Les méthodes de détermination des activités antifongiques

Les méthodes fréquemment utilisées sont : la méthode de confrontation directe et la méthode de confrontation à distance.

❖ La méthode de confrontation directe

Encore appelée « technique des cultures opposées » ou « technique de double culture », cette technique consiste à placer, dans la même boîte de Pétri contenant un milieu de culture deux pastilles gélosées (6mm de diamètre), l'une portant l'antagoniste et l'autre l'agent pathogène (Fokkema, 1976). Les deux pastilles sont placées suivant un axe diamétral à une distance précise et à équidistance du centre de la boîte. Les repiquages sont effectués en même temps. Le pourcentage d'inhibition de croissance mycélienne du pathogène par l'antagoniste est calculé après incubation suivant la formule de Korsten & De Jager (1995).

❖ La méthode de confrontation à distance

Le principe de cette méthode repose sur la technique utilisée par Comporta (1985). Il consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes de Pétri séparées ; par la suite, un assemblage est réalisé par la superposition des deux boîtes, l'antagoniste en bas et le pathogène en haut. La jonction entre les deux boîtes est assurée par des couches de parafilm afin d'éviter toute déperdition de substances volatiles. Le témoin est représenté par une boîte contenant à la face inférieure uniquement le milieu de culture et la face supérieure l'agent pathogène. Le pourcentage d'inhibition de croissance mycélienne calculé après incubation suivant la formule de Hmouni *et al.* (1996).



CHAPITRE 2

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a été menée dans la région du Centre Cameroun au campus de l'Université de Yaoundé I. Yaoundé est la capitale du Cameroun avec une superficie de 180 km² et une population d'environ 2,8 millions d'habitants. Il est situé à 3 ° 52 'N et 11 ° 32' E. La température moyenne annuelle est de 23,5 °C et une pluviométrie de 1650 mm par an. Les analyses des échantillons ont été effectuées au Laboratoire de Microbiologie des sols, Centre de Biotechnologie de Nkolbisson, Université de Yaoundé I. Suivant une démarche méthodologique précise (Figure 14), l'étude consistait à des travaux sur le terrain et des analyses au laboratoire.

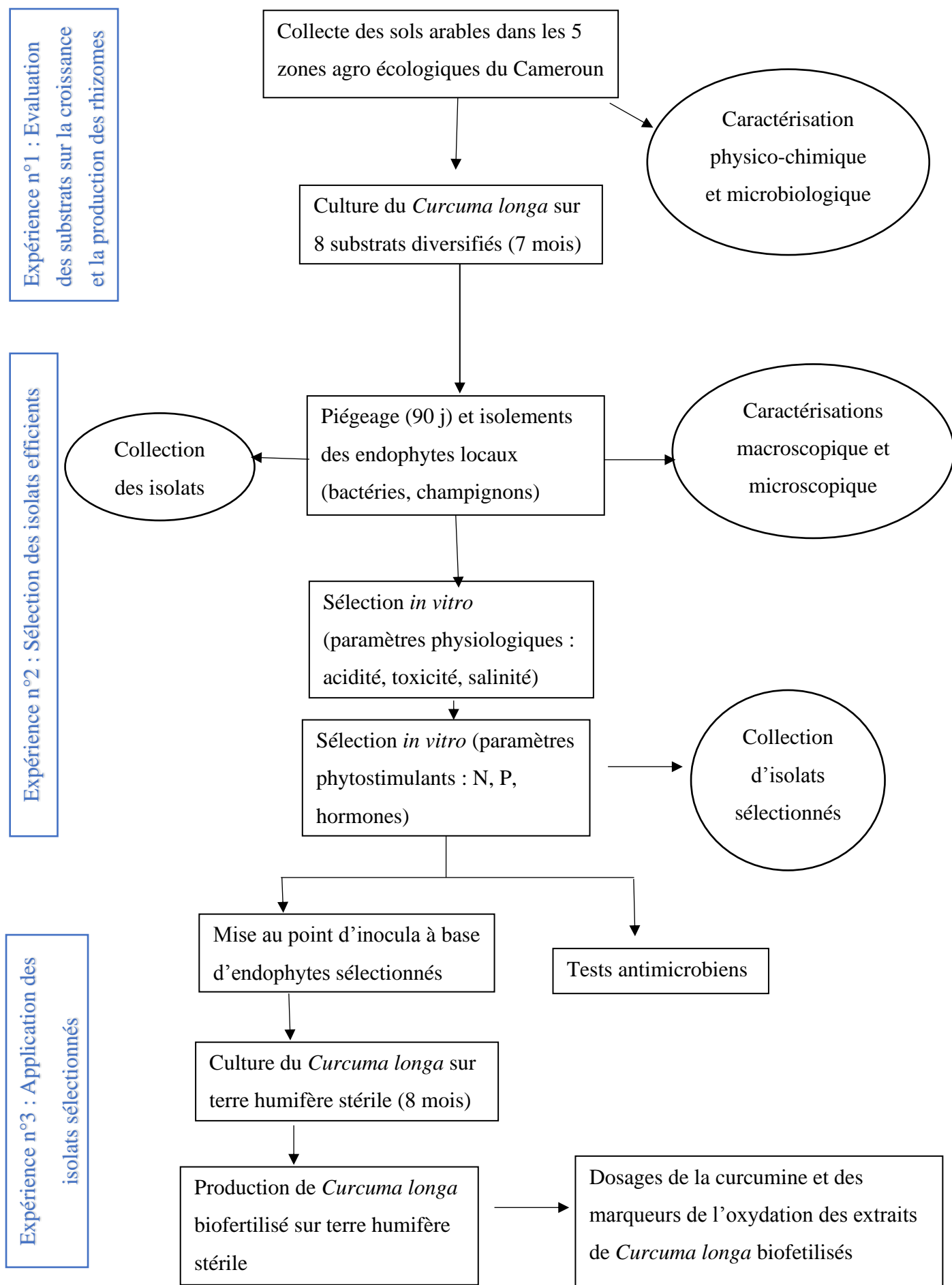


Figure 14. Diagramme synoptique du protocole de recherche sur les endophytes du *Curcuma longa*

2.1. CADRE DE L'ÉTUDE

Situé en Afrique centrale, le Cameroun s'étend du golfe de Guinée au Lac Tchad, entre le 2° et le 13° de latitude nord et le 8° 30' et le 16° 10' de longitude Est. Le pays a une superficie de 475 650 km² avec une façade maritime longue de 402 km. De forme triangulaire, sa longueur du Nord au Sud est de 1400 km et sa largeur, d'Est en Ouest est d'environ 800 km au maximum. Il est limité au Sud par le Congo, le Gabon, et l'Océan Atlantique, à l'Ouest par le Nigeria, au Nord par le lac Tchad, à l'Est par le Tchad et la République centrafricaine.

La densité de la population est 34 habitants/km². Cette population est constituée essentiellement de ruraux. Pour 2050, la projection de la population camerounaise est estimée à approximativement 27 millions d'habitants. Malgré la richesse en ressources, la situation alimentaire est très préoccupante. Les statistiques issues de la deuxième enquête camerounaise auprès des Ménages (ECAM II) en 2001 font état de 57% de camerounais qui vivent au-dessous du seuil de pauvreté (Ngo Nkot, 2009).

2.2. CARACTÉRISTIQUES DES SITES DE PRÉLÈVEMENT DES SOLS

Les échantillons de sols utilisés pour le piégeage et la culture du *Curcuma longa* ont été prélevés dans les 5 zones agroécologiques (Figure 15) du Cameroun suivant le protocole modifié de Bougnom *et al.* (2020). L'échantillonnage s'est fait sur une superficie de 0,2 ha à une profondeur comprise entre 3 et 20 cm. 100 kg de sols ont été prélevés après un quadrillage de la superficie d'étude, sur tous les 5 m des quatre côtés de la surface d'étude ainsi que sur les diagonales pour un total de 30 prélèvements. L'échantillonnage dans les 5 zones agroécologiques a été réalisé dans le but de favoriser la biodiversité microbienne.

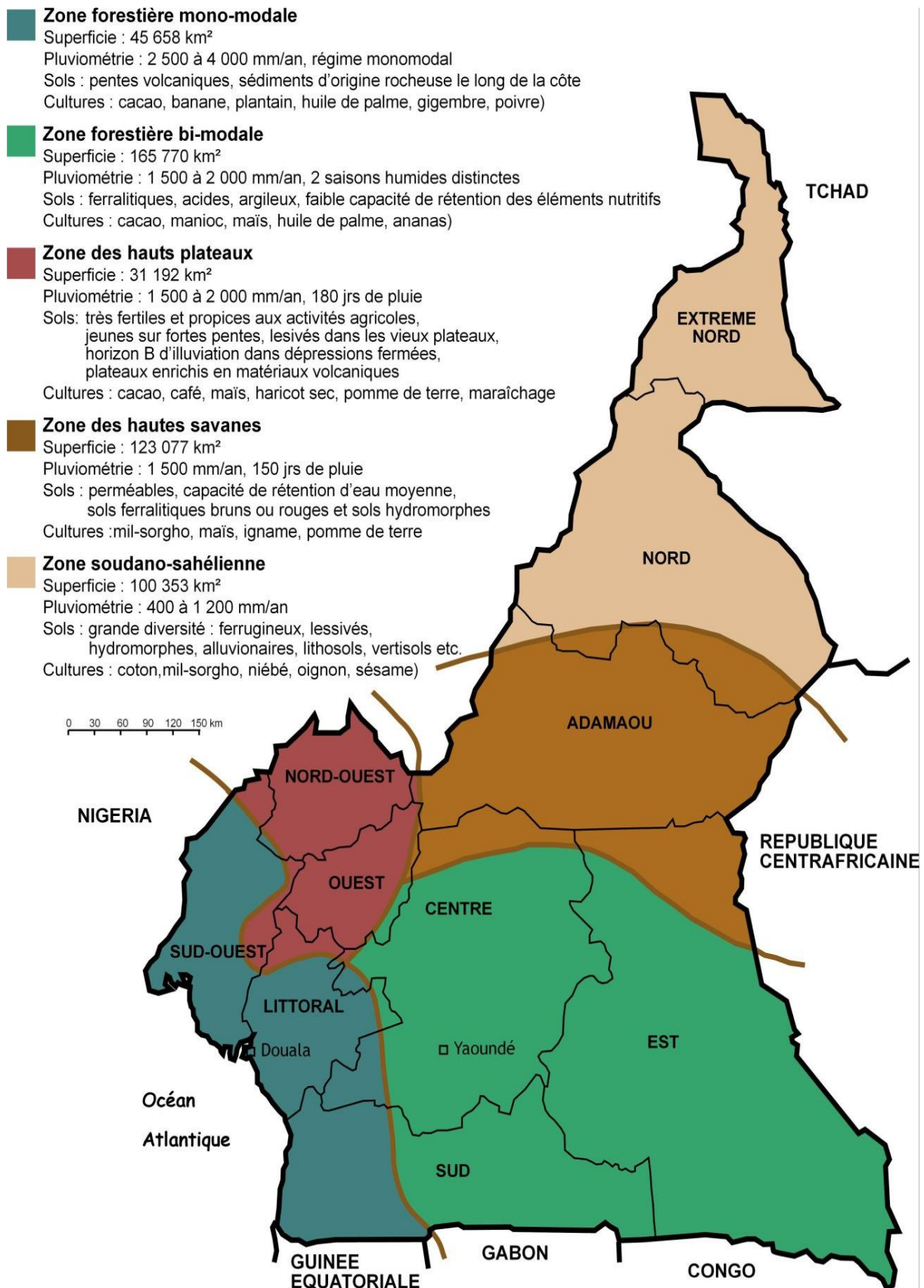


Figure 15. Les cinq zones agroécologiques du Cameroun (PNIA, 2014)

2.2.1. Zone I ou zone soudano-sahélienne

Elle recouvre approximativement les régions du nord et de l'Extrême Nord, soit une superficie de 10,2 millions d'hectares dont 0,56 million mis en culture. Le climat est caractérisé par une pluviométrie de type monomodale de durée et d'intensité variables (de 400 à 1200 mm par an du Nord au sud). Les températures varient dans le même sens, avec des moyennes pouvant atteindre 28°C à Garoua, tandis que les maximas sont de l'ordre de 40 à 45°C en avril. Les cultures pratiquées sont le sorgho, le mil, le coton, le maïs, le riz, l'arachide, le niébé et les cultures maraichères (Ngo Nkot, 2009). Les sols possèdent une grande diversité.

Dans cette zone les sols ont été prélevés d'une part, à l'extrême-Nord dans le département du Diamaré, arrondissement de Maroua 1^{er}, précisément dans la localité de Djarengol (Dj) et d'autre part, au Nord dans le département du Mayo-Rey, arrondissement de Touboro, Localité de Touboro (Tb). Ces sols provenaient de parcelles en jachères après culture d'oignons.

2.2.2. Zone II ou zone des hautes savanes guinéennes

Elle est comprise entre 5°42" à 8°36" de latitude nord, et 11°24" à 14°36" de longitude Est. Elle recouvre essentiellement la région de l'Adamaoua ainsi que la partie septentrionale des départements du Mbam (région du Centre) et du Lom-et-Djerem (région de l'Est) sur une superficie totale de 138 000 Km². Elle représente 28% de la superficie du Cameroun et est constituée dans sa grande partie par un vaste plateau d'altitudes comprises entre 900 et 1500 m, avec des sommets atteignant 1800 m. Le climat est de type soudanien, tropical humide à deux saisons par an. La pluviométrie moyenne annuelle est de l'ordre de 1500 mm, avec environ 150 jours de pluies. Du fait de l'altitude, les températures sont modérées, avec des moyennes mensuelles de l'ordre de 20 à 26°C. Ici, les cultures destinées à l'alimentation humaine ou du bétail priment sur les cultures à vocation commerciale. Ainsi, le maïs constitue la principale culture dont l'adoption par une bonne partie de la population a freiné la production du mil et du sorgho. On y cultive aussi l'arachide, ainsi que les ignames (Ngo Nkot, 2009).

Dans cette zone le sol a été prélevé d'une parcelle en jachère après culture d'ignames dans la région de l'Adamaoua, Département de la Vina, Arrondissement de Ngaoundéré 3^{ème}, Localité de Bini (Bi).

2.2.3. Zone III ou zone des hauts plateaux de l'Ouest

La zone est comprise entre 4°54" à 6°36" de latitude nord et 9°18" à 11°24" de longitude Est et couvre les régions de l'Ouest et du Nord-Ouest et représente une superficie totale de 3,1 millions d'hectares. Elle offre une grande diversité de reliefs : vers 1 240 m d'altitude s'étend le plateau Bamoun ; le plateau Bamiléké qui va jusqu'au mont Bamboutos (2740 m) et vers 1800 m

se situent les plateaux volcaniques de Bamenda. Le climat est de type "camerounien d'altitude", marqué par deux saisons d'inégales longueurs : une saison sèche, plus marquée qu'en zone IV et qui va de la mi-novembre à la mi-mars, et une saison des pluies qui dure de la mi-mars à la mi-novembre. Les températures moyennes sont basses (19°C), et les pluies abondantes (1500-2000 mm) tombent suivant une configuration monomodale. Les paysages, caractéristiques de moyennes montagnes, présentent par endroits une végétation de savane, des plateaux étagés, des bassins déprimés et des plaines traversées par des forêts-galeries. Toutes sortes de cultures y sont pratiquées : caféier, théier, bananier, maïs, arachide, riz, cultures maraîchères, etc. (Ngo Nkot, 2009).

Dans cette zone le sol provenant d'une parcelle en jachère après culture de haricot a été prélevé dans la région de l'Ouest, Département de la Menoua, Arrondissement de Dschang, Localité de Dschang (Ds).

2.2.4. Zone IV ou zone de forêts denses humides à pluviométrie monomodale

La zone est comprise entre 2°6" et 6°12" de latitude nord, et 8°48" et 10°30" de longitude Est. Elle couvre les régions du Littoral et du Sud-Ouest, ainsi que la bordure côtière de la région du Sud. Elle occupe une superficie de 4,5 millions d'hectares dont 282 000 (soit 6,3%) sont cultivés. Le terrain, plat dans l'ensemble, comprend les pentes volcaniques du Mont Cameroun qui culmine à 4095 m, les sédiments d'origine rocheuse le long de la côte. Le climat est de type "camerounien", très humide et chaud, variante du climat équatorial. Les pluies sont abondantes, en moyenne 2 500 à 4 000 mm, à l'exception de la localité de Debundscha considérée comme l'une des régions les plus pluvieuses du monde, avec 11 000 mm d'eau par an qui tombent suivant un régime pluviométrique monomodal avec une saison sèche très peu prononcée. La température varie entre 22 et 29°C et l'humidité de l'air entre 85 et 90 %, d'où le caractère lourd de l'atmosphère. La zone regorge de grandes cultures d'exportation : caféier, cacao, théier, bananier et bananier plantain, palmier à huile, hévéa, etc (Ngo Nkot, 2009).

Dans cette zone le sol a été prélevé dans une parcelle en jachère après culture de plantain dans la région du Littoral, Département du Wouri, Arrondissement du Wouri 1, Localité de Lendi (DI).

2.2.5. Zone V ou zone de forêts humides à pluviométrie bimodale

La zone est comprise entre 2°6" à 4°54"/5°48" de latitude nord et 10°30" à 16°12" de longitude Est. Elle s'étend sur la majeure partie du plateau sud-camerounais entre 500 et 1000 m d'altitude. Elle couvre les régions du Centre, du Sud et de l'Est, sur une superficie totale de 22,5 millions d'hectares. Chaud et humide, le climat est de type "guinéen", avec des températures

moyennes de 25°C et une pluviométrie de 1500-2000 mm par an, répartie en deux saisons humides bien distinctes permettant deux cycles de cultures et un calendrier agricole étalé avec semis et récoltes échelonnés. La végétation est composée de forêts denses semi-décidues et sempervirentes. La pratique de la culture itinérante sur brûlis suivie de jachères pour la restauration de la productivité du sol est traditionnelle. Il s'agit essentiellement de cultures pérennes (cacao, caféier robuste, divers arbres fruitiers), annuelles et pluriannuelles (bananier plantain, canne à sucre, maïs, tabac, cultures maraîchères, tubercules, etc) (Ngo Nkot, 2009).

Dans cette zone, les sols provenant de parcelles en jachère après culture de maïs ont été prélevés dans la région du Centre, le département de la Lekié, arrondissement d'Obala, Localité de Nkometou (Nk) ; dans la région du Sud, département de Mvila, arrondissement d'Ebolowa 1^{er} (Eb), localité d'Azem et dans la région de l'Est, le département du Lom-et-Djérem, arrondissement de Bertoua 1^{er} (Be), Localité de Nkolbikon 1.

Les différents types de sols rencontrés au Cameroun suivant le système de classification de la FAO (Food and Agriculture Organization) sont donnés par la figure 16 (Temga *et al.*, 2021). Sur cette base, on note que les sols utilisés dans cette étude sont :

- des vetisols (Djarengol) et plinthosol (Touboro) pour la zone agroécologique I;
- des nitisols pour les zones agroécologiques II (Bini) et III (Dschang) ;
- un régosol pour la zone agroécologique IV ;
- des ferralsols pour la zone agroécologique V.

C'est dans la ville de Yaoundé qu'ont été réalisées les cultures de *Curcuma longa*. Le climat de Yaoundé comporte quatre saisons d'inégale répartition dans l'année :

- une grande saison sèche (décembre-février) ;
- une petite saison pluvieuse (mars-mai) ;
- une petite saison sèche (juin-août) ;
- une grande saison pluvieuse (septembre-décembre).

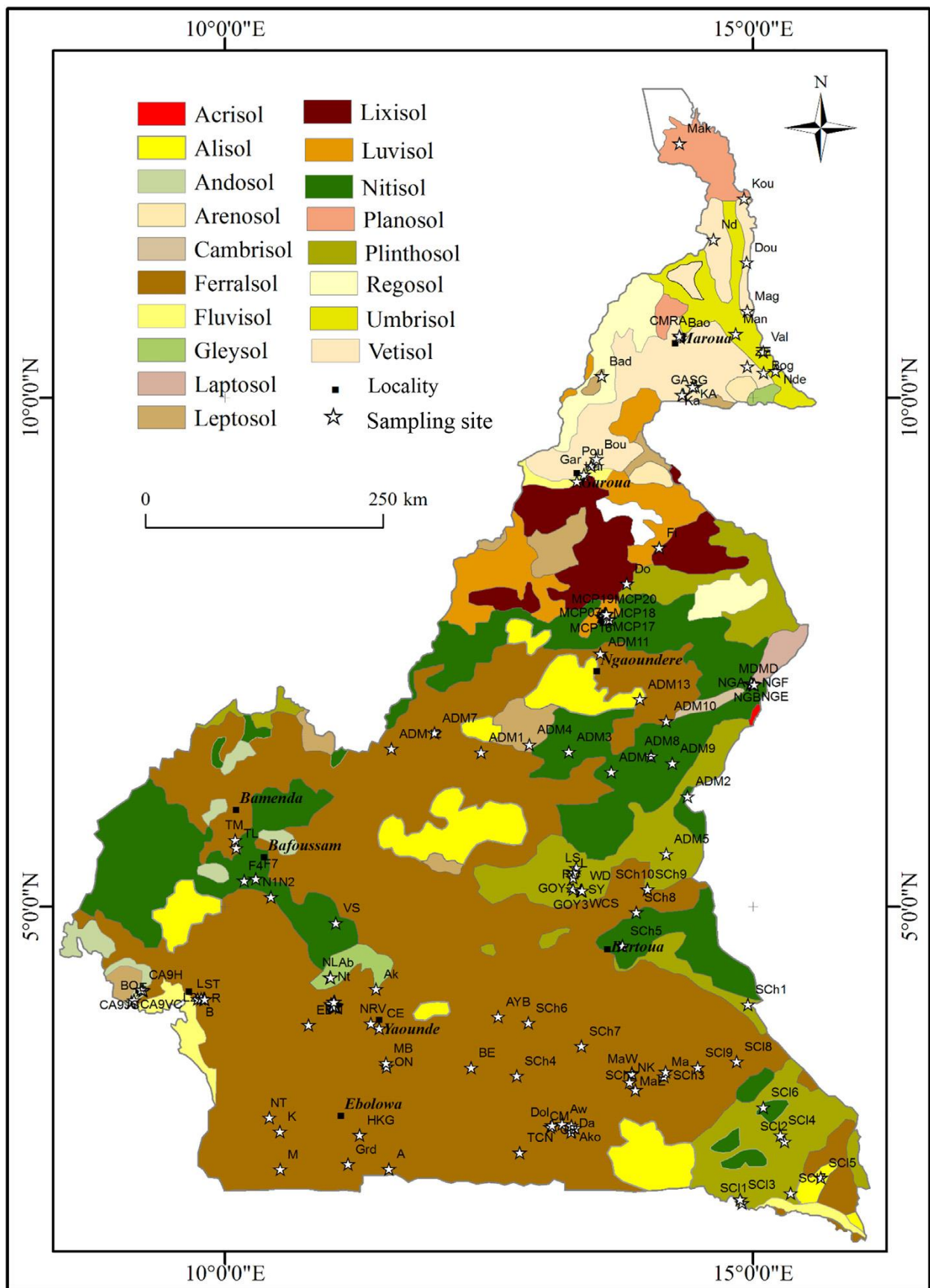


Figure 16. Carte du Cameroun montrant les différents types de sols (Temga *et al.*, 2021).

2.3. MATÉRIEL

2.3.1. Matériel végétal

Le *Curcuma* utilisé dans cette étude est originaire de la région de l'Ouest précisément d'un cultivateur de Sanchou. Il s'agit de l'espèce *Curcuma longa* ayant des rhizomes jaune orangé. La semence de *Curcuma longa* se caractérise par des rhizomes de 3 à 5 œils (nœuds) d'environ 3 à 5 cm. C'est la variété la plus cultivée au Cameroun.

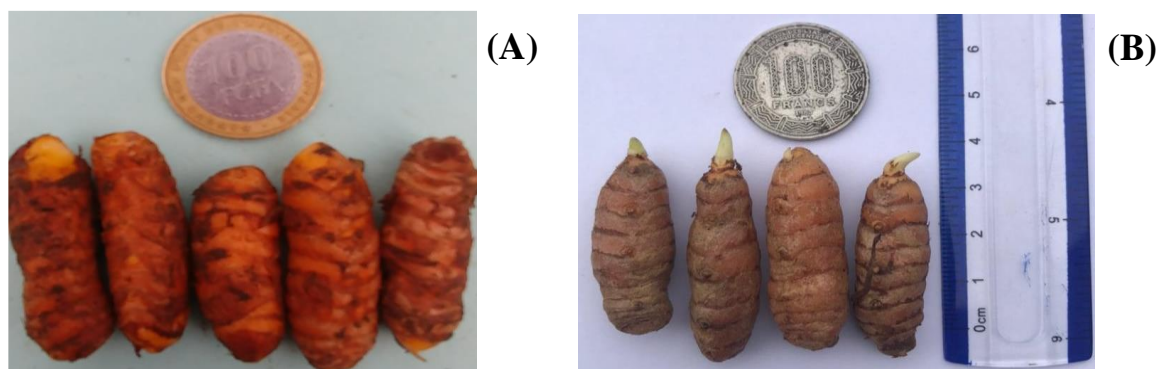


Figure 17. Rhizomes de *Curcuma longa* utilisés comme semences. (A) : non prégermé ; (B) : prégermé (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2019)

2.3.2. Matériel microbien et engrais conventionnel

2.3.2.1. Souches pathogènes

Les souches pathogènes utilisées étaient constituées d'une bactérie pathogène et de trois champignons phytopathogènes provenant du Laboratoire de Phytoprotection et de Valorisation des Ressources Végétales du centre de Biotechnologie de l'Université de Yaoundé 1. La bactérie pathogène utilisée était *Ralstonia solanacearum* (RS) et les champignons étaient *Pythium myriotylum* (PY), *Fusarium oxysporum* (FO) et *Phytophthora megakarya* (PM).

2.3.2.2. Inocula d'endophytes

Les inocula utilisés dans cette étude ont été produits à partir des isolats sélectionnés obtenus des différents substrats de piégeage. Ces inocula ont été utilisés pour évaluer leur efficacité sur la production de rhizomes et de curcumine chez *Curcuma longa*. Les inocula étaient constitués d'un milieu de culture liquide pour endophytes (YMB + peptone) (Annexes 1 et 2) associé aux isolats.

2.3.2.3. Biofertilisant microbien

Le biofertilisant utilisé (Myco F) dans cette étude provient de la collection de la banque de souches du Laboratoire de Microbiologie des sols du Centre de Biotechnologie de l'Université de Yaoundé I et vulgarisé au GIC AGRIBIOCAM. Ce biofertilisant est constamment utilisé pour

l'inoculation en champ et pour les expérimentations en serre depuis plusieurs années (Nwaga *et al.*, 2013). Il est constitué de 4 souches sélectionnées de CMA : *Gigaspora margarita*, *Scutellospora gregaria*, *Glomus hoi* et *Rhizophagus intraradices* cultivé sur le sorgho et concentré à 22 spores/g.



Figure 18. Inoculum de champignon Mycorhizien (Myco F)

2.3.2.4. Engrais chimique

L'engrais conventionnel utilisé dans cette étude est un engrais azoté simple, l'urée à 46% d'azote.



Figure 19. Échantillon d'urée (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2019)

2.4. MÉTHODES

2.4.1. Mise en évidence de l'effet des substrats sur la production de *Curcuma longa*

2.4.1.1. Échantillonnage et préparation du substrat d'étude

❖ Échantillonnage des sols

L'expérimentation a été menée avec 8 sols collectés en août 2018 dans cinq zones agroécologiques du Cameroun : Djarengol (Dj) et Touboro (Tb) (zone I) ; Bini (Bi) (zone II), Dschang (Ds) (zone III), D1 (zone IV), Nkometou (Nk), Bertoua (Be), et Ebolowa (Eb) (zone V).

Le sol de chaque site a été échantillonné au hasard (profondeur comprise entre 3 et 20 cm) à 30 emplacements différents d'environ 0,2 ha et mélangé pour former des échantillons composites.

Une fois au laboratoire, chaque échantillon de sol a été divisé en deux parties :

- la première partie fraîche a été tamisée et utilisée pour le piégeage et l'isolement des endophytes ;
- la deuxième partie séchée à l'air et tamisée à 2 mm pour séparer les particules dont la taille est supérieure à 2 mm. Ces échantillons de terres fines sont utilisés pour la détermination des paramètres physico-chimiques

❖ Préparation des substrats de piégeage et de culture

Au laboratoire, les sols et du sable grossier (provenant du fleuve Sanaga) ont été étalés à l'aide des pelles et des houes ; ensuite par triage manuel, les substrats ont été débarrassés de débris (feuilles mortes et fibres). Après, les échantillons des sols provenant de 8 régions et de sable ont été tamisés. Enfin, les mélanges sols-sable ont été effectués suivant les teneurs en argiles des sols (en fonction de la texture des sols). Les proportions 2 : 1 ont été utilisées pour les sols de Dj, Tb et Bi d'une part et d'autre part 3 : 1 pour les sols de Ds, Dl, Be, Nk et Eb (Morton & Bentivenga, 1994). Le substrat est par la suite introduit dans des pots.

2.4.1.2. Analyse physico-chimique des sols

Les différents sols provenant des 5 zones agroécologiques utilisés pour la culture de *Curcuma longa* ont été analysés pour la détermination du pH, du carbone organique total, de l'azote total, du phosphore assimilable, de la matière organique totale et la taille des particules élémentaires. Pour cela, 500 g d'échantillon séchés à l'air et tamisés à 2mm ont été conditionnés et envoyés à l'IITA pour des analyses. Les analyses ont été faites en utilisant les méthodes utilisées à l'IITA (Day, 1953 ; Giroux & Audesse, 2004). La couleur de chaque sol a été déterminé à l'aide du code Munsell.

2.4.1.3. Dispositif expérimental

Les différents substrats obtenus et introduits dans les pots ont été utilisés pour le piégeage des endophytes et pour la culture du *Curcuma longa* suivant un dispositif en blocs non randomisés (Figure 20). Il est composé de 96 pots divisés en 8 lots de 12 pots qui représentent les traitements contenant les échantillons des 8 sols des zones agroécologiques. Chaque pot comporte 3 plants de *Curcuma longa* pour un total de 288 plants (Annexe 3).

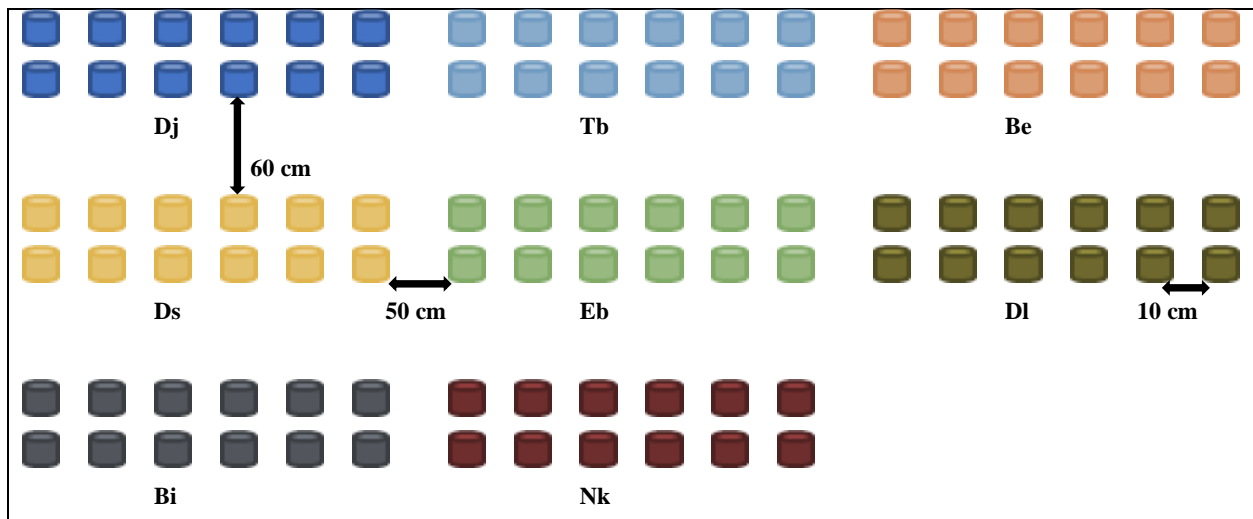


Figure 20. Dispositif expérimental I : piégeage des endophytes et production du *Curcuma longa* sur 8 substrats des 5 zones agroécologiques du Cameroun.

Légende : Djarengol (Dj) ; Touboro (Tb), Bini (Bi), Dschang (Ds), Douala (Dl), Nkometou (Nk), Bertoua (Be) et Ebolowa (Eb).

2.4.1.4. Extraction des spores de CMA

Les spores sont des organites solidaires dans le sol. Elles forment des agrégats dans le sol où elles sont organisées autour d'un plexus mycélien (Gerdemann & Trappe, 1974). Elles peuvent permettre suivant leur couleur, leur taille et leur forme de différencier les CMA au niveau des genres (Schenck & Perez, 1990). Les spores de tailles différentes ont été extraites selon le protocole de Schenck & Perez (1990) qui consiste au tamisage et décantage d'une suspension de sol à l'aide de tamis de mailles décroissantes.

Pour cela, Environ 100 g de chaque sol ont été pesés et introduits dans un bocal d'un litre ; 300 ml d'eau du robinet y ont été ajoutés. Le mélange a été homogénéisé vigoureusement (30 sec) puis a été laissé à décanter pendant 15 sec. Le liquide a alors été versé au travers de tamis dont les mailles sont comprises entre 0,2 mm, et 0,04 mm. Cette manœuvre a été répétée trois fois. Le contenu de chaque tamis a été rincé jusqu'à éclaircissement de l'eau. Le surnageant de chaque tamis a été transféré dans des boîtes de Pétri quadrillées de 69,4 cm² de diamètre et étiquetées.

2.4.1.5. Dénombrement des spores de CMA

Le nombre de spores a été évalué avant le semis (*T in situ*). Après extraction simple, le surnageant est versé dans une boîte de Pétri de 69,4 cm² de surface. L'observation des spores a été faite au stéréomicroscope (de marque Zeiss), aux grossissements 100 et 400. Les spores ont été comptées dans 10 carreaux contigus rangés en 2 groupes de 5 de surface totale 2,5 cm² (Figure 21).

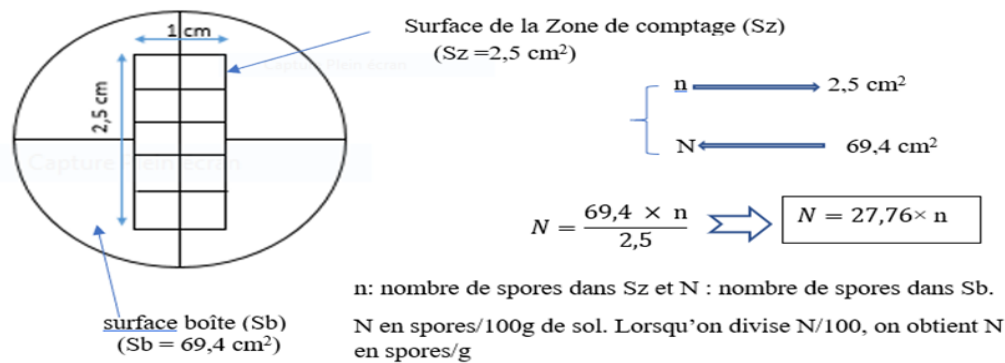


Figure 21. Méthode de calcul du nombre de spores d'un échantillon après extraction.

2.4.1.6. Taux de colonisation racinaire

Les fragments de racines de 1 à 2 cm ont été récoltés dans chaque traitement 90 jours après le semis. Ils ont ensuite été introduits dans des tubes à essai et traités selon la méthode de Kormanik & Mc Graw (1982). La procédure était la suivante :

- découper puis laver les racines récoltées à l'eau de robinet ;
- éclaircir les racines dans le KOH 10% pendant 30 min à 90 °C au bain-marie ;
- laver les racines 3 fois à l'eau de robinet à intervalle de 1 min ;
- acidifier les racines dans du HCl 1% pendant 1h à température ambiante ;
- colorer les racines dans une solution de fuchsine acide 0,05% pendant 30 min ;
- vider la solution de coloration des tubes ;
- décolorer dans une solution d'acide lactique-glycérol-eau (4-1-1) pendant 24 heures au moins.

Les fragments de racines colorés (30 fragments/traitement) sont montés parallèlement sur des lames et recouverts par de lamelles par groupe de 10 et observés au microscope aux grossissements 100 et 400. Trois répétitions sont effectuées. La présence ou l'absence des structures caractéristiques des mycorhizes (filaments mycéliens, spores, vésicules, arbuscules) permet d'évaluer la fréquence de colonisation racinaire.

$$TC (\%) = \left[\frac{n}{N} \right] \times 100$$

Avec (n) le nombre de fragments racinaire observé possédant une ou plusieurs structure(s) mycorhizienne (s) et (N) le nombre de fragments racinaires totales (10 fragments) se trouvant sur le montage lame-lamelle.

2.4.1.7. Collecte des paramètres de croissance et mesure de la production en rhizomes

Les différents paramètres qui ont été collectés étaient : le nombre de feuilles (NF), la surface foliaire (SF), la hauteur de la tige (HT). Ces paramètres ont été évalués tous les 21 jours de la sixième semaine après le semis, jusqu'à la récolte.

La production des rhizomes a été évaluée à la récolte avec une balance automatique. Pour cela, 7 mois après la culture, les rhizomes ont été récoltés et utilisés pour évaluer leur biomasse.

2.4.2. Isolement et caractérisation des endophytes locaux piégés de *Curcuma longa*

2.4.2.1. Isolement des bactéries et champignons endophytes

La connaissance des endophytes au Cameroun reste embryonnaire. L'un des objectifs du présent travail a été d'établir une collection d'endophytes. Le dispositif expérimental utilisé pour piéger les endophytes était constitué de pots contenant environ 5 kg de substrats obtenus en mélangeant les sols provenant des 5 zones agroécologiques du Cameroun à du sable (Figure 20). Les racines de chaque traitement ont été prélevées séparément le 3^{ème} mois de croissance pour isoler les endophytes.

a) Échantillonnage

Les racines de *Curcuma longa* ont été prélevées de manière aléatoire dans 6 pots/traitement des cultures. Les racines ont été découpées en fragments de 0,5 à 1 cm pour l'isolement des endophytes.

b) Stérilisation de surface des racines

La méthode la plus fréquemment utilisée pour détecter et quantifier les endophytes implique l'isolement à partir de tissus végétaux hôtes stérilisés en surface (Maroof *et al.*, 2012). L'isolement des endophytes a été réalisé dans des conditions aseptiques.

Les racines récoltées utilisées pour l'isolement ont d'abord suivi une stérilisation de surface (Sun *et al.*, 2008 ; Jasim *et al.*, 2014). Les racines ont d'abord été rincées plusieurs fois sous l'eau courante du robinet pour enlever les débris et les particules minérales associées puis, découpées en petits segments (0,5 à 1 cm).

La stérilisation de surface a été effectuée en rinçant séquentiellement le matériel végétal avec de l'éthanol à 80° (C₂H₅OH) pendant 3 minutes, puis avec de l'hypochlorite de sodium de 4% pendant 2-3 minutes, ensuite le matériel végétal a été rincé par de l'eau distillée stérile et traité avec de l'alcool 75° pendant 1 minute, suivi de 8-10 rinçages successifs avec de l'eau distillée stérile. Les racines ont ensuite été séchées entre les plis des papiers filtres stériles.

L'efficacité de la stérilisation de surface des échantillons a été vérifiée. Pour cela, 0,1 ml de la dernière eau distillée de rinçage a été étalée sur des boîtes de Pétri contenant les géloses PDA

et YEMA (Annexe 1). L'absence de bactéries et de champignons, après 6 jours d'incubation était prise pour confirmer l'efficacité de la stérilisation de surface et les microorganismes isolés étaient considérés comme endophytes (Jasim *et al.*, 2014 ; Deshmukh *et al.*, 2018).

c) Les milieux de cultures

Différents milieux de culture ont été utilisés pour réaliser les isolements. Les milieux : Potatoes Dextrose Agar (PDA) ; King-B, Glucose levure extrait de malt (GLM) ; Sucrose Glucose Agar (SGA) ; *Curcuma* Agar (CA) ; Soil Extract Agar (EA) et *Curcuma* Soil Extract Agar (CEA) (Annexe 1).

d) Isolement des endophytes

Après le séchage approprié, les endophytes ont été isolés suivant la méthode des fragments remaniée décrite par Deshmukh *et al.* (2018). Pour cela, les racines découpées ont été placées sur différents milieux de culture soit King-B, GLM et SGA d'une part et d'autre part, sur le PDA pour favoriser respectivement la croissance des bactéries endophytes et celles des champignons endophytes sous la hotte. Les milieux CA, EA et CEA ont été utilisés pour isoler aussi bien les champignons que les bactéries endophytes. De plus, les boîtes de Pétri ont été incubées à 28 °C au $\pm 2^\circ\text{C}$ pendant 1 semaine jusqu'à l'observation de la croissance fongique. Les boîtes de Pétri ont été régulièrement contrôlées pour détecter toute croissance microbienne. Les colonies d'endophytes entourant la section tissulaire ont été prélevées et striées sur YEMA et PDA pour la sélection de clone bactérien et fongique respectivement (Sun *et al.*, 2008).

e) Purification des endophytes

La purification d'endophytes à partir d'une population mixte d'endophytes isolés a été effectuée de manière à obtenir des isolats purs. Celle-ci a consisté à réaliser des stries sur milieu gélosé nutritif soit YEMA pour les bactéries endophytes et PDA pour les champignons endophytes (Sun *et al.*, 2008). Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 28°C durant 24 heures pour les bactéries endophytes et pendant une semaine pour les champignons endophytes.

f) Maintien des endophytes

Les isolats d'endophytes purifiés ont été repiqués dans des boîtes de Pétri contenant du PDA pour les champignons endophytes et du YEMA pour les bactéries endophytes, puis ont été maintenus à 4 °C jusqu'à leur utilisation ultérieure (Maroof *et al.*, 2012). Un rappel de réensemencement a été exécuté tous les trois mois.

Les endophytes ont été conservés (4°C) dans le milieu Nutrient broth + glycérol (Annexe 1) pour une longue durée.

2.4.2.2. Caractérisation des isolats d'endophytes

Dans ce travail, toutes les expérimentations ont été réalisées en triplicata.

a) Paramètres physiologiques

❖ Tolérance à l'aluminium

Les isolats ont été contrôlés pour la tolérance à l'aluminium à différentes concentrations. Les cultures fraîches ont été striées sur milieux YEMA et PDA contenant 50 mM, 75 mM et 100 mM d' Al^{3+} . Après 48 h d'incubation à $28 \pm 2^{\circ}C$ pour les bactéries et 2 semaines pour les champignons, les résultats étaient notés comme une croissance positive ou négative (Ngo Nkot, 2009).

❖ Tolérance à la salinité

Les isolats ont été contrôlés pour la tolérance au sel à différentes concentrations. Les cultures fraîches ont été striées sur un milieu YEMA et PDA contenant 7,5%, 10% et 15% de NaCl. Après 48 h d'incubation à $28 \pm 2^{\circ}C$ pour les bactéries et 2 semaines pour les champignons, les résultats étaient notés comme une croissance positive ou négative (Kumar *et al.*, 2016).

❖ Tolérance à l'acidité

Les isolats ont été contrôlés pour la tolérance à l'acidité des sols à divers pH. Les cultures fraîches ont été striées sur un milieu YEMA (pH 3,4,5,6) et PDA (pH 3, 4, 5 et 6). Après 48 h d'incubation pour les bactéries et 2 semaines pour les champignons à $28 \pm 2^{\circ}C$, les résultats étaient notés comme une croissance positive ou négative.

b) Paramètres macroscopiques et microscopiques

L'analyse macroscopique consistait à étudier la couleur, l'aspect, la taille, le temps de croissance, l'odeur, la marge et la pigmentation des colonies suivant la norme microbiologique (Smibert & Krieg 1994 ; Sneath, 2001).

L'analyse microscopique consistait à réaliser d'une part, la coloration au bleu de méthylène et d'autre part, la coloration de Gram.

❖ Coloration au bleu de méthylène

Les caractéristiques microscopiques des champignons retenus ont été obtenus après coloration au bleu de méthylène. Les lames étaient préalablement nettoyées au bleu de méthylène, l'alcool éthylique et à l'eau distillée stérile. Une goutte de bleu de méthylène (0,05%) a été déposée sur la lame puis on a étalé la moisissure sur la lame à l'aide d'une anse ; ensuite on a recouvert avec la lamelle et enfin, les échantillons étaient prêts pour l'observation microscopique.

❖ Coloration de Gram

La coloration de Gram est l'une des méthodes de coloration la plus utilisée en bactériologie. Elle permet de diviser les bactéries en deux classes : Gram- et Gram+. Le frottis est réalisé en couche mince dans une goutte d'eau distillée sous la hotte et la coloration a été faite suivant la méthode décrite par Harold (2002).

c) Identifications biochimiques

❖ Activité catalase des endophytes

Pour mesurer l'activité catalase, une culture fraîche d'endophyte a été introduite dans une boîte, l'addition d'une goutte d'eau oxygénée (3 %) a provoqué une effervescence qui se traduira par une formation des petites bulles de CO₂ (Figure 22) (Aneja, 2006 ; Ullah *et al.*, 2018).



Figure 22. Activité catalase des endophytes. (a) Absence d'effervescence ; (b) Présence d'effervescence (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2020).

❖ Activité protéase des endophytes

Pour mesurer l'activité protéase, des cultures fraîches d'isolats ont été placées au centre du milieu SMA (Annexe 1) et incubées pendant 2-5 jours. La présence de halos incolores autour des colonies étaient indicatives de la production de protéase (Figure 23). (Chaiarn *et al.*, 2008 ; Ullah *et al.*, 2018).



Figure 23. Test de production de protéase des endophytes (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2020)

❖ Activité cellulase des endophytes

Pour mesurer l'activité cellulase, des cultures fraîches d'isolats ont été placées au centre d'une boîte de Pétri contenant du milieu CMC agar (Annexe 1) (Ariffin *et al.*, 2006). À la fin de l'incubation, le milieu a été inondé avec une solution aqueuse de rouge Congo (1% p/v) pendant 15 min. La solution de rouge Congo a ensuite été déversée et les boîtes de Pétri ont été ensuite

traitées par immersion avec du NaCl 1 M pendant 15 min. La formation d'une zone claire d'hydrolyse indique une dégradation de la cellulose (Figure 24).

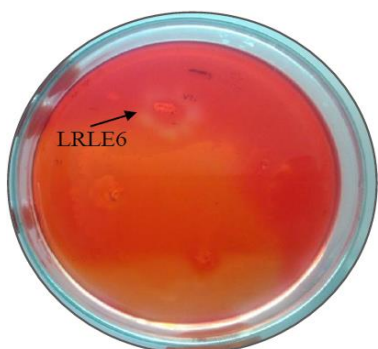


Figure 24. Test de production de cellulase (Gurjot, 2016).

❖ **Activité amylase des endophytes**

La méthodologie utilisée a été décrite par Hankin & Anagnostakis (1975). Les isolats ont été inoculés dans de la gélose nutritive (NA) avec 0,2 % d'amidon soluble (Annexe 1). Après incubation, les cultures ont été traitées sous une solution d'iode, ce qui a permis la visualisation de halos clairs autour des colonies.

❖ **Activité uréase des endophytes**

L'uréase catalyse la réaction de transformation de l'urée en carbonate d'ammonium, qui est responsable de l'alcalinisation du milieu (Dellarras, 2007).

Les isolats ont été cultivés sur milieux YEMA et PDA contenant 0,2 g/l d'urée et 0,012 g/l de rouge de phénol comme indicateur de pH (Jarvis & Mishkin, 1977). L'apparition d'une coloration rouge traduit l'activité uréase de l'isolat après 48h d'incubation à 28 °C pour les bactéries et 2 semaines pour les champignons (Figure 25).

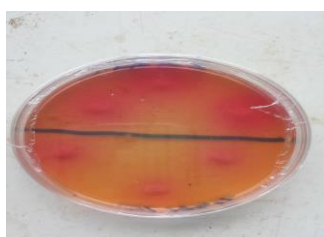


Figure 25. Activité uréase des endophytes bactériens (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2020).

❖ **Utilisation de substrats carbonés**

La mise en évidence de la capacité de différents isolats bactériens à utiliser différents substrats comme source de carbone a été réalisée sur milieu YEMA modifié en remplaçant le mannitol par le substrat à tester et l'extrait de levure par le KNO₃. Du rouge de phénol a été ajouté au milieu comme indicateur coloré. Les sucres utilisés ont été : maltose, sucrose et glucose. Après ensemencement du milieu par la méthode de touche, les tubes sont incubés à 28°C pendant 48h, le virage du rouge au jaune indique l'utilisation du sucre correspondant (Figure 26).

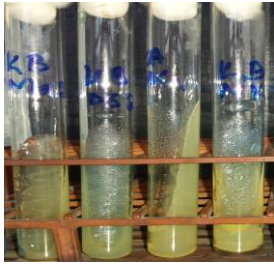


Figure 26. Utilisation des substrats carbonés des endophytes bactériens (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2020).

d) Paramètres favorisant la croissance des plantes

❖ Production d'ACC désaminase

La production d'ACC désaminase des isolats d'endophytes a été criblée en utilisant les méthodes décrites par Jasim *et al.* (2013). Pour cela, les isolats ont été inoculés sur milieu minimal sels DF modifié avec 0,2% de sulfate d'ammonium (p/v) (Annexe 1). La croissance d'un isolat dans ce milieu après 2-5 jours d'incubation a été considéré comme un résultat positif (Figure 27).

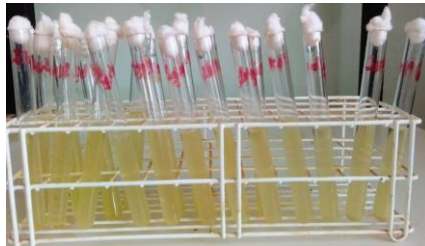


Figure 27. Test de production d'ACC désaminase (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2020).

❖ Production d'acide 3-indole acétique

Les isolats présélectionnés ont été cultivés dans le milieu eau peptonée (Annexe 1) et réparties dans des tubes à essais stériles. Les tubes ainsiensemencés ont été incubés à 30°C pendant 14 jours. Pour la révélation, quelques gouttes de réactif de Kovacs ont été versés. Le développement d'un anneau rouge en surface dans les tubes indiquait la présence d'indole (Figure 28) (Marchal *et al.*, 1982).

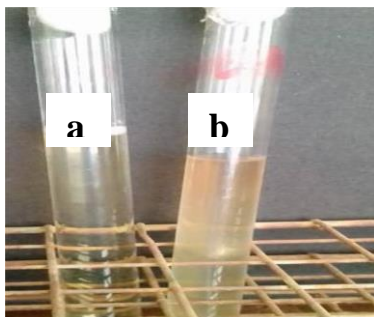


Figure 28. Test de production d'indole. (a) Test négatif (b) Test positif d'un endophyte (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2020).

❖ Solubilisation du phosphore

L'habilité des endophytes à solubiliser le phosphore a été déterminée sur le milieu NBRIP. Les isolats ont étéensemencés sur le milieu NBRIP (Annexe 1) complété avec du $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)$ comme

seule source de phosphate inorganique et additionné à 2,4 mg/mL de bleu de bromophénol et incubés pendant 3 jours à $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Le développement d'un halo clair autour des isolats a montré leur activité positive de solubilisation du phosphore en raison de l'utilisation du phosphate tricalcique présent dans le milieu (Figure 29) (Kumar *et al.*, 2016). L'indice de solubilisation (IS) des endophytes a été déterminé suivant la formule (Maimouna, 2017) : $IS = \frac{Dt}{n} = \frac{(Z + n)}{n}$ Avec Z halo de solubilisation et n diamètre de la colonie.

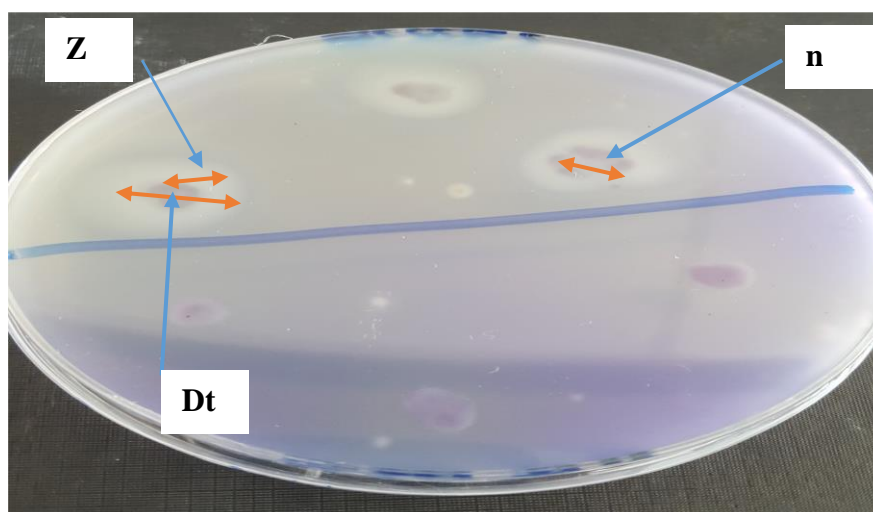


Figure 29. Solubilisation du phosphore par un endophyte bactérien (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2020).

❖ Fixation de l'azote atmosphérique

La capacité des isolats à fixer l'azote a été évaluée sur milieu NFM (Annexe 1) (Doebereiner, 1994). Une colonie de chaque isolat et une souche d'*Escherichia coli* ont été mises en culture sur NFM. Après incubations et apparition des colonies, les colonies résultantes ont été repiquées sur NFM additionnées au NH_4Cl pour confirmer l'habileté des isolats à fixer l'azote (Figure 30). Les boîtes de Pétri ont été incubées à 28°C pendant 7 jours.



Figure 30. Test de fixation de l'azote par les endophytes bactériens. (a) Aucune croissance d'*Escherichia coli* (b) Croissances des isolats (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2020).

❖ Production d'ammoniac

Les isolats ont été mis en culture dans de l'eau peptonée et incubés 48h pour les bactéries et 5 jours pour les champignons à 30°C pour déterminer leur potentiel à produire l'ammoniac. Par la suite, le réactif de Nessler a été ajouté. Le développement d'une couleur jaune a indiqué une activité positive (Figure 31) (Marques *et al.*, 2010).

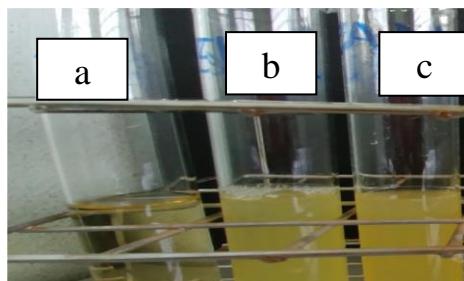


Figure 31. Test de production d'ammoniac. (a) Test négatif (b) Test positif d'un endophyte fongique (c) Test positif d'un endophyte bactérien (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2020).

e) Essais d'identification

❖ Identification bactérienne

Les tests biochimiques standards ont été réalisés sur les différents isolats. Ces tests ont été utilisés pour l'identification des endophytes bactériens tel que décrit par Aneja (2006).

❖ Identification des champignons

L'identification des isolats fongiques reposait sur différents critères : morphologie de la culture ou des hyphes, caractéristiques des spores et structures de reproduction, si les caractéristiques étaient discernables à l'aide de bleu de méthylène. Pour cela, les clés d'identifications de Watanabe (2002, 2010) ont été utilisées.

2.4.3. Evaluation de l'effet des endophytes sur la croissance, la production de rhizomes de *Curcuma longa* et de curcumine

2.4.3.1. Constitution du substrat d'étude

Le substrat a été constitué de la terre humifère de forêt des environs de Yaoundé et du sable grossier (provenant du fleuve Sanaga). Le sable et la terre ont été préalablement tamisés séparément avec un tamis de maille 2 mm. La terre et le sable tamisés ont été mélangés à une proportion 3 :1 (Morton & Bentivenga, 1994). L'ajout de sable grossier permet d'alléger la texture et d'obtenir un substrat avec une bonne aération, un bon drainage, une bonne perméabilité. Après avoir bien homogénéisé le mélange, ce substrat a été stérilisé à l'autoclave à 121 °C pendant 4h. Le substrat a par la suite été introduit dans des pots. L'ensemble a été refroidi durant 3 jours avant semis. Les caractéristiques physico-chimiques du substrat ont été déterminées (Tableau IV).

Tableau IV. Propriétés physico-chimiques de la terre humifère de forêt des environs de Yaoundé

Texture (%)	
Sable	51
Limon	19,5
Argile	29,5
pHe	4,5
Matières organiques	
C organique (%)	2,8
Matière Organique (%)	4,8
N total (g/kg)	1,0
C/N	27
Cations échangeables en meq/100g	
Ca ²⁺	3,56
Mg ²⁺	1,6
K ⁺	1,3
Na ⁺	0,2
Somme des bases	6,62
Capacité d'échange cationique en meq/100g	
CEC pH 7	15,36
Saturation bases (%)	43
Phosphore assimilable	
Bray II (mg/kg)	8,66
Soufre (mg/kg)	0,00

2.4.3.2. Dispositif expérimental

Le substrat obtenu à partir de la terre humifère de forêt a été utilisé pour tester l'effet des endophytes sur la production de rhizomes et de curcumine chez *Curcuma longa* suivant un dispositif en blocs non randomisés (Figure 32). Le dispositif expérimental comprenait une variété de *Curcuma longa*, 1 témoin, 26 inocula microbiens et 1 traitement urée avec 16 plants par traitement. Les différents traitements ont été : (T) témoin sans inoculation ; (MSP) traitement comportant une souche dit solubilisant le phosphore ; (BFA) traitement comportant une souche dit fixant l'azote ; (T1 à T23) traitements contenant différents isolats bactériens/fongiques sélectionnés ; (CMA) traitement avec Myco F et (Urée) traitement avec urée.

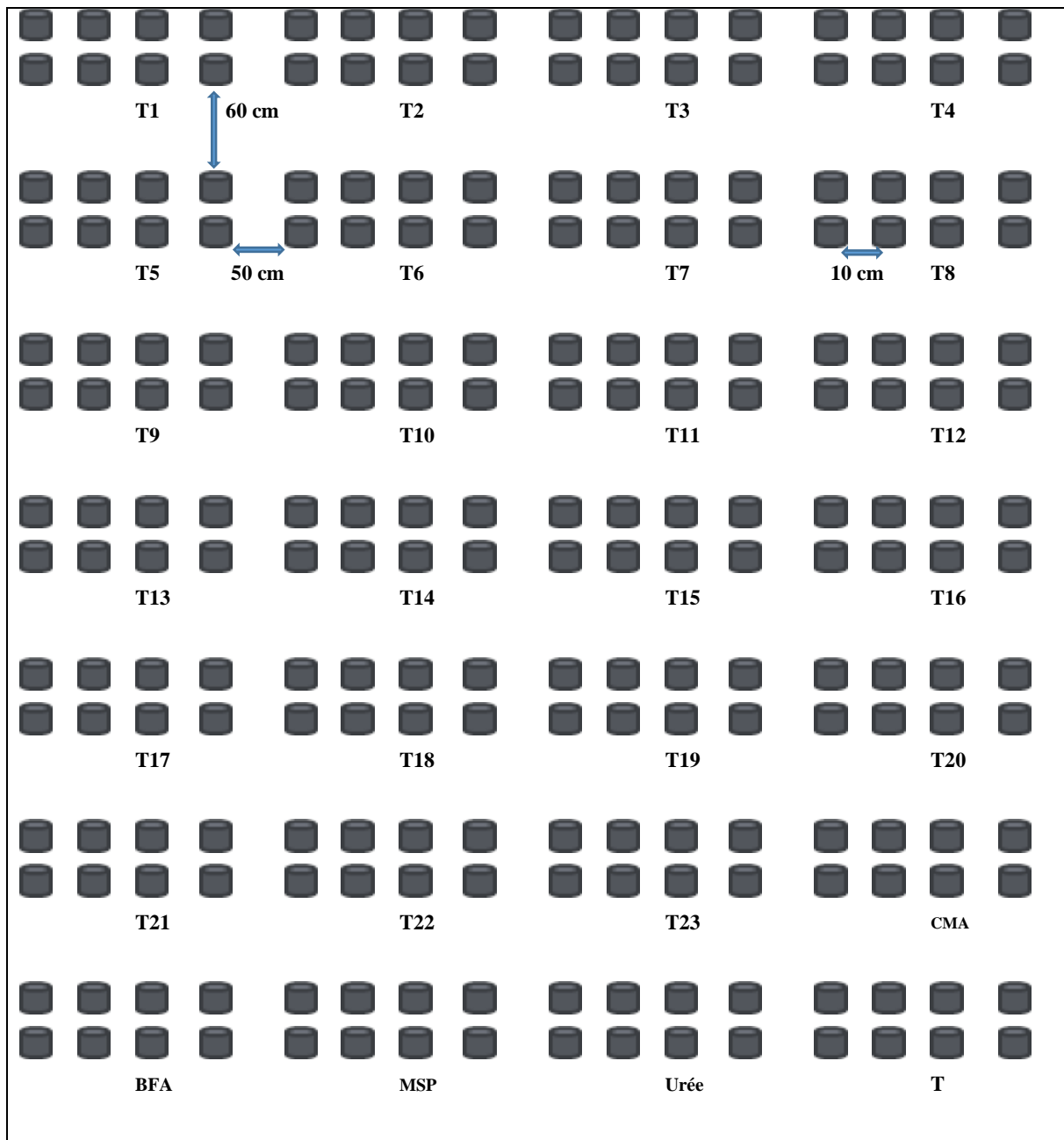


Figure 32. Dispositif expérimental II : interaction entre les endophytes et le *Curcuma longa* sur sol stérilisé de terre humifère de forêt

2.4.3.3. Préparation des inocula microbiens

a) Préparation des inocula bactériens

4 à 6 colonies par isolat bactérien sélectionné pour l'inoculation des plantes ont été prélevées à la périphérie de colonies fraîches qui ont poussées dans le milieu de culture. Chaque isolat a été cultivé à température ambiante sous agitation dans un erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml de milieu liquide YMB additionné à la peptone en absence de lumière pendant 48h (Annexe 2). 1ml de la dilution 10^{-1} est prélevé aseptiquement et mis dans 9 ml d'eau physiologique stérile donnant ainsi la dilution 10^{-2} qui est agitée avant de prélever 1 ml que l'on ajoute à 9 ml d'eau physiologique stérile et ainsi de suite jusqu'à la dilution 10^{-8} . 0,1ml a été prélevé à partir de chaque

dilution, en opérant de la dilution 10^{-8} à la dilution 10^{-1} , et ensemencé sur de l'agar nutritif (Annexe 1) à l'aide d'une pipette coudée stérile. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 28°C pendant 3 jours. Les colonies bactériennes ont été comptées et le nombre d'unités de formation de colonies (UFC) par ml a été déterminée suivant la formule (Rapilly, 1968) :

$$N = \frac{\Sigma \text{colonies} \times Fd1}{Vml \times (n1 + 0,1n2)}$$

N : Nombre d'UFC/mL ; **Σ colonies** : Somme des colonies des boîtes interprétables ; **V** : Volume de solution déposée (0,1ml) ; **n1** : Nombre de boîtes considéré à la première dilution retenue ; **n2** : Nombre de boîtes considéré à la seconde dilution retenue ; **Fd1** : Facteur de la première dilution retenue

Le comptage des colonies a permis de déterminer la concentration moyenne des inocula de $1,7 \times 10^8$ UFC / ml.

b) Préparation des inocula fongiques

Les pastilles mycéliennes utilisées pour l'inoculation des plantes ont été prélevées à la périphérie de moisissures âgées de 4 à 7 jours sur PDA. Pour l'obtention des zoospores, les isolats ont été cultivés pendant 7 jours sous lumière diffuse naturelle, à température ambiante, sur milieu nutritif gélosé ; les moisissures ont ensuite été couvertes d'eau distillée stérile pendant 3 jours avant d'être placées à 4°C pendant 1 heure afin que les sporocystes libèrent de grandes quantités de zoospores (Allagui & Lepoivre, 1996).

Le nombre de zoospores a été ajusté pour obtenir une concentration de 10^8 spores/ml pour chaque inoculum fongique par comptage en boîtes de Pétri tel que décrit par Rapilly (1968).

2.4.3.4. Désinfection et semis des rhizomes

La mise en culture des rhizomes a suivi au préalable le protocole de désinfection des rhizomes qui a consisté à éliminer les impuretés sur les semences par lavage des rhizomes à l'eau du robinet à deux reprises, l'immersion des rhizomes dans l'hypochlorite de sodium (0,5%) dilué pendant 5 min, ensuite le rinçage à deux reprises par l'eau distillée stérile, enfin par l'immersion dans l'éthanol à 70° pendant 1 min, et un rinçage à deux reprises à l'aide d'eau distillée stérile (Sarangthem & Momota, 2012).

Après désinfection, les rhizomes ont été semés à 20 cm de profondeur chacun. Chaque pot comportait 2 rhizomes distants de 2 cm.

2.4.3.5. Inoculation des isolats microbiens et conduite de la culture

L'urée et Myco F ont été apportés en doses de 3 et 5g/poquet respectivement. Les inocula ont été apportés en doses de 15 ml/poquet. Les doses ont été apportés à 6 semaines (stade de 2 à 3 feuilles) et à 14 semaines. Chaque pot comportait 2 plants de *Curcuma longa* pour un total de 448 plants (Annexe 4). L'ensemble de l'expérimentation a été arrosé 2 fois par semaine jusqu'à la fin de la phase végétative (5 mois). Puis, une fois par semaine jusqu'à la récolte.

2.4.3.6. Collecte de données

a) Paramètres de croissance

Au cours de cette expérimentation qui va du semis jusqu'au 8^{ème} mois, les paramètres suivants ont été évalués : le nombre de feuilles (NF) ; le diamètre au collet (DC) et la surface foliaire (SF). La mesure de ces paramètres sur les plants a été prise chaque 3 semaines à partir du premier mois après le semis jusqu'à la récolte. Après la récolte (8^e mois), la production de rhizomes de *Curcuma longa* été évaluée dans le but d'identifier les endophytes présentant un intérêt agronomique.

b) Extraction et dosage de la curcumine

La curcumine est l'un des composés phénoliques responsables de la couleur jaune du *Curcuma longa* et qui absorbe la lumière à une longueur d'onde de 424 nm.

❖ Production de la poudre de *Curcuma longa*

Les rhizomes frais ont été nettoyés, lavés avec de l'eau distillée, tranchés et séchés à 80°C à l'étuve pendant 48 heures. Les rhizomes secs ont été réduits en poudre par un moulin électronique de marque BEEM (Elements of life style) (Yamawaki *et al.*, 2013).

❖ Préparation d'une gamme étalon à partir d'une solution standard de curcumine pour la spectroscopie UV visible

La curcumine (20 mg) (Annexe 4) a été pesée avec précision et transférée dans une fiole jaugée de 100 mL. Du méthanol (50 mL) a été ajouté pour obtenir une concentration de 400 µg / mL de solution mère. À partir de la solution mère des dilutions ont été effectuées tel que décrit par Prasad *et al.* (2018) suivant la formule :

$$C_m \times V_m = C_f \times V_f$$

C_m : concentration de la solution mère

V_m : volume de la solution mère

C_f : concentration de la solution fille

V_f : volume de la solution fille

Ainsi, de la solution mère, 0,025 ; 0,05 ; 0,075 ; 0,1 ; 0,125 ; 0,15 ; 0,175 ; 0,2 mL de solutions ont été prélevés et dilués à 10 mL avec du méthanol pour obtenir des concentrations de

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 µg / mL respectivement. Les densités optiques (DO) ont été lues à 424 nm (Prasad *et al.*, 2018). La courbe d'étalonnage de la curcumine a ensuite été tracée avec l'absorbance sur l'axe des y et la concentration de la curcumine sur l'axe des x.

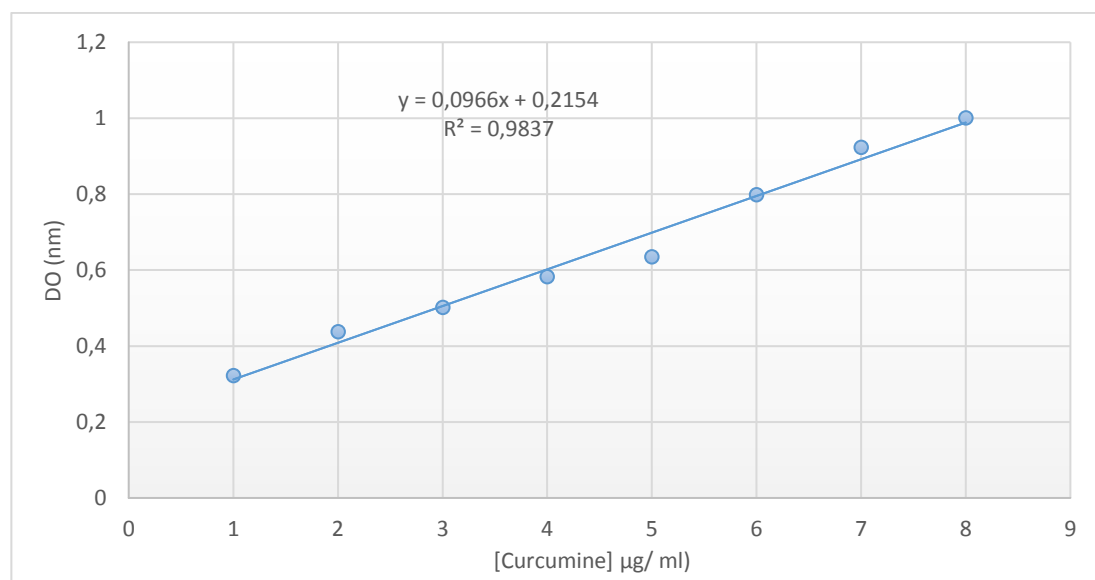


Figure 33. Courbe d'étalonnage de la curcumine

❖ Préparation de la solution d'essai pour la spectroscopie UV visible

5 mg de poudre de *Curcuma longa* a été pesé et transféré dans une fiole jaugée de 20 ml. Du méthanol a été ajouté jusqu'à la marque et la solution résultante a été utilisée pour l'analyse après 3 jours de macération sous agitation suivie d'une filtration (Annexe 4). La lecture des DO de la solution résultante a été effectuée à 424 nm.

❖ Expression des résultats

La quantité de curcumine de chaque échantillon a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de la curcumine (Figure 33) par projection des absorbances des essais sur la droite d'étalonnage.

La réponse à l'inoculation des endophytes (Pourcentage d'augmentation) pour le rendement en rhizome et la teneur en curcumine a été calculée suivant la formule suivante :

$$Augmentation = \left(\frac{\text{Valeur du traité} - \text{valeur du témoin}}{\text{valeur du témoin}} \right) \times 100$$

2.4.4. Détermination des activités antimicrobiennes des endophytes et antioxydantes des extraits de *Curcuma longa*

2.4.4.1. Préparation des extraits de rhizome de *Curcuma longa*

5 mg de poudre de *Curcuma longa* a été pesé et transféré dans une fiole jaugée de 50 ml. Du méthanol a été ajouté jusqu'à la marque et la solution résultante a été utilisée pour l'analyse après 3 jours de macération sous agitation suivie d'une filtration.

2.4.4.2. Préparation des microorganismes test

La bactérie pathogène a été mise à croître dans du nutrient broth (NB) (Annexe 1) pendant 2 à 8 heures à 37 °C, ensuite sa turbidité a été ajustée à l'aide du standard 0.5 Mc Farland pour obtenir une turbidité équivalente à 10⁸ UFC/ml (Chareprasert *et al.*, 2006).

2.4.4.3. Activités antimicrobiennes des endophytes sélectionnés

La détermination de l'antagonisme a été réalisée sur CtMA (Annexe 1) par la méthode de double culture (Fokkema, 1976). Pour tester les bactéries antagonistes, un disque de gélose mycélium de 5 mm provenant de cultures de pathogènes a été placé dans une boîte de Pétri. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 25°C pendant 24 h. Les isolats bactériens ont ensuite été striés à 2,5 cm chacun du disque pathogène dans la même boîte de Pétri. Pour tester les champignons antagonistes, un disque de gélose mycélium a été placé à 4,5 cm du disque pathogène dans la même boîte de Pétri. Les cultures appariées ont été incubées à 25°C pendant 7 jours. Des boîtes de Pétri inoculées uniquement avec des pathogènes ont servi de témoins. Le pourcentage d'inhibition de croissance (PIC) a été calculé en utilisant la formule (Korsten & De Jager, 1995) :

$$PIC (\%) = \frac{C - T}{C} \times 100$$

où C représente la distance du point d'inoculation à la marge de la colonie sur les boîtes de Pétri de contrôle et T la distance de la croissance fongique du point d'inoculation à la marge de la colonie sur les boîtes de Pétri traitées dans la direction de l'antagoniste

Le PIC a été classé sur une échelle de 0 à 4, où 0 = aucune inhibition de croissance ; 1 = 1-25% d'inhibition de croissance ; 2 = 26 à 50% d'inhibition de la croissance ; 3 = 51 à 75% d'inhibition de la croissance ; 4 = 76-100% d'inhibition de la croissance. La zone d'inhibition a été enregistrée comme la distance entre le pathogène fongique et la zone de croissance de l'antagoniste après 7 jours.

Pour le pathogène bactérien *Ralstonia solanacearum*, nous avons suivi les méthodes décrites par Grange & Davery (1990) reprise par Chen *et al.* (2013). Brièvement, 10 ml de la suspension *Ralstonia solanacearum* (10⁸ UFC/ml) ont été ajoutés dans du milieu YGPA (250 ml) (Annexe 1) pour une concentration finale de 4×10⁶ UFC/ml. Le mélange a été versé dans des boîtes de Pétri (20 ml/boîte de Pétri). 10 µl d'isolats (10⁶ UFC/ml) ont été déposés sur des disques stériles de 9 mm à l'intérieur des boîtes de Pétri YGPA contenant *Ralstonia solanacearum*. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 28°C pendant 72 heures et le diamètre du halo clair entourant le filtre a été mesuré. Les boîtes de Pétri contenant uniquement le pathogène servaient de témoins.

2.4.4.4. Activités antioxydantes du *Curcuma longa* biofertilisé

a) Dosage des thiols totaux (TT)

La détermination des teneurs en TT s'est faite selon la méthode décrite par Sedlak et Lindsay (1968). Les thiols réduits (groupements sulfhydriles-RSH) réagissent avec le DTNB (acide dinitro-2,2'-dithio-5,5-dibenzoïque) pour former quantitativement un composé de couleur jaune, dont la teneur peut être mesurée dans le domaine du visible à $\lambda = 412$ nm.

❖ Extraction

A 1 g de chaque échantillon de poudre de *Curcuma longa*, a été ajouté 10 ml de solution de tampon Tris-EDTA 0,02 M, pH 8,2. Le mélange a été agité et centrifugé à 10 000 g à 4 °C pendant 10 min. Le surnageant a été utilisé pour la détermination des teneurs en TT.

❖ Mode opératoire

2 mL du surnageant ont été prélevés et transférés dans un tube dans lequel ont été rajoutés 4 mL de tampon Tris-EDTA 0,02 M, (pH 8,2) et 0,1 mL de DTNB 0,01 M. Le DTNB en absence d'échantillon a été utilisé comme contrôle négatif et le tampon Tris-EDTA 0,02 M, pH 8,2 comme blanc. Après agitation, les tubes ont été incubés à température ambiante pendant 5 min. La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à 412 nm.

❖ Calcul et expression des résultats

Les concentrations en thiols exprimées en $\mu\text{mol/g}$ ont été calculées en utilisant le coefficient d'extinction de 13,100 selon la formule :

$$C_0 (\mu\text{mol/g}) = \frac{A}{\varepsilon} \times D$$

C_0 = concentration, A = absorbance à 412 nm, ε = coefficient d'extinction ($13,100 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), D = facteur de dilution.

b) Détermination de la teneur en glutathion réduit (GSH)

Le DTNB réagit avec les groupements thiols (-SH) du glutathion et forme un complexe de coloration jaune dont l'absorption est maximale à 412 nm (Ellman, 1959).

❖ Préparation du tampon tris-HCl (50 mM ; pH 7,4)

Pour la préparation de ce tampon, 1,21 g de tris base (NaHPO_4) et 2,79 g de chlorure de potassium (KCl) ont été dissouts dans de l'eau distillée pour un volume total de 250 mL. Le pH a été ajusté à 7,4 par ajout d'acide chlorhydrique (HCl) 11,8 N et le volume a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

❖ Préparation du tampon phosphate (0,1 M ; pH 6,5)

Le tampon phosphate a été préparé en faisant dissoudre 8,9 g de phosphate disodique hydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau distillée pour un volume total de 500 mL (solution A). 6,5

g de phosphate monosodique hydraté (NaH₂PO₄ ; H₂O) ont été dissous dans 250 mL d'eau distillée, puis le volume a été complété à 500 avec de l'eau distillée (solution B). Le pH de la solution B a été ajusté à 6,5 avec la solution A.

❖ Préparation de l'homogénat

2 ml d'acide sulfosalicylique ont été ajoutés à l'extrait méthanolique de *Curcuma longa* biofertilisé. Le mélange obtenu a été utilisé comme homogénat.

L'acide sulfosalicylique est ajouté pour son effet protecteur sur la stabilité des molécules de GSH (Stempak *et al.*, 2001) et sa capacité à éliminer les protéines des échantillons.

❖ Préparation du réactif de Ellman

Pour la préparation du réactif d'Ellman, 5 mg de DTNB ont été dissous dans du tampon phosphate (0,1 M ; pH 6,5) pour un volume final de 250 mL.

❖ Mode opératoire

Le tableau 5 présente le protocole de dosage colorimétrique du GSH.

Tableau V. Protocole de dosage du glutathion réduit

	Blanc réactif	Echantillons
Tampon Tris-HCl 50 mM, pH 7,4/ tampon Mc-Even (µL)	100	
Homogénat (µL)		100
Réactif de Ellman (µL)	1500	1500
Les tubes ont été agités et incubés pendant 60 minutes à température ambiante et les absorbances des échantillons ont été lues contre le blanc à 412 nm.		

❖ Expression des résultats

La concentration en GSH dans chaque échantillon a été déterminée par la formule

$$\text{suivante : } [\text{GSH}] (\mu\text{mol/g}) = \frac{\Delta\text{DO}}{\epsilon \times L \times m}$$

[GSH] = Concentration de GSH (µmol/g de poudre) ; ΔDO = DO essai - DO blanc ; L = Trajet optique (1 cm) ; ε = Coefficient d'extinction molaire (13,100 M⁻¹.cm⁻¹) ; m = Masse de poudre (g).

c) Détermination des teneurs en caroténoïdes (CAR)

Les caroténoïdes sont des pigments dont la couleur résulte de la présence dans leur structure d'une séquence multiple de doubles liaisons qui absorbent la lumière entre 440 et 490 nm. Ils ont été déterminés suivant la méthode de Kimura & Rodriguez-Amaya (2004).

❖ Extraction à l'acétone

Environ 0,5 g d'échantillon a été homogénéisé à 3 mL d'acétone froide pendant 1 min et filtré, l'opération a été répétée jusqu'à ce que l'acétone ne soit plus colorée.

❖ Partition à l'éther de pétrole

10 mL d'éther de pétrole ont été introduits dans l'ampoule à décanter de 500 mL avec un robinet en téflon ensuite les extraits acétoniques y ont été ajoutés. Puis 75 mL d'eau distillée ont été ajoutés lentement en laissant couler le long des parois de l'entonnoir (pour éviter la formation d'une émulsion, si une émulsion se forme, ajouter une solution saturée de chlorure de sodium).

Les deux phases ont été séparées et la phase aqueuse inférieure a été jetée. Le surnageant a été lavé 3-4 fois avec de l'eau distillée (50 mL à chaque fois) pour éliminer l'acétone. La phase éther de pétrole (surnageant) a été recueillie dans une fiole jaugée de 25 mL en transférant la solution dans un petit entonnoir contenant du sulfate de sodium anhydre (3 g) pour éliminer l'eau résiduelle. Le volume a été ajusté jusqu'au trait de jauge avec de l'éther de pétrole

❖ Lecture spectrophotométrique et calcul

L'absorbance a été lue à 450 nm. Les valeurs de DO doivent être comprises entre 0,2 et 0,8. La teneur en CAR totaux est donnée par la formule :

$$\text{Caroténoïdes totaux } (\mu\text{g/g}) = \frac{A_{450} \times V \times 10^4}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times M}$$

Avec A_{450} = Absorbance à 450 nm ; V = volume en mL ; $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coefficient d'absorption des caroténoïdes totaux dans l'éther de pétrole (2500) ; M = masse de l'échantillon.

La réponse à l'inoculation des endophytes (Pourcentage d'augmentation) pour les teneurs glutathion, caroténoïdes et thiols totaux a été calculée suivant la formule donnée au 2.4.3.6.

2.5. ANALYSES STATISTIQUES

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm écart type (ET). Les données collectées ont été analysées à l'aide du logiciel SPSS 17.0 pour l'analyse des variances (ANOVA). Le test post Hoc de Duncan à un facteur a permis de réaliser une analyse comparative des moyennes deux à deux au seuil de 5 %. Le test de corrélation de Pearson a permis de ressortir les relations possibles entre les paramètres agronomiques au seuil de 1%. Les représentations graphiques ont été obtenues à l'aide du tableur Excel 2016.

A green banner with a scroll-like effect on the left and right sides, containing the chapter title.

CHAPITRE 3

RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1. RÉSULTATS

3.1.1. Caractéristiques du substrat adapté pour la production de *Curcuma longa*

3.1.1.1. Propriétés physico-chimiques des sols provenant des 5 zones agroécologiques du Cameroun

a) Couleur des sols

L'évaluation de la couleur des sols a révélé une diversité de couleurs à partir des sols des 5 zones agroécologiques (Figure 34). Dans la zone I on a obtenu un sol de couleur brun pâle (10YR 6/3) ; dans les zones II, III et V des sols de couleur rouge (10R 4/8) et dans la zone IV un sol de couleur brun jaune (10YR 5/6).

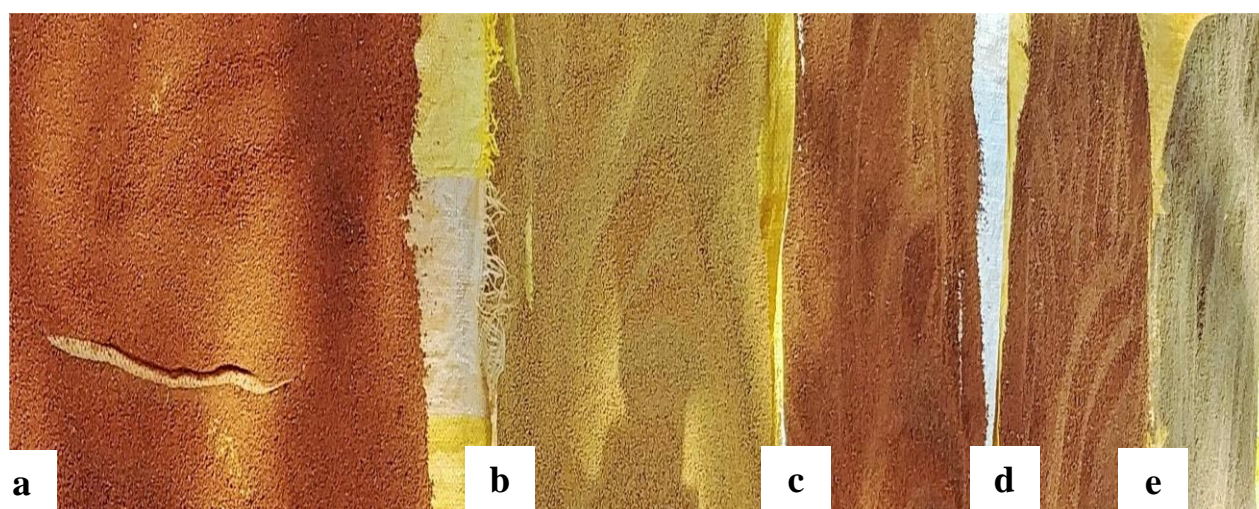


Figure 34. Couleurs des sols provenant des cinq zones agroécologiques du Cameroun (Cliché SONTSA-DONHOUNG, 2019).

Légende : (a) Sol de Nkometou (zone V) (b) Sol de Douala (zone IV) (c) Sol de Dschang (zone III) (d) Sol de Bini (zone II) (e) Sol de Djarengol (zone I)

b) Granulométrie et texture des sols

L'analyse granulométrique des sols a montré la présence de sable, argile et limon à différentes proportions. Le tableau VI révèle que les sols des zones agroécologiques I et II sont riches en particules fines (pourcentage d'argiles et limons $\geq 73\%$) et ceux des zones agroécologiques III, IV et V sont dominés par les sables (pourcentage de sables $\geq 50\%$). La figure 35 montre que les sols des zones I et II ont une texture argileuse ; ceux des zones III et IV, une texture limono-argilo-sableuse et ceux de la zone V, des textures argilo-sableuse (sols de Bertoua et Nkometou) et limono-argilo-sableuse (sol d'Ebolowa).

Tableau VI. Composition granulométrique et texture des sols des 5 zones agroécologiques du Cameroun.

Zones agroécologiques	Localités (Région)	Granulométrie (%)			Texture des sols
		Sable	Limons	Argile	
Zone I	Djarengol (Extrême Nord)	24,96	29,35	45,69	Argileuse
	Toubooro (Nord)	24,96	17,35	57,69	Argileuse
Zone II	Bini (Adamaoua)	26,96	17,35	55,69	Argileuse
Zone III	Dschang (Ouest)	56,89	9,42	33,69	Limono-argilo-sableuse
Zone IV	Douala (Littoral)	60,96	3,35	35,69	Limono-argilo-sableuse
Zone V	Bertoua (Est)	50,96	11,35	37,69	argilo-sableuse
	Ebolowa (Sud)	60,89	9,42	29,69	Limono-argilo-sableuse
	Nkometou (Centre)	50,96	5,35	43,69	argilo-sableuse

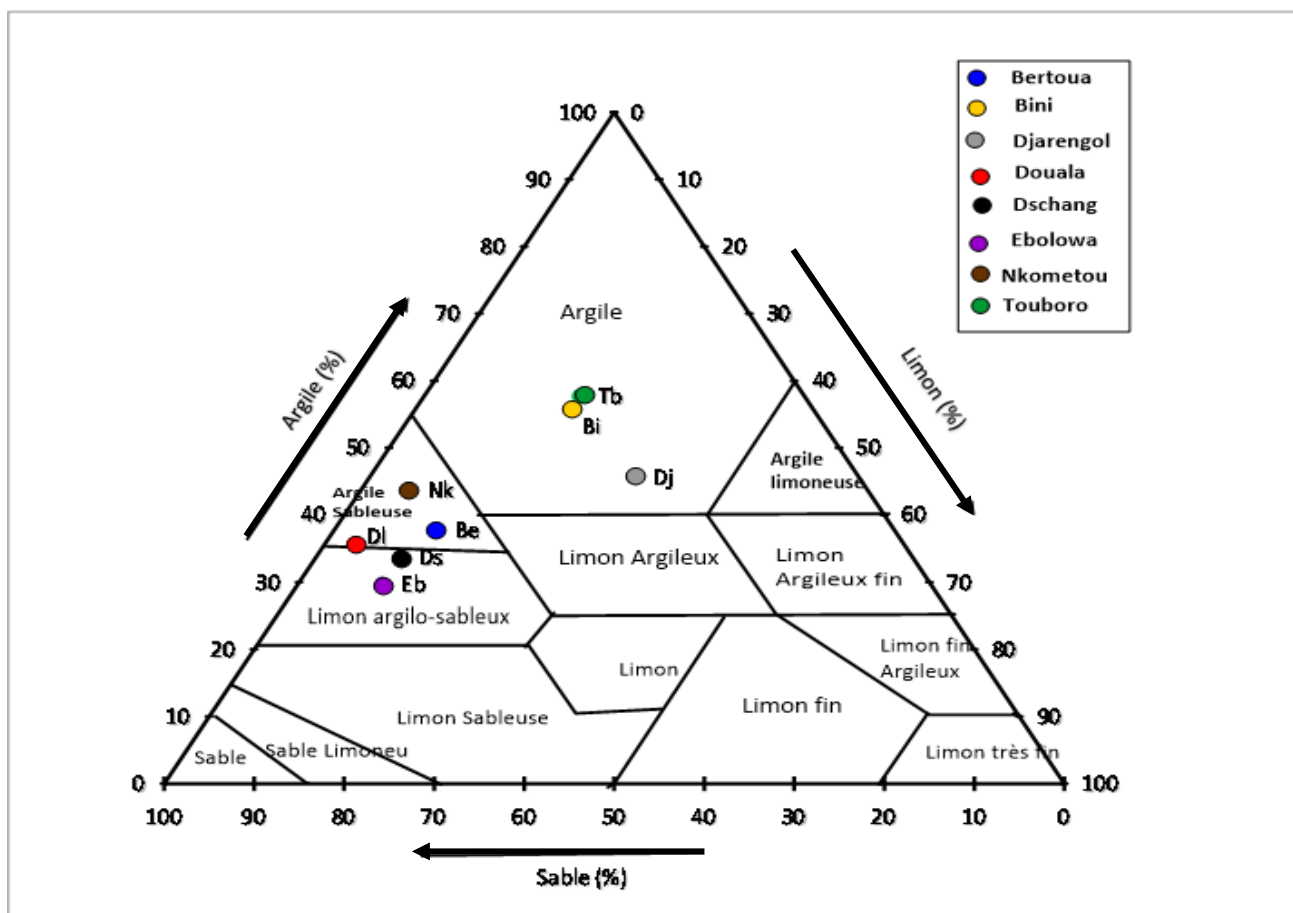


Figure 35. Classification des sols provenant des cinq zones agroécologiques du Cameroun dans le triangle des textures USDA.

c) Propriétés chimiques des sols

Les résultats montrent que l'acidité varie d'un sol à un autre. D'après le mémento de l'agronome (1993) (Annexe 5), les sols de la zone agroécologique I sont neutres ; celui de la zone II est fortement acide ; le sol de la zone III est neutre ; celui de la zone IV est faiblement acide et les sols de la zone V sont extrêmement (sol d'Ebolowa avec pH 4.16), très fortement (sol de Nkometou avec pH 4,92) et fortement (sol de Bertoua avec pH 5,4) acides.

Les teneurs en azote total (N) varient entre 0,49 g/kg (zone I) et 2,41 g/kg (zone V). La quantité d'N dans le sol de la zone I (sol de Nkometou) est 4,8 fois (environ 5 fois) plus élevée que celle de la zone V (sol de Touboro). D'après Euroconsult (1989), les sols de la zone agroécologique I ont des teneurs en N très faible (sol de Touboro) et faible (sol du Djarengol) ; ceux des zones II, III et IV ont de faibles teneurs et les sols de la zone V ont des teneurs : faibles (sol d'Ebolowa) ; moyennes (sol de Bertoua) et élevées (sol de Nkometou).

Les teneurs en carbone organique totale (CO) de ces sols varient entre 6,10 g/kg (Zone I) et 25,70 g/kg (Zone V). D'après Dabin (1985), les sols des zones agroécologiques V ont une teneur moyenne en carbone. Les teneurs en matière organique suivent la même tendance que celles du carbone.

La teneur en phosphore assimilable est plus faible dans la zone agroécologique III et plus élevée dans la zone I. Suivant la norme Euroconsult (1989) cette teneur est très faible pour les sols des zones III, IV et V ; faible pour le sol de la zone II et dans la zone I faible pour le sol de Touboro et moyenne pour le sol du Djarengol.

Le rapport C/N de ces sols inférieurs à 15 indique une bonne minéralisation de la matière organique. Seul un sol de la zone agroécologique V (sol d'Ebolowa) a un rapport C/N de 19,83 indiquant une mauvaise décomposition de la matière organique.

Tableau VII. Propriétés chimiques des sols des 5 zones agroécologiques du Cameroun.

Zones agroécologiques	Localités (Région)	Propriétés chimiques					
		N (g/kg)	P (ppm)	C (g/kg)	pH	MO (g/kg)	C/N
Zone I	Djarengol (Extrême Nord)	0,56	16,10	6,10	6,60	10,55	10,90
	Touboro (Nord)	0,49	13,80	7,30	6,62	12,63	14,90
Zone II	Bini (Adamaoua)	0,98	8,90	7,50	5,50	12,98	7,70
Zone III	Dschang (Ouest)	1,13	2,57	9,60	6,60	16,61	8,50
Zone IV	Douala (Littoral)	1,24	4,60	7,50	6,45	12,97	6,10
Zone V	Bertoua (Est)	1,40	5,30	15,30	5,40	26,47	10,93
	Ebolowa (Sud)	1,19	5,16	23,60	4,16	40,83	19,83
	Nkometou (Centre)	2,41	6,04	25,70	4,92	44,46	10,70

3.1.1.2. Propriétés biologiques des sols

La sporulation des CMA, les morphotypes et la colonisation racinaire des sols ont été évalués (Tableau VIII). Au total 105 endophytes ont été isolés des racines de *Curcuma longa*. Il a été noté que le nombre d'endophytes était plus élevé pour les racines provenant des sols des zones agroécologiques V (sol de Bertoua) suivis de la zone I. Ceux-ci étaient inférieurs pour celles provenant du sol de la zone agroécologique I.

La sporulation a été déterminée à T *in situ*. Les résultats obtenus montrent que le plus grand nombre de spores a été observé pour un sol de la zone agroécologique I (sol de Djarengol) avec 67 spores/g de sol.

En ce qui concerne la colonisation racinaire, les plants des substrats des zones agroécologiques II (sol de Bini) et III (sol de Dschang) possèdent les pourcentages les plus élevés de colonisation avec respectivement 72 et 78% (Tableau VIII).

Tableau VIII. Endophytes isolés, sporulation des CMA et colonisation racinaire des sols des 5 zones agroécologiques

Zones agroécologiques	Localités (Région)	Endophytes isolés	Sporulation des CMA <i>in situ</i> (Spores/g sol)	Colonisation racinaire (%)
Zone I	Djarengol (Extrême Nord)	14	67±0,03 ^h	47±0,17 ^a
	Touboro (Nord)	14	32±0,06 ^d	55±0,00 ^c
Zone II	Bini (Adamaoua)	8	41±0,09 ^f	72±0,14 ^g
Zone III	Dschang (Ouest)	13	28±0,09 ^c	78±0,17 ^h
Zone IV	Douala (Littoral)	13	24±0,04 ^b	60±0,00 ^e
Zone V	Bertoua (Est)	19	36±0,06 ^e	57±0,14 ^d
	Ebolowa (Sud)	13	4±0,03 ^a	63±0,14 ^f
	Nkometou (Centre)	11	44±0,03 ^g	50±0,00 ^b

Les moyennes suivies de la même lettre alphabétique et dans la même colonne ne sont pas significativement différentes les uns des autres au seuil de 5% selon le test de Duncan.

Le tableau IX présente les caractéristiques des morphotypes de CMA extraits de la rhizosphère de *Curcuma Longa*. Au total, 7 morphotypes de CMA ont été observés parmi les spores isolées des échantillons de sol collectés. Dans la zone agroécologique I, 6 morphotypes ont été observés dont 3 pour le sol du Djarengol (I ; II ; III) et 3 pour le sol de Touboro (I ; II ; III ; IV ; V ; VI). Dans cette zone, le sol de Touboro possède 3 morphotypes (IV ; V ; VI) différents du sol du Djarengol. Le sol de la zone agroécologique II possède 6 morphotypes (I ; II ; III ; IV ; V ; VI). Les sols des zones III et IV ont 5 morphotypes (I ; II ; III ; IV ; V). Dans la zone agroécologique V, le sol d'Ebolowa a 4 morphotypes (I ; II ; III ; IV), celui de Nkometou a 6 morphotypes (I ; II ; III ; IV ; V ; VI) et celui de Bertoua possède tous les morphotypes (I ; II ; III ; IV ; V ; VI ; VII).

La zone agroécologique V est celle possédant le plus de morphotypes de CMA et le morphotype VII est spécifique à cette zone précisément au sol de Bertoua.

Tableau IX. Caractéristiques des morphotypes de CMA extraits de la rhizosphère de *Curcuma longa*.

Morphotypes de CMA	Couleur	Forme	Taille (µm)	Fréquence <i>in situ</i> (%)
I	Noir	Rond	200	100
II	Marron	Rond	200	100
III	Blanc	Ovale	100	100
IV	Brillant	Irrégulier	100	87,5
V	Jaune	Round	100	75
VI	Orange	Rond	100	50
VII	Gris	Irrégulier	48	12.5

La présence des vésicules et /ou des hyphes mycéliens caractérisent la symbiose mycorhizienne. La Figure 36 ci-dessous illustre les structures mycorhiziennes observées dans les racines du *Curcuma longa*.

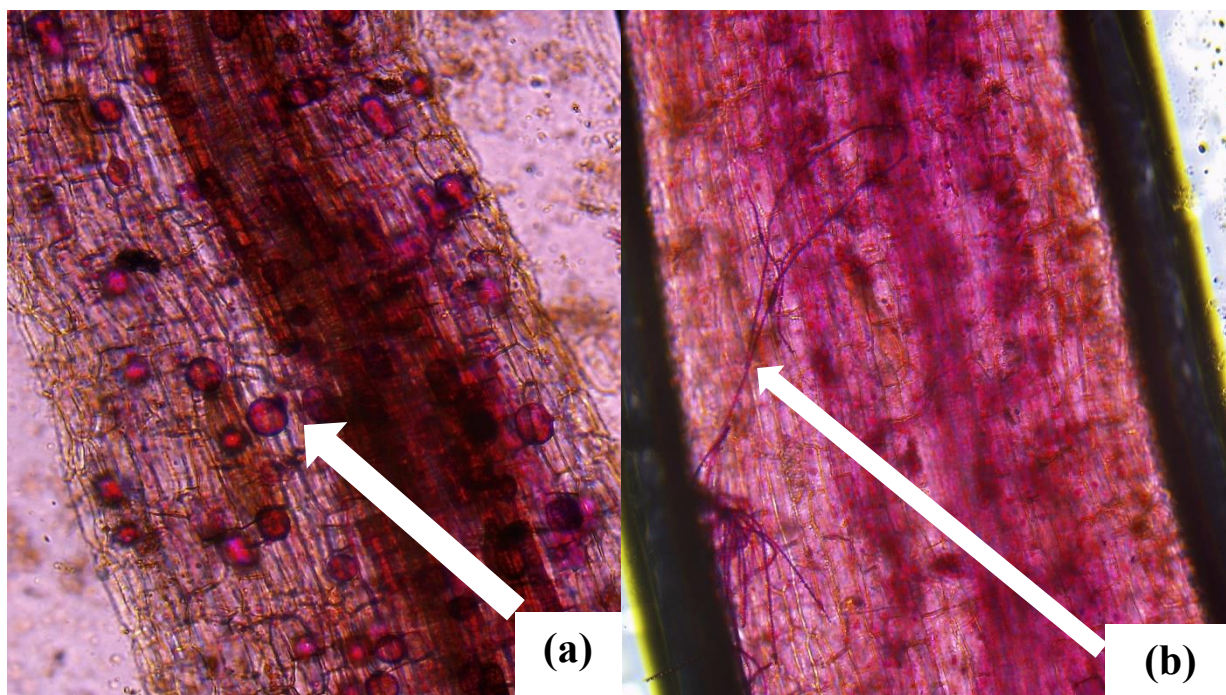


Figure 36. Colonisation racinaire des plants de *Curcuma longa* par les CMA et observation après coloration à la fuchsine acide au Grossissement G x 100. (a)Vésicules ; (b) Hyphes.

3.1.1.3. Paramètres de croissance des plants de *Curcuma longa* cultivés sur divers substrats

Les paramètres de croissance sont essentiels pour évaluer l'effet des substrats sur la production de *Curcuma longa*. Dans ce travail un accent a été mis sur le diamètre au collet ; la hauteur des plants et la biomasse des rhizomes.

a) Diamètre au collet

La figure 37 présente l'évolution du diamètre au collet des plants *Curcuma longa* en culture sur différents substrats. Il apparaît que celui-ci a augmenté de la 7^e à la 13^e semaine pour tous les substrats issus des zones agroécologiques. Durant cette même période, les substrats issus des zones I (substrat de Touboro), II et III sont ceux qui permettent d'obtenir les meilleurs diamètres au collet tandis que celui de la zone IV est celui sur lequel on observe le plus petit diamètre au collet. L'on note une réduction du diamètre au collet des plants issus de tous les substrats des zones agroécologiques entre la 13^e et la 16^e semaine à l'exception de celui de la zone I (substrat de Djarengol).

À la 16^e semaine, le diamètre au collet est plus élevé respectivement pour les plants issus des substrats des zones agroécologiques II, I (substrat de Touboro), III et plus faible pour les plants issus du substrat de la zone IV.

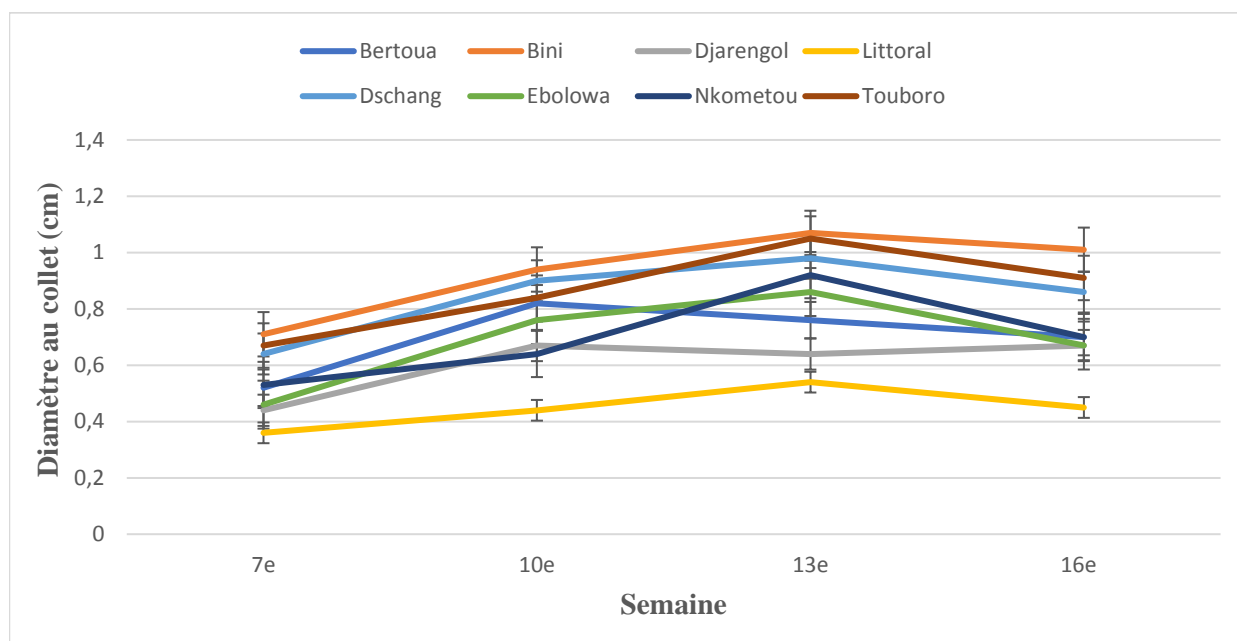


Figure 37. Variation du diamètre au collet des plants de *Curcuma longa* pendant 16 semaines sur différents substrats

b) Hauteur des plants

La figure 38 présente l'évolution de la hauteur des plants ayant poussé sur huit substrats différents. La hauteur des plants de *Curcuma longa* varie selon les semaines. Ainsi, de la 7^e à la 16^e semaine, elle est plus élevée pour les plants issus des substrats des zones agroécologiques I (substrat de Touboro), II, III et plus faible pour les plants issus des substrats des zones I (substrat de Djarengol) et IV.

À la 16^e semaine, la hauteur des plants est plus élevée respectivement pour les plants issus des substrats des zones agroécologiques I (substrat de Touboro), III, II et plus faible pour les plants issus des zones I (substrat de Djarengol) et IV.

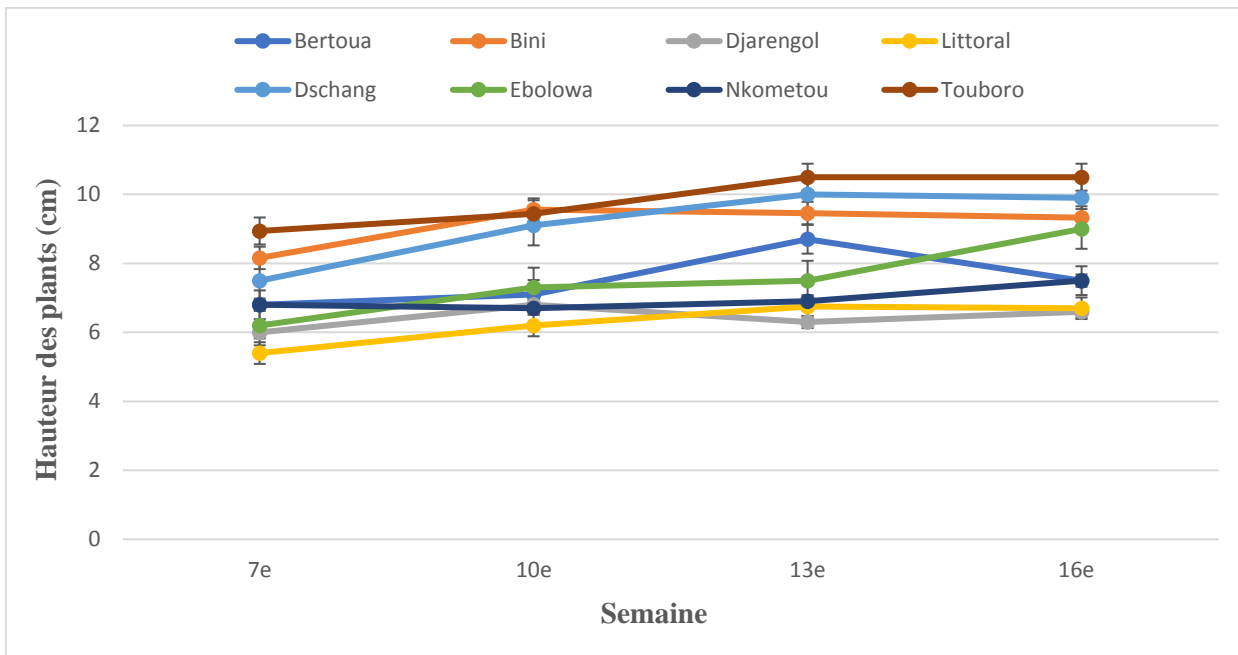


Figure 38. Variation de la hauteur des plants de *Curcuma longa* durant 16 semaines sur différents substrats

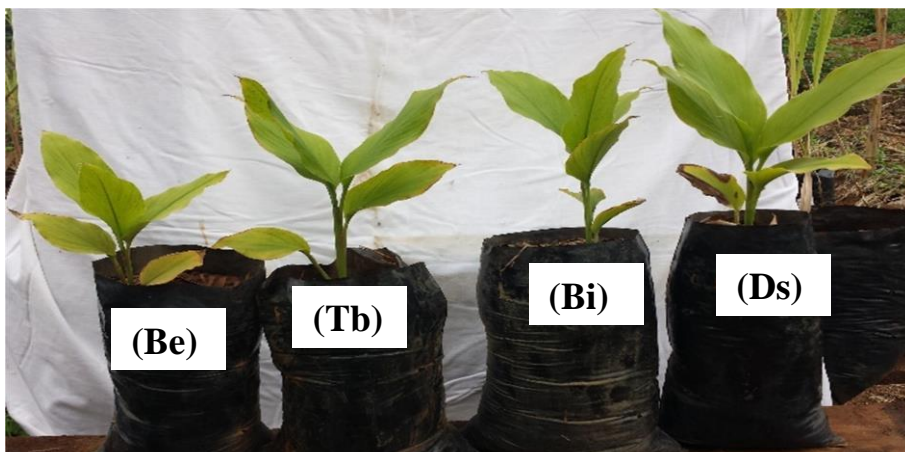


Figure 39. Comparaison de la hauteur des plants de *Curcuma longa* produits sur divers substrats après 7 mois de culture. (Be) Bertoua, (Tb) Touboro, (Bi) Bini, (Ds) Dschang

c) Production des rhizomes de *Curcuma longa*

Les rhizomes de *Curcuma longa* ont été récoltés au 7^e mois. On a noté que les substrats jouent un rôle très important pour le bon développement des plantes. La figure 40 présente la production de *Curcuma longa* en fonction des substrats après la récolte. Il apparaît clair que les rendements de production des rhizomes sont supérieurs à 10 g/plant dans les zones agroécologiques I (substrat de Touboro), II et III avec des valeurs respectives de 10,84 g/plant, 11,16 g/plant et 11,44 g/plant. Dans l'intervalle 8 à 10g/plant de production en rhizomes, seule la zone agroécologique V est représentée avec les substrats de Bertoua (9,58 g/plant) et Nkometou

(8,08 g/plant). Le substrat de Douala issu de la zone agroécologique IV est le seul possédant un rendement de production en rhizomes inférieur à 5 g/plant.

Dans la zone agroécologique I, le substrat de Touboro a eu un rendement plus élevé que celui du Djarengol. Dans la zone V le rendement en rhizomes de *Curcuma longa* était plus élevé pour le substrat de Bertoua, suivi de ceux de Nkometou et Ebolowa.

Le substrat de la zone agroécologique III a eu le meilleur rendement en rhizomes tandis que celui de la zone agroécologique IV a eu le rendement de production en rhizomes le plus faible.

Les analyses statistiques révèlent des différences significatives entre les masses des rhizomes. Les résultats montrent que le substrat issu de la zone agroécologique III est plus adapté pour la production de *Curcuma longa*.

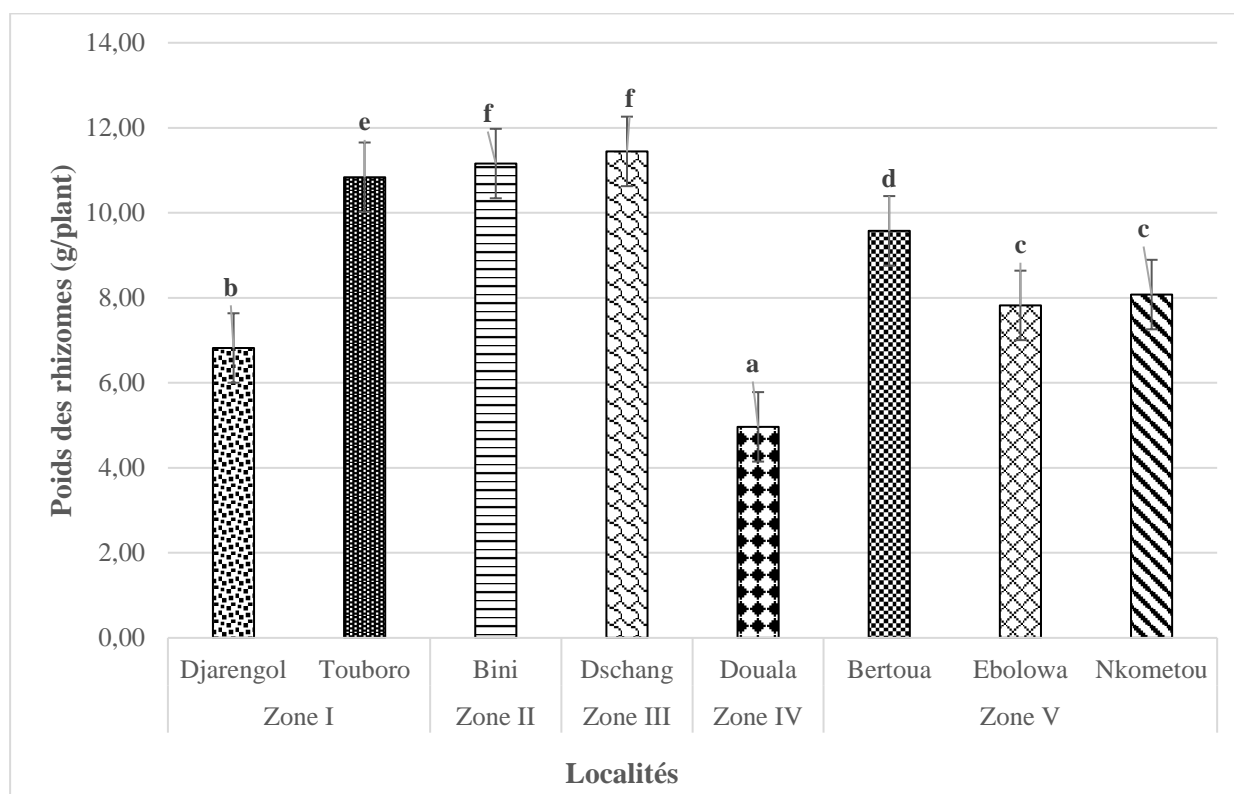


Figure 40. Rendement de production en rhizomes de *Curcuma longa* selon les substrats après 7 mois de culture (Les barres avec la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes les unes des autres au seuil de 5% selon le test de Duncan).

3.1.2. Diversité des endophytes isolés du *Curcuma longa*, sélection et caractérisation

3.1.2.1. Diversité des endophytes isolés du *Curcuma longa*

L'observation des différentes boîtes de Pétri montrent que les endophytes varient en fonction du milieu de culture et du substrat sur lequel le *Curcuma longa* a été cultivé. Au terme de l'isolement, 105 isolats ont été obtenus des substrats de piégeage dont 83 isolats bactériens et 22 isolats fongiques. Ceux-ci ont été codifiés ainsi qu'il suit :

- Les deux premières lettres représentent le nom de la plante utilisée (Cl)
- La troisième et la quatrième lettre représentent le milieu utilisé pour l'isolement (Ca ; Ce ; Ea ; Kb ; Pd ; Sg ; Gl) ;
- La cinquième et la sixième lettre représentent la localité de l'échantillon de sol utilisé (Bi ; Be ; Dj ; Dl ; Ds ; Eb ; Nk ; Tb)
- Le chiffre représente le numéro de l'isolat.

Le nombre d'endophytes est plus élevé pour la zone agroécologique V avec 43 endophytes dont 36 bactériens et 7 fongiques. Ce nombre est plus bas pour la zone agroécologique II qui n'enregistre que 8 endophytes dont 6 bactériens et 1 fongique. La zone IV n'enregistre aucun endophytes fongiques.

Les tableaux X et XI montrent que dans la zone agroécologique I, le nombre d'endophytes est le même pour les 2 substrats (14) avec plus d'endophytes bactériens issus du substrat de Djarengol (11) et plus d'endophyte fongiques issus du substrat de Touboro (4). Tandis que dans la zone V il est plus élevé pour le substrat de Bertoua (19) avec plus d'endophytes bactériens (16).

Les endophytes fongiques ClEaDj1 ; ClEaDj2, ClEaDs1 sont spécifiques aux zones I (substrat du Djarengol) et III ; tandis que, ClCaTb1, ClCaBi1, ClCaDs1 spécifiques aux zones I (substrat de Touboro), II et III ; De plus, ClCeTb1, ClCeDs1 ; ClCeDs2, ClCeBe1, ClCeNk1 sont spécifiques aux zones I (Touboro), III et V (substrats de Bertoua et Nkometou). L'endophyte bactérien ClEaEb1 est spécifique à la zone V (substrat de Bertoua).

Tableau X. Récapitulatif des endophytes bactériens isolés à partir des racines de *Curcuma longa* piégés sur divers substrats en fonction de l'origine des sols.

Zones agroécologiques	Origine du sol	Isolats	Nombre total d'isolats
I	Djarengol (Dj)	ClCaDj1 ; ClCaDj2 ; ClCeDj1 ; ClCeDj2 ; ClGIDj2 ; ClGIDj3 ; ClGIDj4 ; ClKbDj1 ; ClKbDj4 ; ClSgDj1 ; ClSgDj2	11
	Touboro (T)	ClCaTb1 ; ClCaTb2 ; ClCeTb1 ; ClCeTb2 ; ClGITb1 ; ClGITb2 ; ClGITb3 ; ClKbTb1 ; ClSgTb1 ; ClSgTb2	10
II	Bini (Bi)	ClCaBi1 ; ClCeBi1 ; ClCeBi2 ; ClGIBi1 ; ClKbBi2 ; ClSgBi1	6
III	Dschang (Ds)	ClCaDs1 ; ClCeDs1 ; ClGIDs1 ; ClKbDs1 ; ClKbDs3 ; ClSgDs2 ; ClSgDs3	7
IV	Douala (DI)	ClCaDI1 ; ClCeDI1 ; ClCeDI2 ; ClGIDI1 ; ClGIDI2 ; ClGIDI3 ; ClKbDI1 ; ClKbDI2 ; ClKbDI3 ; ClKbDI4 ; ClSgDI1 ; ClSgDI2 ; ClSgDI3	13
V	Bertoua (Be)	ClCaBe1 ; ClCaBe2 ; ClCaBe3 ; ClCeBe1 ; ClCeBe2 ; ClCeBe3 ; ClCeBe4 ; ClGIBe1 ; ClGIBe2 ; ClGIBe3 ; ClKbBe1 ; ClKbBe2 ; ClSgBe1 ; ClSgBe2 ; ClSgBe3 ; ClSgBe4	16
	Ebolowa (Eb)	ClCaEb1 ; ClEaEb1 ; ClGIEb1 ; ClGIEb2 ; ClGIEb3 ; ClKbEb1 ; ClKbEb2 ; ClKbEb3 ; ClSgEb3 ; ClSgEb4 ; ClSgEb5	11
	Nkometou (Nk)	ClCaNk1 ; ClCaNk2 ; ClCeNk1 ; ClGINk1 ; ClKbNk1 ; ClKbNk2 ; ClSgNk1 ; ClSgNk2 ; ClSgNk3	9

Légende : **Cl** : *Curcuma longa* ; **Ca** : *Curcuma* agar ; **Ce** : *Curcuma* extrait de sol agar ; **Ea** : extrait de sol agar ; **Kb** : king B ; **Pd** : poatoes dexrose agar ; **Sg** : sucrose glucose agar ; **GI** : glucose levure extrait de malt agar

Tableau XI. Récapitulatif des endophytes fongiques isolés à partir des racines de *Curcuma longa* piégés sur divers substrats en fonction de l'origine des sols.

Zones agroécologiques	Origine du sol	Isolats	Nombre total d'isolats
I	Djarengol (Dj)	ClEaDj1 ; ClEaDj2 ; ClPdDj1	3
	Touboro (T)	ClCaTb1 ; ClCeTb1 ; ClPdTb1 ; ClPdTb2	4
II	Bini (Bi)	ClCaBi1 ; ClPdBi1	2
III	Dschang (Ds)	ClCaDs1 ; ClCeDs1 ; ClCeDs2 ; ClEaDs1 ; ClPdDs1 ; ClPdDs2	6
V	Bertoua (Be)	ClCeBe1 ; ClPdBe1 ; ClPdBe2	3
	Ebolowa (Eb)	ClPdEb1 ; ClPdEb2 ;	2
	Nkometou (Nk)	ClCeNk1 ; ClPdNk1	2

Légende : **Cl** : *Curcuma longa* ; **Ca** : *Curcuma* agar ; **Ce** : *Curcuma* extrait de sol agar ; **Ea** : extrait de sol agar ; **Kb** : king B ; **Pd** : poatoes dexrose agar ; **Sg** : sucrose glucose agar ; **GI** : glucose levure extrait de malt agar

Les milieux SGA et GLM favorisent l'obtention des plus grands nombres d'endophytes bactériens notamment 20 et 18 respectivement tandis que le milieu EA permet l'obtention du plus

petit nombre soit un seul endophyte bactérien (Tableau XII). En outre, le plus grand nombre d'endophytes fongiques est obtenu sur le milieu PDA notamment (11) et les plus faibles sur les milieux CEA et CA avec trois endophytes chacun (Tableau XIII).

Tableau XII. Récapitulatif des endophytes bactériens isolés à partir des racines de *Curcuma longa* piégés sur divers substrats en fonction du milieu d'isolement.

Milieu d'isolement	Isolats	Nombre total d'isolats
Curcuma agar	ClCaBe1 ; ClCaBe2 ; ClCaBe3 ; ClCaBi1 ; ClCaEb1 ; ClCaDj1 ; ClCaDj2 ; ClCaDs1 ; ClCaDl1 ; ClCaNk1 ; ClCaNk2 ; ClCaTb1 ; ClCaTb2	13
Curcuma extrait de sol agar	ClCeBe1 ; ClCeBe2 ; ClCeBi1 ; ClCeBi2 ; ClCeDj1 ; ClCeDj2 ; ClCeDl1 ; ClCeDl2 ; ClCeDs1 ; ClCeEb1 ; ClCeEb2 ; ClCeNk1 ; ClCeTb1 ; ClCeTb2	14
Extrait de sol agar	ClEaEb1	1
Glucose-Levure-Extrait de malt agar	ClGIBe1 ; ClGIBe2 ; ClGIBe3 ; ClGIBi1 ; ClGIDj2 ; ClGIDj3 ; ClGIDj4 ; ClGIDl1 ; ClGIDl2 ; ClGIDl3 ; ClGIDs1 ; ClGIEb1 ; ClGIEb2 ; ClGIEb3 ; ClGINk1 ; ClGITb1 ; ClGITb2 ; ClGITb3	18
King-b	ClKbBe1 ; ClKbBe2 ; ClKbBi2 ; ClKbDj1 ; ClKbDj4 ; ClKbDl1 ; ClKbDl2 ; ClKbDl3 ; ClKbDl4 ; ClKbDs1 ; ClKbDs3 ; ClKbEb1 ; ClKbEb2 ; ClKbEb3 ; ClKbNk1 ; ClKbNk2 ; ClKbTb1	17
Sucrose Glucose agar	ClSgBe1 ; ClSgBe2 ; ClSgBe3 ; ClSgBe4 ; ClSgBi1 ; ClSgEb3 ; ClSgEb4 ; ClSgEb5 ; ClSgDj1 ; ClSgDj2 ; ClSgDl1 ; ClSgDl2 ; ClSgDl3 ; ClSgDs2 ; ClSgDs3 ; ClSgNk1 ; ClSgNk2 ; ClSgNk3 ; ClSgTb1 ; ClSgTb2	20

Légende : **Cl** : *Curcuma longa* ; **Ca** : *Curcuma* agar ; **Ce** : *Curcuma* extrait de sol agar ; **Ea** : extrait de sol agar ; **Kb** : king B ; **Pd** : poatoes dexrose agar ; **Sg** : sucrose glucose agar ; **Gl** : glucose levure extrait de malt agar

Tableau XIII. Récapitulatif des endophytes fongiques isolés à partir des racines de *Curcuma longa* piégés sur divers substrats en fonction du milieu d'isolement.

Milieu d'isolement	Isolats	Nombre total d'isolats
Curcuma agar	ClCaBi1 ; ClCaDs1 ; ClCaTb1	3
Curcuma extrait de sol agar	ClCeBe1 ; ClCeDs1 ; ClCeDs2 ; ClCeNk1 ; ClCeTb1	5
Extrait de sol agar	ClEaDj1 ; ClEaDj2 ; ClEaDs1	3
Potatoes Dextrose agar	ClPdBi1 ; ClPdBe1 ; ClPdBe2 ; ClPdDj1 ; ClPdDs1 ; ClPdDs2 ; ClPdEb1 ; ClPdEb2 ; ClPdNk1 ; ClPdTb1 ; ClPdTb2	11

Légende : **Cl** : *Curcuma longa* ; **Ca** : *Curcuma* agar ; **Ce** : *Curcuma* extrait de sol agar ; **Ea** : extrait de sol agar ; **Kb** : king B ; **Pd** : poatoes dexrose agar ; **Sg** : sucrose glucose agar ; **Gl** : glucose levure extrait de malt agar

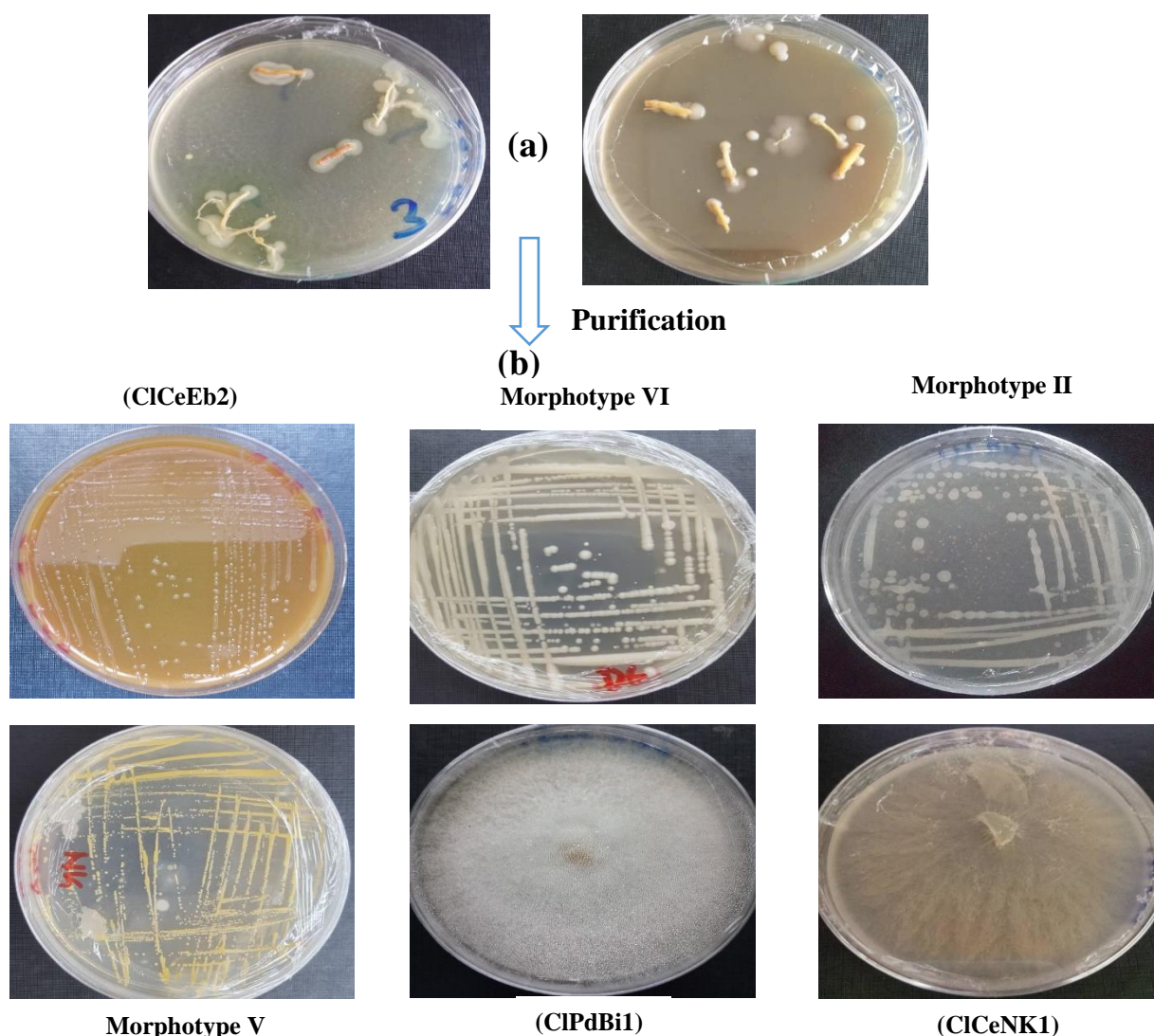


Figure 41. Endophytes bactériens et fongiques isolés des racines après piégeage du *Curcuma longa* sur 8 substrats représentatifs des zones agroécologiques (a) Endophytes isolés des racines de *Curcuma longa* ; (b) Images macroscopiques de quelques isolats purifiés.

3.1.2.2. Paramètres physiologiques et pré-sélection des endophytes

a) Paramètres physiologiques des endophytes

Les facteurs étudiés ici étaient l'acidité, les tolérances à l' Al^{3+} et celles au NaCl. Dans cette étude, les endophytes ont montré différents niveaux de tolérance aux NaCl (7,5% ; 10% et 15%), à l'acidité (pH 3, 4 et 5) et à l' Al^{3+} (50 mM ; 75 mM et 100 mM) (Tableau XIV). L'évaluation de la croissance des endophytes montre que 103 (98%) isolats sont capables de croître sur milieu gélosé additionné à 50 mM d' Al^{3+} ; 63 (60%) isolats à 75 mM et 46 (44%) isolats à 100 mM. À 7,5% de NaCl, 90 (86%) isolats croissent ; à 10 % de NaCl 67 (64%) poussent et à 15% de NaCl seulement 53 (50%) résistent. En ce qui concerne l'acidité, tous les isolats tolèrent les pH 6 et 5 ; 99 (94%) tolèrent le pH 4 et 78 (74%) le pH 3.

Tableau XIV. Sensibilité des endophytes isolés des substrats représentatifs des 5 zones agroécologiques du Cameroun aux paramètres environnementaux locaux.

Isolats	Tolérance Al ³⁺ (mM)			Tolérance NaCl (%)			Acidité			
	50	75	100	7.5	10	15	6	5	4	3
Isolats bactériens										
ClCaBe1	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+++
ClCaBe2	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCaBe3	+++	+++	+++	+++			+++	+++	+++	+++
ClCaBi1	+++						+++	+++	+++	+++
ClCaEb1	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCaDj1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCaDj2	+++						+++	+++	+++	+++
ClCaDs1	+++	+++	+++	+++			+++	+++	+++	+++
ClCaDl1	+++	+++	+++	+++			+++	+++	+++	+++
ClCaNk1	+++	+++		+++			+++	+++	+++	+++
ClCaNk2	+++	+++		+++	+++	+++	+++	+++		
ClCaTb1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCaTb2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCeBe1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCeBe2	+++	+++		+++	+++		+++	+++	+++	+++
ClCeBi1	+++	+++	+++	+++			+++	+++	+++	+++
ClCeBi2	+++			+++			+++	+++	+++	+++
ClCeDj1	+++	+++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCeDj2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
ClCeDl1	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCeDl2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
ClCeDs1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCeEb1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCeEb2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCeNk1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClCeTb1	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+++
ClCeTb2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClEaEb1	+++						+++	+++	+++	+++
ClGlBe1	+++	+++	+++	+++			+++	+++	+++	+++
ClGlBe2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClGlBe3	+++						+++	+++	+++	+++
ClGlBi1	+++						+++	+++	+++	+++
ClGlDj2	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+++
ClGlDj3	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClGlDj4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClGlDl1	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClGlDl2	+++			+++	+++		+++	+++	+++	+++
ClGlDl3	+++			+++	+++		+++	+++		
ClGlDs1	+++	+++	+++	+++			+++	+++	+++	+++
ClGlEb1	+++						+++	+++		
ClGlEb2	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+++
ClGlEb3	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClGlNk1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClGlTb1	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+++
ClGlTb2	+++						+++	+++		
ClGlTb3	+++			+++	+++		+++	+++	+++	+++
ClKbBe1	+++	+++		+++			+++	+++	+++	+++
ClKbBe2	+++						+++	+++	+++	+++

Isolats	Tolérance Al ³⁺ (mM)			Tolérance NaCl (%)			Acidité			
	50	75	100	7.5	10	15	6	5	4	3
ClKbBi2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClKbDj1	+++						+++	+++	+++	
ClKbDj4	+++			+++			+++	+++	+++	
ClKbDI1	+++			+++			+++	+++	+++	+++
ClKbDI2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClKbDI3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClKbDI4	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClKbDs1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClKbDs3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClKbEb1	+++	+++		+++			+++	+++	+++	
ClKbEb2	+++	+++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	
ClKbEb3	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+++
ClKbNk1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClKbNk2	+++						+++	+++	+++	
ClKbTb1	+++	+++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	
ClSgBe1	+++			+++			+++	+++	+++	+++
ClSgBe2	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClSgBe3	+++	+++					+++	+++	+++	+++
ClSgBe4	+++						+++	+++	+++	+++
ClSgBi1	+++	+++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClSgEb3	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClSgEb4	+++	+++					+++	+++	+++	+++
ClSgEb5	+++			+++	+++		+++	+++	+++	+++
ClSgDj1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClSgDj2	+++			+++	+++	+++	+++	+++		
ClSgDI1	+++	+++	+++	+++			+++	+++	+++	+++
ClSgDI2	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClSgDI3	+++	+++	+++				+++	+++	+++	+++
ClSgDs2	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClSgDs3	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClSgNk1	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClSgNk2	+++	+++		+++	+++	+++	+++	+++		
ClSgNk3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClSgTb1	+++			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ClSgTb2	+++	+++	+++	+++			+++	+++	+++	+++
Isolats fongiques										
ClCaBi1	+++	+++		+++				+++	+++	
ClCaDs1	+++			+++	+++			+++	+++	
ClCaTb1	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	
ClCeBe1	+++	+++	+++	+++	+++			+++	+++	
ClCeDs1	+++			+++				+++	+++	
ClCeDs2	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++
ClCeNk2	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++
ClCeTb1	+++	+++		+++	+++	+++		+++	+++	
ClEaDj1	+++			+++	+++			+++	+++	
ClEaDj2	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++
ClEaDs1	+++							+++	+++	
ClPdBi1	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++
ClPdBe1				+++				+++	+++	
ClPdBe2				+++	+++	+++		+++	+++	+++
ClPdDj1	+++	+++		+++				+++	+++	+++
ClPdDs1	+++	+++		+++				+++	+++	

Isolats	Tolérance Al ³⁺ (mM)			Tolérance NaCl (%)			Acidité		
	50	75	100	7.5	10	15	5	4	3
CIPdDs2	+++			+++			+++	+++	
CIPdEb1	+++			+++			+++	+++	
CIPdEb2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
CIPdNk1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
CIPdTb1	+++	+++		+++			+++	+++	+++
CIPdTb2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Légende : Test positif (+++); Test négatif ()

b) Pré-sélection des endophytes

Les endophytes ont été retenus sur la base de leur capacité à résister à certaines conditions de stress élevées propres aux conditions locales : l'acidité (pH 3) ; la tolérance à l'Al³⁺(100 mM) et la tolérance aux sels (15%). Vingt-six isolats dont 20 isolats bactériens et 6 isolats fongiques résistent à ces conditions et ont été pré-sélectionnés pour la détermination de leurs caractéristiques. Il s'agit des 20 isolats bactériens : ClCaTb1 ; ClCaTb2 ; ClCaDj1 ; ClCeBe1 ; ClCeDs1 ; ClCeEb1 ; ClCeEb2 ; ClCeTb2 ; ClCeNk1 ; ClGIBe2 ; ClGIDj4 ; ClGINk1 ; ClKbDs1 ; ClKbDs3 ; ClKbDI2 ; ClKbDI3 ; ClKbBi2 ; ClKbNk1 ; ClSgDj1 ; ClSgNk3 et des 6 isolats fongiques : ClCeDs2 ; ClCeNk2 ; CIPdEb2 ; ClEaDj2 ; CIPdBi1 ; CIPdTb2.

3.1.2.3. Caractéristiques des endophytes pré-sélectionnés

a) Propriétés macroscopiques, microscopiques

❖ Endophytes bactériens pré-sélectionnés

La description macroscopique (morphologique et culturale) des endophytes bactériens obtenus nous a permis de les classer en 7 morphotypes. Le morphotype I est constitué des isolats : ClCaTb1 (bacille Gram-) ; ClCaTb2 (Cocci Gram-); ClCaDj1 (Cocci Gram-); ClCeEb2 (Coccobacille Gram-); ClCeNk1 (Cocci Gram-). Ils sont de forme circulaire, à texture lisse, de bordure régulière, de couleur jaune clair et de petite taille ; Le morphotype II est constitué des isolats ClCeBe1 (Cocci Gram+); ClCeDs1 (bacille Gram+); ClCeEb1(bacille Gram-) ; ils sont de forme circulaire, à texture lisse, de bordure régulière, de couleur jaune clair et de moyenne taille. Le morphotype III est composé de l'isolat ClCeTb2 (Cocci Gram-). Il est de forme irrégulière, à texture lisse, de bordure lobée, de couleur jaune clair et de grande taille. Le morphotype IV est constitué des isolats ClGIBe2 (Cocci Gram+), ClGIDj4 (bacille Gram-); ClGINk1 (Cocci Gram-) ; ils sont de forme circulaire, à texture lisse, de bordure régulière, de couleur crème et de petite taille. Le morphotype V est constitué des isolats ClKbDs1 (bacille Gram-) ClKbDI2 (Cocci Gram+); ClKbNk1 (Cocci Gram-) ; ils sont de forme irrégulière, à texture lisse, de bordure ondulée, de couleur jaune et de petite taille. Le morphotype VI est constitué des isolats ClKbDs3 (Cocci Gram-), ClKbDI3 (Cocci Gram+); ClKbBi2 (Cocci Gram-

); ils sont de forme circulaire, à texture lisse, de bordure régulière, de couleur blanche crème et de moyenne taille. Le morphotype VII est constitué des isolats ClSgDj1 (Cocci Gram-), ClSgNK3 (Cocci Gram+) ; ils sont de forme circulaire, à texture lisse, de bordure régulière, de couleur blanche et de moyenne taille (Tableaux XV et XVIII).

Tableau XV. Description macroscopique des endophytes bactériens pré-sélectionnés.

Caractéristiques	Description						
	Circulaire	Circulaire	Irrégulière	Circulaire	Filamenteuse	Circulaire	Circulaire
Vitesse de croissance	24h	24h	24h	48h	24h	24h	24h
Texture	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse
Bord	Régulier	Régulier	Lobé	Régulier	Ondulé	Régulier	Régulier
Couleur	Jaune claire	Jaune claire	Jaune claire	Crème	Jaune	Blanc crème	Blanche
Taille des colonies (mm)	Petite (< 2)	Moyenne (2 – 3)	Grande (4-5)	Petite (< 2)	Petite (< 2)	Moyenne (2 – 3)	Moyenne (2 – 3)
Isolats	ClCaTb1 ClCaTb2 ClCaDj1 ClCeEb2 ClCeNk1	ClCeBe1 ClCeDs1 ClCeEb1	ClCeTb2	ClGIBe2 ClGIDj4 ClGINk1	ClKbDs1 ClKbDI2 ClKbNk1	ClKbDs3 ClKbDI3 ClKbBi2	ClSgDj1 ClSgNk3
Morphotypes	I	II	III	IV	V	VI	VII

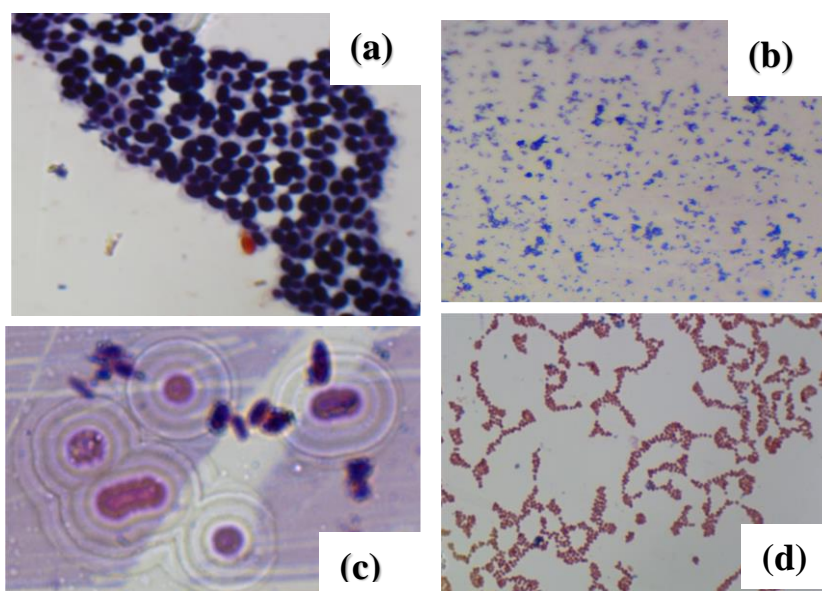


Figure 42. Aspects microscopiques de quelques isolats de bactéries endophytes des racines de *Curcuma longa* après coloration de Gram et observation au grossissement G x 1000 à huile à immersion. (a) (b) Cocci en amas Gram+ ; (c) Coccobacilles Gram- ; (d) Cocci en amas et chainettes Gram-

❖ Endophytes fongiques pré-sélectionnés

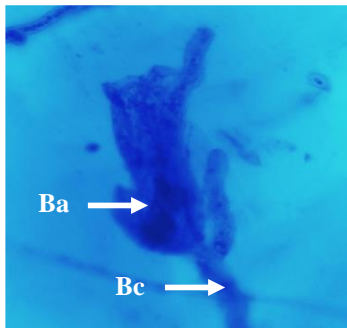
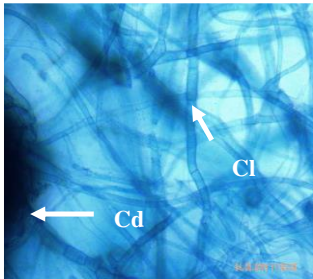
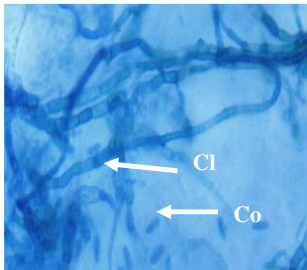
Les caractéristiques morphologiques des endophytes fongiques montrent qu'ils sont différents les uns des autres (Tableau XVI). Sur cette base, on a pu distinguer 6 morphotypes. Le morphotype I représenté par CIPdEb2 est de couleur blanche au centre, noir autour et brune au revers ; De densité élevée, il a un aspect velouté puis poudreux avec des filaments et une croissance régulière, des bordures lisses et une vitesse de croissance de 24 à 48h. Le morphotype II, ClCeDs2 est de couleur noirâtre puis verdâtre et brune au revers ; De densité moyenne, il a un aspect poudreux avec des filaments et une croissance irrégulière, des bordures irrégulières et une vitesse de croissance de 24 à 48h. Le morphotype III représenté par ClEaDj2 est de couleur brune et noire au revers ; De densité élevée, il a un aspect duveteux avec des filaments et une croissance régulière, des bordures lisses et une vitesse de croissance de 24 à 48h. Le morphotype IV représenté par CIPdTb2 est de couleur noire et brune au revers ; De densité élevée, il a un aspect velouté puis poudreux avec des filaments et une croissance irrégulière, des bordures irrégulières et une vitesse de croissance de 48 à 72h. Le morphotype V représenté par CIPdBi1 est de couleur blanche au centre puis noir autour et violette au revers ; De densité élevée, il a un aspect cotonneux avec des filaments et une croissance régulière, des bordures lisses et une vitesse de croissance de 48 à 72h. Le morphotype VI représenté par ClCeNk2 est de couleur blanche et violette au revers ; De densité élevée, il a un aspect cotonneux avec des filaments et une croissance irrégulière, des bordures irrégulières et une vitesse de croissance de 24 à 48h.

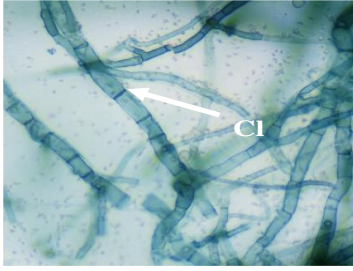
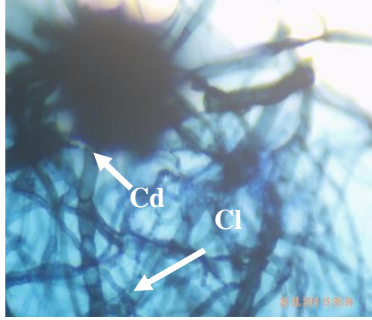
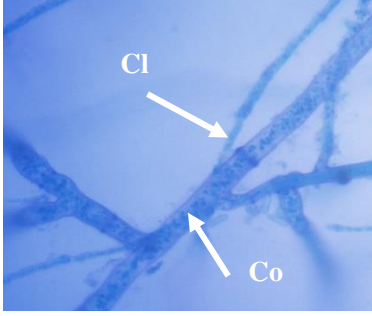
Tableau XVI. Caractéristiques morphoculturelles des endophytes fongiques pré-sélectionnés.

Caractéristique	Description					
Couleur face et revers	Blanche au centre, noir autour et brune au revers	Noirâtre puis verdâtre et brune au revers	Blanche et violette au revers	Brune et noir au revers	Noire et brune au revers	Blanche au centre puis noir autour et violette au revers
Densité	Elevée	Moyenne	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée
Aspect	Velouté puis Poudreux avec des filaments et une croissance régulière	Poudreux avec des filaments et une croissance irrégulière	Cotonneux avec des filaments et une croissance irrégulière	Duveteux avec des filaments et une croissance régulière	Velouté puis Poudreux avec des filaments et une croissance irrégulière	Cotonneux avec des filaments et une croissance régulière
Bordure	Lisse	Irrégulière	Irrégulière	Lisse	Irrégulière	Lisse
Vitesse de croissance	24-48h	24-48h	24-48h	24-48h	48-72h	48-72h
Isolats	CIPdEb2	ClCeDs2	ClCeNk2	ClEaDj2	CIPdTb2	CIPdBi1

La description microscopique quant à elle a révélé que l'isolat CIPdEb2 a des hyphes colorés septés de diamètre élevé avec une présence de basidiocarpes et de spores sexuées (basidiospores) ; l'isolat ClCeDs2 a des hyphes transparents septés de diamètre moyen avec des conidiophores et conidies ; l'isolat ClCeNk2 a des hyphes colorés septés de diamètre moyen avec une présence de coconidies ; l'isolat ClEaDj2 a des hyphes transparents septés de diamètre moyen avec une présence de conidiophores et conidies ; L'isolat CIPdTb2 a des hyphes colorés septés de petit diamètre avec des conidiophores et conidies et l'isolat CIPdBi1 a des hyphes colorés septés de diamètre moyen avec des macros et microconidies.

Tableau XVII. Descriptions microscopiques des endophytes fongiques pré-sélectionnés après coloration au bleu de méthylène et observation au grossissement G x 400.

Isolats	Description	Structure microscopique
CIPdEb2	Hyphes colorés septés Diamètre mycélium : élevé Présence de basidiocarpes et de spores sexuées (basidiospores)	
ClCeDs2	Hyphes colorés septés Diamètre mycélium : moyen Présence de conidiophores et conidies	
ClCeNk2	Hyphes colorés septés Diamètre mycélium : moyen Présence de conidies	

CIEaDj2	Hyphes transparentes septés Diamètre mycélium : moyen Présence de conidiophores et conidies	
CIPdTb2	Hyphes colorés septés Diamètre mycélium : élevé Présence de conidiophores et conidies	
CIPdBi1	Hyphes colorés septés Diamètre mycélium : moyen Présence de macro et microconidies	

(Ba) Basides ; (Bc) Basidiocarpes ; (Cl) Cloisons ; (Co) Conidies ; (cd) Conidiophore

b) Propriétés biochimiques

❖ Activités enzymatiques

Les endophytes ont été testés pour leur capacité à produire certaines enzymes. Les résultats montrent que la plupart des endophytes exceptés les champignons CIEaDj2 ; CIPdEb2 ; CICEnk2 et CIPdTb2 produisent une effervescence au contact de l'eau oxygénée, donc ils sont catalase positive ; 100% d'endophytes bactériens et les endophytes fongiques CIPdBi1 et CICEDs2 produisent l'uréase ; 54% produisent la protéase et 46% n'en produisent pas ; Les résultats montrent que 69% d'endophytes dégradent la cellulose par production de cellulase et seulement 38 % produisent l'amylase (Tableau XVIII).

❖ Utilisation de substrats carbonés

Les endophytes bactériens ont également été sélectionnés pour l'utilisation de différents substrats carbonés. Tous les endophytes bactériens sont capables d'assimiler le glucose et le maltose tandis que 65% assimile le sucrose (Tableau XVIII).

Tableau XVIII. Récapitulatif des caractéristiques biochimiques des endophytes pré-sélectionnés.

N°	Isolats	Gram	Activités enzymatiques					Utilisation des substrats carbonés		
			Cellulase	Protéase	Uréase	Catalase	Amylase	Glucose	Maltose	Sucrose
Isolats bactériens présélectionnés										
1	ClCaDj1	Cocci Gram- ; individualisé	+	+	+	+	+	+	+	-
2	ClCaTb1	Bacille Gram- ; individualisé	-	+	+	+	-	+	+	+
3	ClCaTb2	Cocci Gram- ; individualisé	+	-	+	+	-	+	+	+
4	ClCeBe1	Cocci Gram+ ; individualisé	+	+	+	+	-	+	+	+
5	ClCeDs1	Bacille Gram+ ; individualisé	-	-	+	+	-	+	+	+
6	ClCeEb1	Bacille Gram- ; individualisé	-	-	+	+	-	+	+	+
7	ClCeEb2	Coccobacille Gram- ; individualisé -	-	+	+	+	+	+	+	-
8	ClCeNk1	Cocci Gram- ; individualisé	+	+	+	+	+	+	+	-
9	ClCeTb2	Cocci Gram- ; en amas	+	+	+	+	-	+	+	+
10	ClGIBe2	Cocci Gram+ ; en amas et en chaînette	+	+	+	+	-	+	+	+
11	ClGIDj4	Bacille Gram- ; individualisé	-	-	+	+	-	+	+	+
12	ClGINk1	Cocci Gram- ; individualisé	-	+	+	+	+	+	+	-
13	ClKbBi2	Cocci Gram- ; individualisé	+	-	+	+	-	+	+	+
14	ClKbDI2	Cocci Gram+ ; en amas	+	-	+	+	-	+	+	+
15	ClKbDI3	Cocci Gram+ ; individualisé	+	-	+	+	-	+	+	+
16	ClKbDs1	Bacille Gram- ; individualisé	-	-	+	+	+	+	+	-
17	ClKbDs3	Cocci Gram- ; en amas et en chaînette	+	-	+	+	+	+	+	-
18	ClKbNk1	Cocci Gram- ; individualisé	-	+	+	+	-	+	+	+
19	ClSgDj1	Cocci Gram- ; individualisé	+	-	+	+	+	+	+	-
20	ClSgNk3	Cocci Gram+ ; individualisé	+	+	+	+	-	+	+	+
Isolats fongiques présélectionnés										
1	ClCeDs2		+	+	+	+	+			

2	CICeNk2		+	+	-	-	-	
3	CIEaDj2		+	-	-	-	-	
4	CIPdBi1		+	+	+	+	+	
5	CIPdEb2		+	-	-	-	-	
6	CIPdTb 2		+	+	-	-	+	

Test positif (+) ; Test négatif (-)

c) Paramètres favorisant la croissance des plantes

Le potentiel des endophytes à favoriser la croissance de plantes a été recherché et est donné dans le tableau XIX ci-après.

❖ Fixation de l'azote atmosphérique

Dans notre étude seuls les endophytes bactériens ont poussé sur milieu NFM et sur Milieu NFM additionné au NH_4Cl où la bactérie *E. coli* n'a montré aucun développement. Ceux-ci témoignent de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique.

❖ Solubilisation du phosphore

Dans cette étude, l'activité de solubilisation du phosphore pour tous les endophytes a été évaluée qualitativement sur milieu NBRIP comme source de phosphate inorganique. Pratiquement tous les isolats ont démontré leur potentiel pour solubiliser le phosphore excepté les bactéries endophytes C1CeEb2 et C1CeNk1. La présente étude révèle que les endophytes C1CaTb1 ; C1GINk1 ; C1KbNk1 et C1CeBe1 sont les bactéries potentielles favorisant la croissance des plantes avec la plus grande efficacité de solubilisation du phosphore notamment 4,25, 4,81, 4,25 et 3,5 respectivement.

❖ Production d'indole

L'intensité de coloration a permis de déterminer la production d'indole par les différents isolats. Pour le test de production d'indole, les résultats montrent la présence de la formation d'un anneau rouge à la surface des tubes, ce qui indique que les endophytes produisent de l'indole. Il a été noté que tous les endophytes ont produit de l'indole à différentes concentrations sauf C1PdTb2. Les endophytes C1CeEb1, C1CeEb2, C1CeTb2 et C1GINk1 sont ceux produisant les plus grandes quantités d'indole.

❖ Production d'ACC désaminase et d'ammoniac

Tous les endophytes produisent l'ACC désaminase sur milieu sels minimal DF (Dworkin and Foster) additionné à 0,2% de sulfate d'ammonium excepté les endophytes fongiques C1PdEb2 et C1EaDj2. Tous les endophytes produisent de l'ammoniac.

Tableau XIX. Récapitulatif des propriétés favorisant la croissance des plantes des endophytes pré-sélectionnés.

N°	Isolats	Fixation d'azote	Solubilisation du phosphore (IS)	Indole (IAA)	ACC désaminase	Production d'ammoniac
Isolats bactériens pré-sélectionnés						
1	ClCaDj1	+	+ (2,42)	++	+	+
2	ClCaTb1	+	+ (4,25)	+	+	+
3	ClCaTb2	+	+ (2,36)	+	+	+
4	ClCeBe1	+	+ (3,50)	+++	+	+
5	ClCeDs1	+	+ (2,50)	+++	+	+
6	ClCeEb1	+	+ (3,00)	++++	+	+
7	ClCeEb2	+	-	++++	+	+
8	ClCeNk1	+	-	++	+	+
9	ClCeTb2	+	+ (2,17)	++++	+	+
10	ClGIBe2	+	+ (2,67)	++	+	+
11	ClGIDj4	+	+ (2,83)	+	+	+
12	ClGINk1	+	+ (4,83)	++++	+	+
13	ClKbBi2	+	+ (2,72)	+	+	+
14	ClKbDI2	+	+ (2,53)	+++	+	+
15	ClKbDI3	+	+ (2,81)	+	+	+
16	ClKbDs1	+	+ (2,61)	+	+	+
17	ClKbDs3	+	+ (2,81)	+	+	+
18	ClKbNk1	+	+ (4,25)	+	+	+
19	ClSgDj1	+	+ (2,39)	+	+	+
20	ClSgNk3	+	+ (2,75)	+++	+	+
Isolats fongiques pré-sélectionnés						
1	ClCeDs2	-	+(1,2)	++	+	++
2	ClCeNk2	-	+(1,67)	++	+	++
3	ClEaDj2	-	+(1,15)	+	-	+
4	ClPdBi1	-	+(1,5)	++	+	++
5	ClPdEb2	-	+(1,67)	+	-	+
6	ClPdTb2	-	+(1,14)	-	+	+

Test positif (+) ; Test négatif (-) ; (++) Production moyenne ; (+++) Production élevée ; (++++) Production très élevée

d) Essais d'identification

Sur la base des caractéristiques biochimiques, les isolats d'endophytes bactériens pré-sélectionnés pourraient être assignés aux genres *Rhizobium* (α -protéobactéries) ; *Bacillus* (Firmicutes) et *Pseudomonas*. (γ -protéobactérie) (Tableau XX).

Tableau XX. Tentative d'identification des endophytes bactériens pré-sélectionnés.

Isolats pré-sélectionnés Tests Biochimiques	ClCaDj1 ; ClCeEb2 ; ClCeNk1 ; ClGINk1 ; ClKbDs3 ; ClKbDs1 ; ClSgDj1	ClCaTb2 ; ClCeTb2 ; ; ClKbBi2 ; ClKbNk1	ClCeDs1 ; ClCaTb1 ; ClCeEb1 ; ClGIDj4
Gram	-	-	+ ou -
Catalase	+	+	+
Amylase	+	-	-
Uréase	+	+	+
Glucose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Sucrose	-	+	+
Indole	+	+	+
Tolérance à 15% NaCl	+	+	+
Embranchement	Protéobactérie	Protéobactérie	Firmicute
Genres	<i>Pseudomonas.</i>	<i>Rhizobium</i>	<i>Bacillus</i>

Les isolats ClCeBe1, ClGIBe2, ClSgNk3, ClKbDI2, ClKbDI3 n'ont pas pu être assimilés à un genre.

La description microscopique des champignons a permis de les identifier comme étant des champignons supérieurs. Sur la base des clés d'identifications de Watanabe (2002 ; 2010), la présence de conidies (spores asexuées) pour cinq isolats d'endophytes fongiques pré-sélectionnés permettent de les assigner à l'embranchement des Ascomycota et pourraient être regroupés grâce à leur description macroscopique aux genres *Aspergillus* (ClPdTb2 et ClCeDs2) ; *Alternaria* (ClEaDj2) et *Furarium* (ClCeNk2 et ClPdBi). Tandis que la présence de basiocarpes et de basidiospore (spores sexuées) pour l'isolat ClPdEb2 montre qu'il appartient à l'embranchement des Basidiomycota

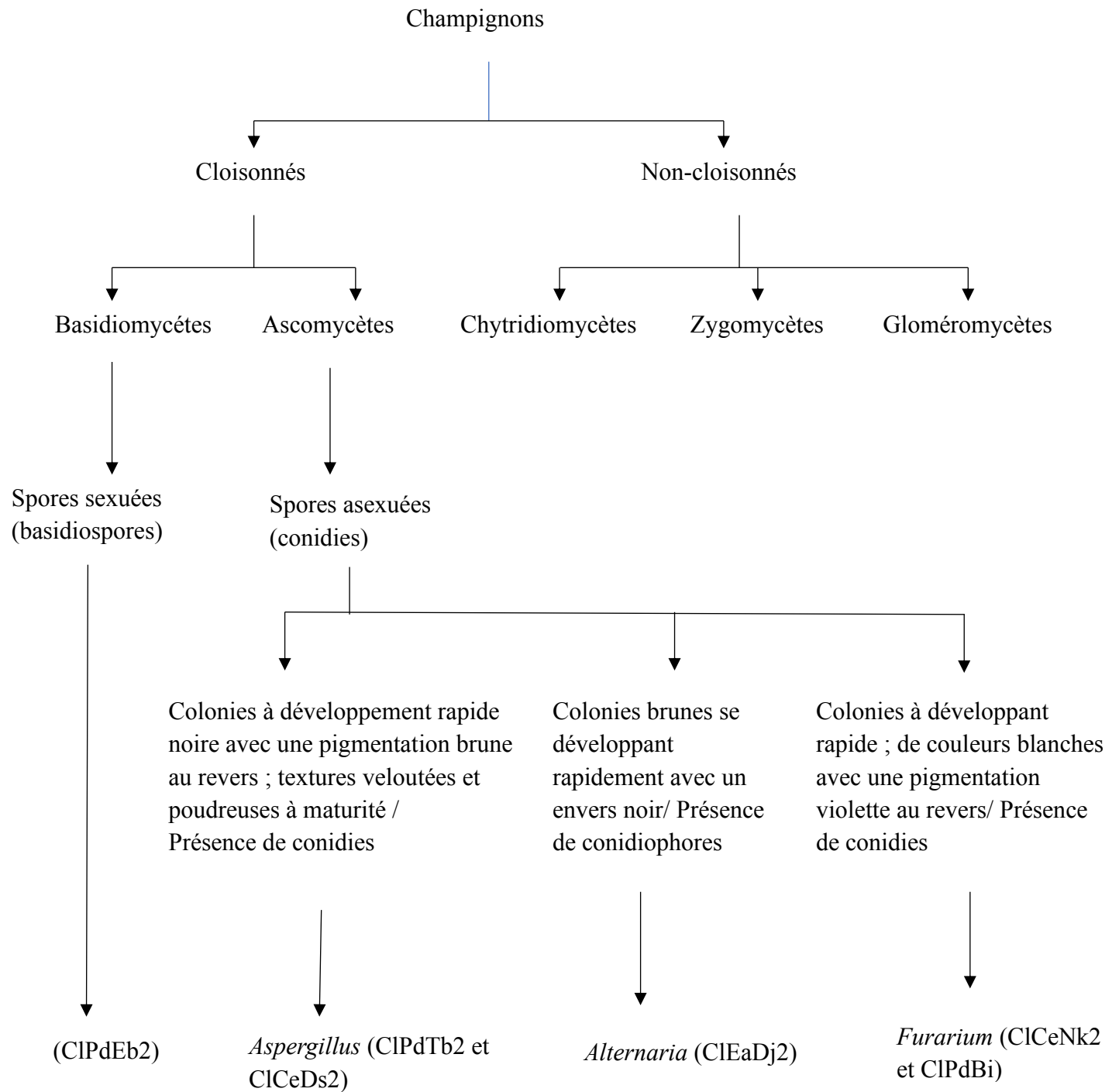


Figure 43. Schéma de l’essai d’identification des isolats fongiques des endophytes pré-sélectionnés

À partir des caractéristiques biochimiques et des paramètres favorisant la croissance des plantes, 23 isolats ont été retenus pour être testés en pots. Il s’agit des 20 isolats bactériens et des isolats fongiques CICEs2, CICeNk2 et CIPdBi1.

3.1.3. Effets des endophytes sélectionnés sur le *Curcuma longa* sur substrat stérilisé

Les propriétés physicochimiques de la terre humifère utilisée comme substrat de croissance ont été consignées dans le Tableau IV. On a pu noter après projection sur le triangle des textures que ce sol est de texture limonoargilo-sableuse. La valeur du pHe (4,5) de ce sol d'après le memento de l'agronome (1993) indique qu'il est extrêmement acide. La teneur en carbone total (2,8%) selon la norme (Dabin, 1985) est élevée. Le taux de matière organique dans ce sol est de 4,8 % obtenu en multipliant le carbone organique par 1,73. Le rapport C/N est un indicateur du niveau de décomposition de la matière organique, le C/N (27) étant supérieur à 25 traduit une mauvaise minéralisation de celle-ci. Suivant la norme (Euroconsult, 1989), les teneurs en Calcium (3,56 meq/100g) et Sodium (0,2 meq/100g) sont faibles tandis que celles de Magnésium (1,6 meq/100g) et Potassium (1,3 meq/100g) sont respectivement moyenne et très élevée. Les teneurs en azote (1 mg/kg) et Phosphore assimilable (8,66 mg/kg) sont faibles (Euroconsult, 1989). Ce sol, pauvre dans l'ensemble permettra de mettre en évidence l'effet des endophytes sur la croissance de la plante.

3.1.3.1. Influence des endophytes sélectionnés sur la croissance végétative des plants de *Curcuma longa*

Les données des paramètres de croissance (Figure 45) révèlent des différences significatives à tous les stades de croissance. On note une diminution de la surface foliaire, du nombre de feuilles et du diamètre au collet entre le 90^e et le 210^e jours de croissance pour tous les traitements. La surface foliaire maximale a été notée pour le traitement TCIPdBi1 (112 cm²) à 90 jours après le semis et à 210 jours après les semis (64 cm²), mais la surface foliaire maximale a été observée pour le traitement TCICeEb1 (69 cm²) à 210 jours. En ce qui concerne le nombre de feuilles, à 90 jours le traitement BFA (9 feuilles) possède le plus grand nombre de feuilles par plant suivi des traitements TCICeEb1, TCICeEb2, TCICeNk1, TCICeTb2, TCIGIDj4, TCiKbDI3, TCICeNK2 et MSP à raison de 8 feuilles par plant pour chacun. À 210 jours, ce sont les traitements TCIEb1 (5) ; TCiKbNk1 (5) et BFA (5) qui possédaient le plus grand nombre de feuilles. Le diamètre au collet quant à lui était meilleur à 90 jours pour les traitements TCiKbDI3 (68 cm²) et BFA (68 cm²). Cependant à 210 jours, tout comme la surface foliaire et le nombre de feuilles, c'est le traitement TCIEb1 qui détenait le plus grand diamètre au collet avec une valeur de 0,7 cm.

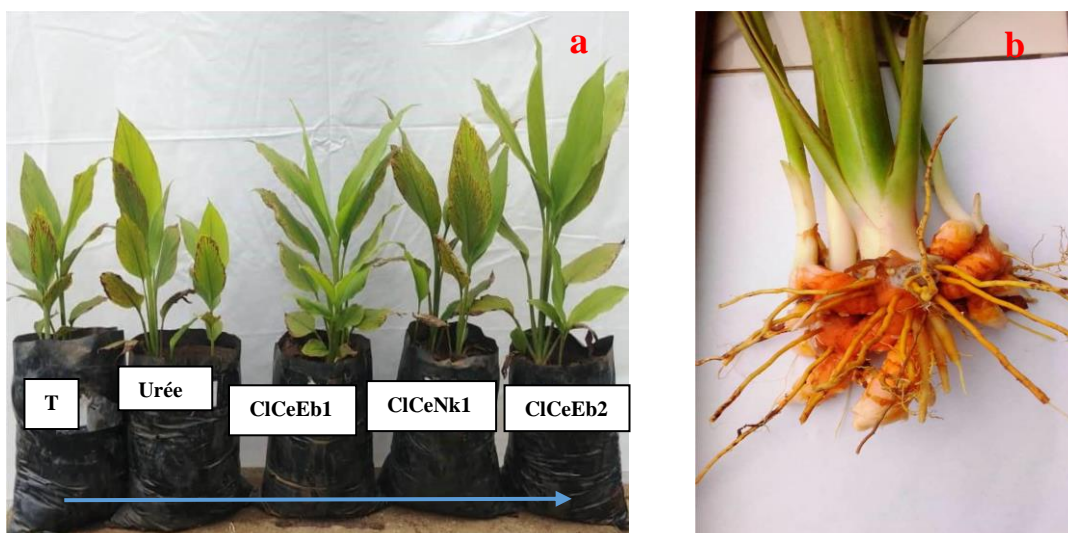
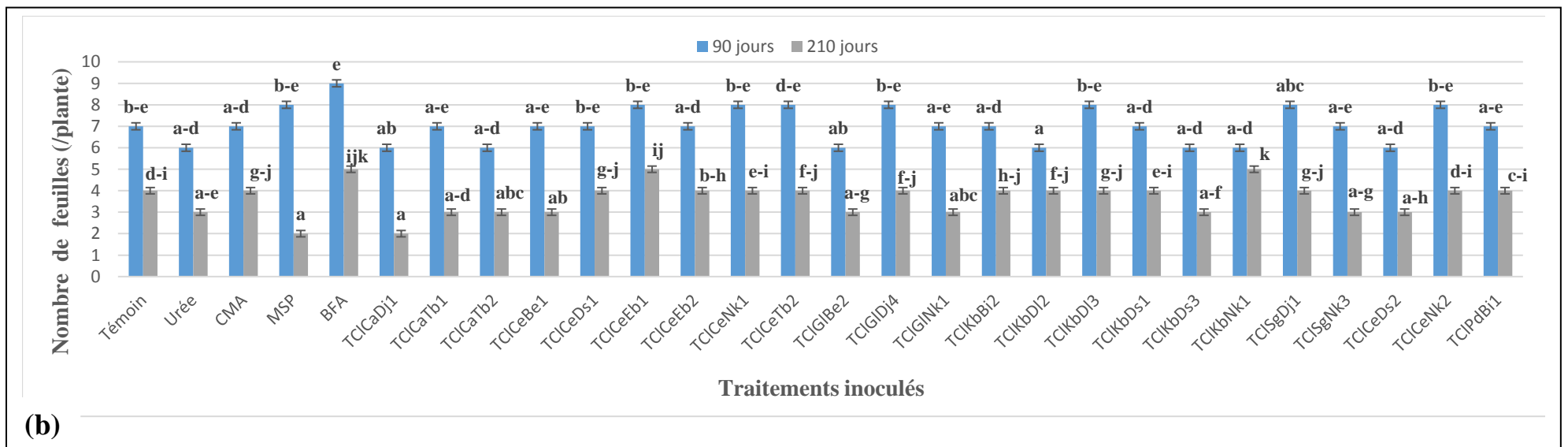
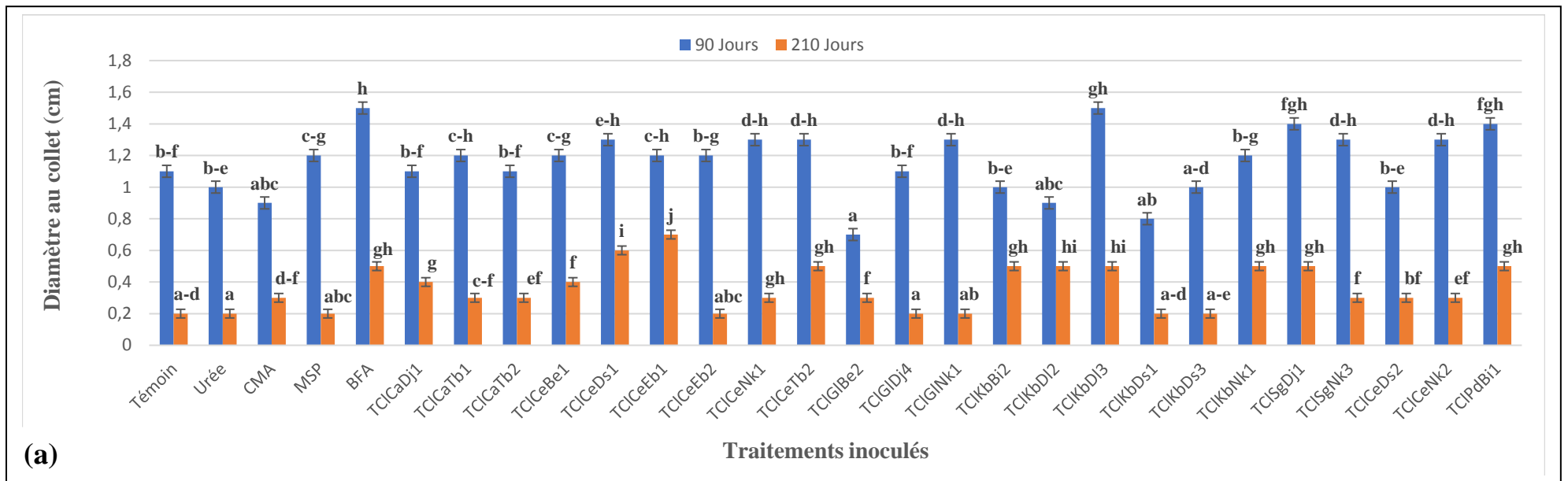


Figure 44. (a) Exemple de l'influence de quelques endophytes sélectionnés sur la croissance du *Curcuma longa* 7 mois après le semis ; (b) Rhizomes de *Curcuma longa* biofertilisés obtenus après 8 mois de culture



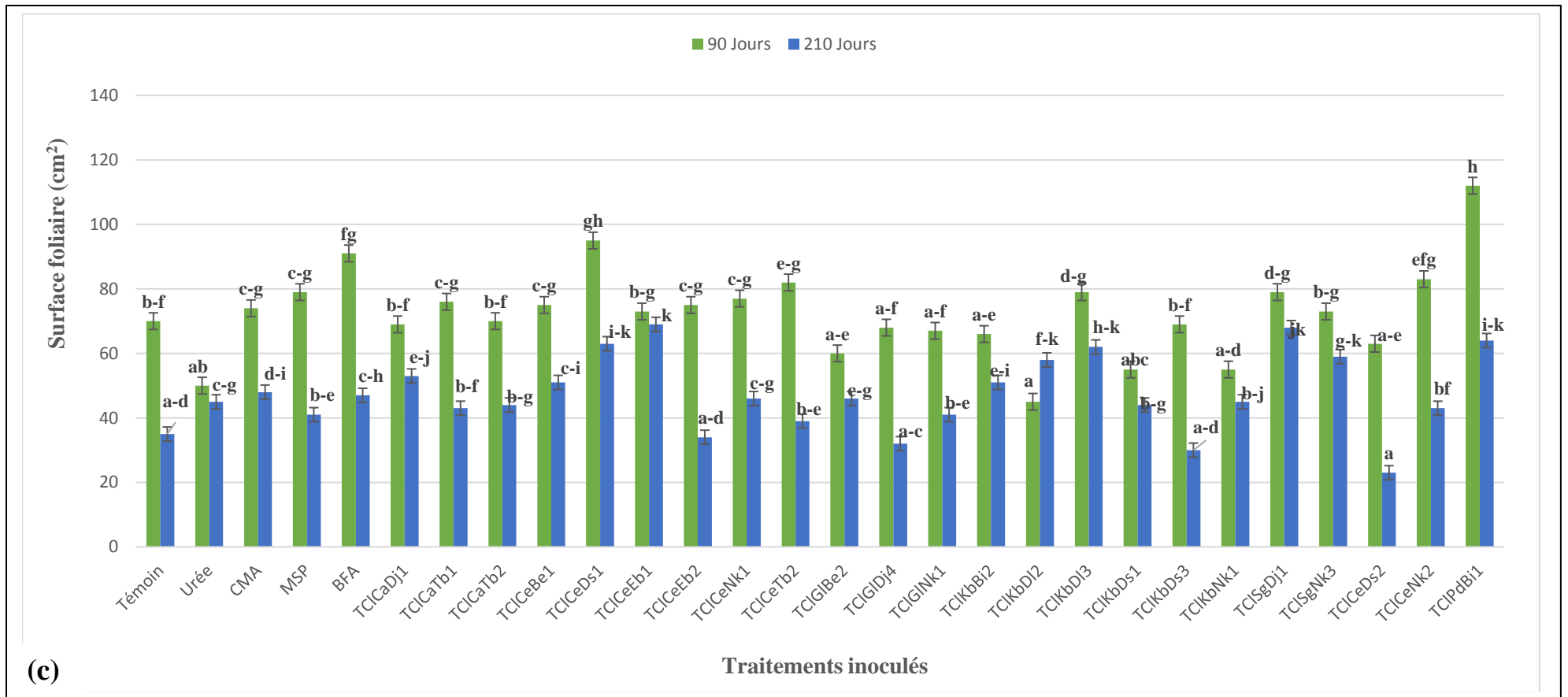


Figure 45. Comparaison d'isolats d'endophytes sélectionnés pour la croissance de *Curcuma longa* en pot sur sol stérilisé 90 et 210 jours après le semis. (a-d correspond à : abcd. Les moyennes ± écart type suivies de la même lettre alphabétique et dans la même colonne ne sont pas significativement différentes les uns des autres au seuil de 5% selon le test de Duncan)
 Légende : (a) diamètre au collet, (b) nombre de feuilles, (c) surface foliaire, (témoin) sans inoculation, (CMA) Champignons mycorhizien Arbusculaires, (MSP) Microorganisme solubilisant le Phosphore ; (BFA) Bactérie Fixatrice d'azote

3.1.3.2. Production des rhizomes de *Curcuma longa* après inoculation des endophytes sélectionnés

Les rhizomes de *Curcuma longa* ont été récoltés 8 mois après le semis (Figure 47). On a noté que les endophytes jouent un rôle très important pour le développement de la plante et la production de *Curcuma longa*. Certains inocula ont augmenté de manière significative la production de rhizome. Il apparaît clair que les rendements en rhizomes pour les traitements TCIPdBi1 (17,89 g/plante) et TCISgDj1 (17,66 g/plante) sont les plus élevés suivis de ceux des traitements TCICeDs1 (17 g/plante) et TCICeBe1 (16,10 g/plante). L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre la masse de rhizomes de tous ses 4 traitements. D'après l'histogramme, nous observons que le témoin BFA a la meilleure production de rhizomes (Figure 46). Tous les traitements présentent une réponse favorable aux endophytes inoculés pour l'augmentation de la masse des rhizomes exceptés TCICeTb2 et TCIKbDs1.

En outre, 61 % des traitements ont une meilleure production en rhizomes que le témoin Urée.

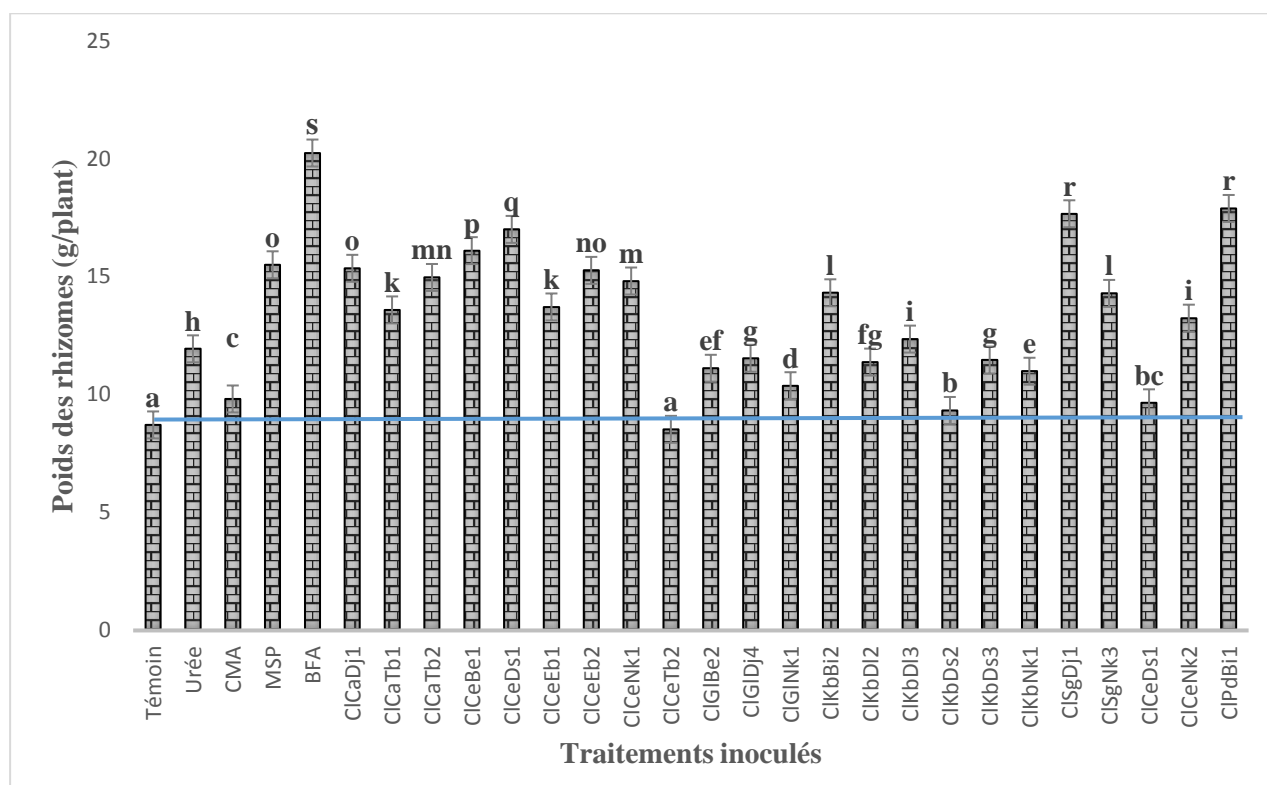


Figure 46. Effet des endophytes sélectionnés sur le rendement en production de rhizomes de *Curcuma longa* biofertilisés récoltés 8 mois après semis (Les barres avec la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes les unes des autres au seuil de 5% selon le test de Duncan).

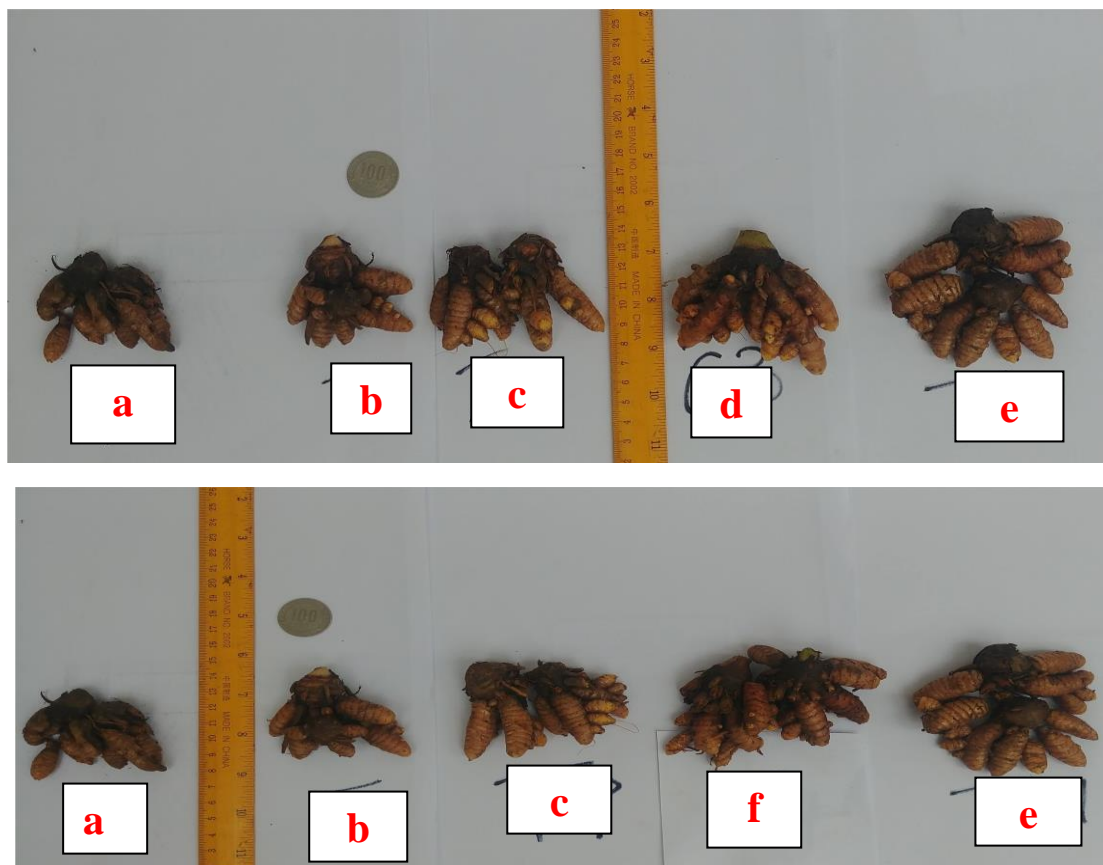


Figure 47. Rhizomes frais de *Curcuma longa* biofertilisés récoltés 8 mois après semis.

Légende : (a) Témoins (b) Urée (c) MSP (d) CIPdBi1 (e) BFA (f) CISgDj1. La règle graduée et la pièce de monnaie servent d'échelles.

3.1.3.3. Teneurs en curcumine des rhizomes de *Curcuma longa* après inoculation des endophytes sélectionnés

L'inoculation des endophytes a influencé les teneurs en curcumine des rhizomes de *Curcuma longa* (Figure 48). Les résultats montrent que la teneur en curcumine a augmenté pour la plupart traitements ayant reçu les endophytes. Celle-ci est meilleure pour les traitements ayant reçu les inocula constitués des endophytes CICEk1 (13,83 $\mu\text{g/mL}$), CISgDj1 (10,02 $\mu\text{g/mL}$) et CIPdBi1 (10,04 $\mu\text{g/mL}$). Les témoins BFA (11,05 $\mu\text{g/mL}$) et MSP (10,15 $\mu\text{g/mL}$) ont également favorisé une augmentation significative de la teneur en curcumine des rhizomes de *Curcuma longa* en comparaison au témoin. L'inoculum à base de CICEk1 augmente deux fois la teneur en curcumine des rhizomes. En outre, parmi les inocula tests, 52% favorisent une augmentation de la teneur en curcumine supérieure au traitement urée et 74% favorisent une augmentation de la teneur en curcumine supérieure au témoin.

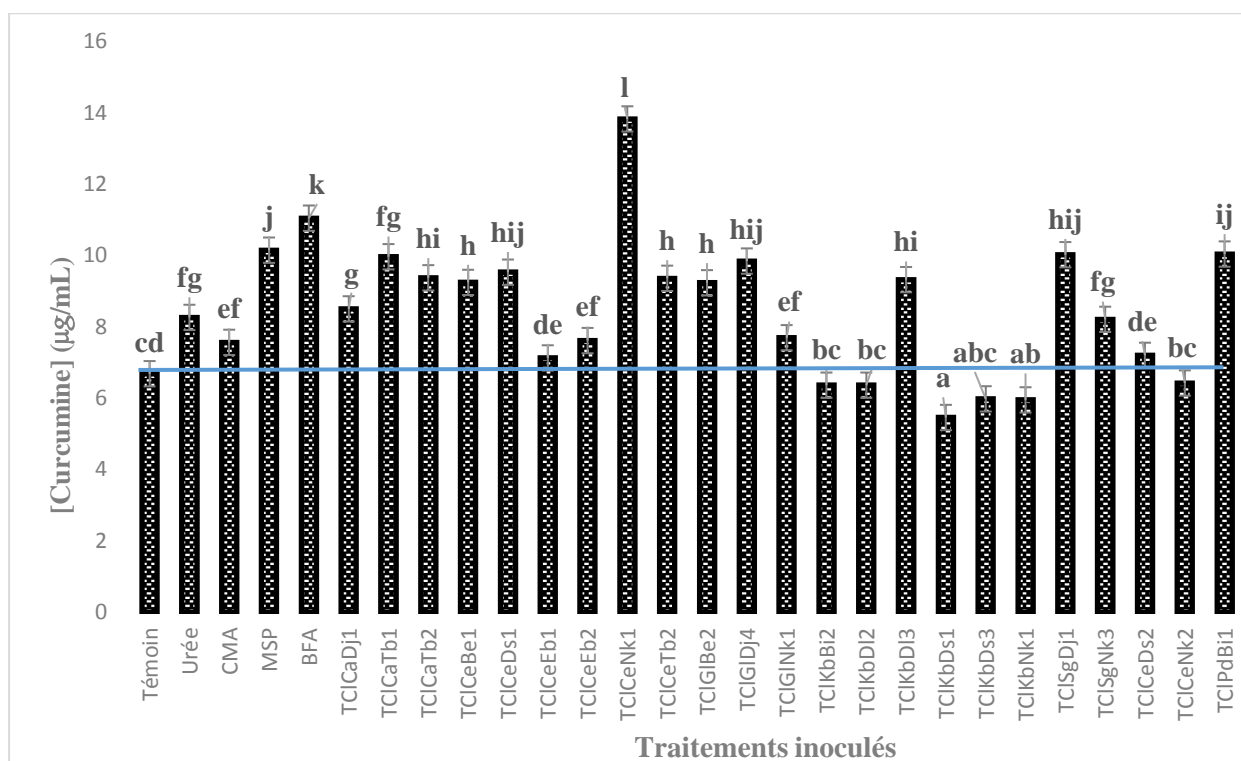


Figure 48. Effet des endophytes sélectionnés sur la teneur en curcumine des rhizomes de *Curcuma longa* biofertilisés obtenus après 8 mois de culture (Les barres avec la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes les unes des autres au seuil de 5% selon le test de Duncan).

3.1.3.4. Réponse à l'inoculation des endophytes sélectionnés sur le rendement en rhizome et les teneurs en curcumine

Le tableau XXI ci-après présente les réponses à l'application des biofertilisants conçus au cours de cette étude à partir des 23 endophytes isolés sur la production de rhizomes de *Curcuma longa* et la teneur en curcumine. Il en ressort que le *Curcuma longa* a une réponse positive à l'inoculation par les endophytes exceptés pour l'isolat C1CeTb2, qui a un effet négatif sur la plante avec une valeur de -2 %. Force est de constater que les isolats CIPdBi1(+105%) et C1SgDj1 (+103%) ont les meilleurs effets de tous les isolats sélectionnés qui restent néanmoins inférieures au témoin TN (+132%). En outre, les résultats montrent que seules les isolats CIKbBi2 (-5%) et CIKbDj2 (-5%) CIKbDs1 (-18%), CIKbDs3 (-10%), CIKbNk1 (-11%) et l'isolat fongique C1CeNk2(-4%) présentent des réponses négatives sur la teneur en curcumine des plants de *Curcuma longa* suite à l'inoculation des endophytes. On note également que l'isolat bactérien C1CeNk1 est celui qui a le meilleur effet sur la teneur en curcumine des plants avec un effet de +107 % suivis du témoin BFA (+ 65%).

Tableau XXI. Réponse à l'inoculation de l'activité des endophytes sélectionnés sur le rendement de production et la teneur en curcumine de *Curcuma longa* 240 jours après le semis.

Traitements	Réponse à l'inoculation (%)	
	Rendement en rhizome	Teneur en curcumine
Témoin	-	-
Urée	+37	+24
CMA	+13	+13
MSP	+78	+52
BFA	+132	+65
ClCaDj1	+76	+27
ClCaTb1	+56	+49
ClCaTb2	+72	+40
ClCeBe1	+85	+38
ClCeDs1	+95	+43
ClCeEb1	+57	+7
ClCeEb2	+75	+14
ClCeNk1	+70	+107
ClCeTb2	-2	+40
ClGIBe2	+28	+38
ClGIDj4	+32	+47
ClGINk1	+19	+15
ClKbBi2	+64	-5
ClKbDI2	+31	-5
ClKbDI3	+42	+40
ClKbDs1	+7	-18
ClKbDs3	+32	-10
ClKbNk1	+26	-11
ClSgDj1	+103	+50
ClSgNk3	+64	+23
ClCeDs2	+11	+8
ClCeNk2	+52	-4
ClPdBi1	+105	+50
Moyenne générale des 23 endophytes sélectionnés	+52	+25
Moyenne générale des 3 meilleurs endophytes	+101	+69

(+) réponse positive ; (-) réponse négative

3.1.3.5. Itinéraire technique de production de *Curcuma longa* biofertilisés

L'absence d'un véritable itinéraire technique classique au MINADER pour la mise en place de cette culture au Cameroun a contribué à la réalisation d'un itinéraire technique. En effet, sur la base des résultats obtenus, des observations, de l'enquête auprès des producteurs, de l'expérience acquise et les travaux antérieurs sur cette production, il nous impose de proposer un itinéraire technique adapté pour une meilleure protection et production de *Curcuma longa*. Les parties de la

figure 49 en vert sont les modifications apportées à l'itinéraire utilisé par les producteurs pour remplacer les fertilisants et pesticides chimiques par les biofertilisants et les biopesticides microbiens.

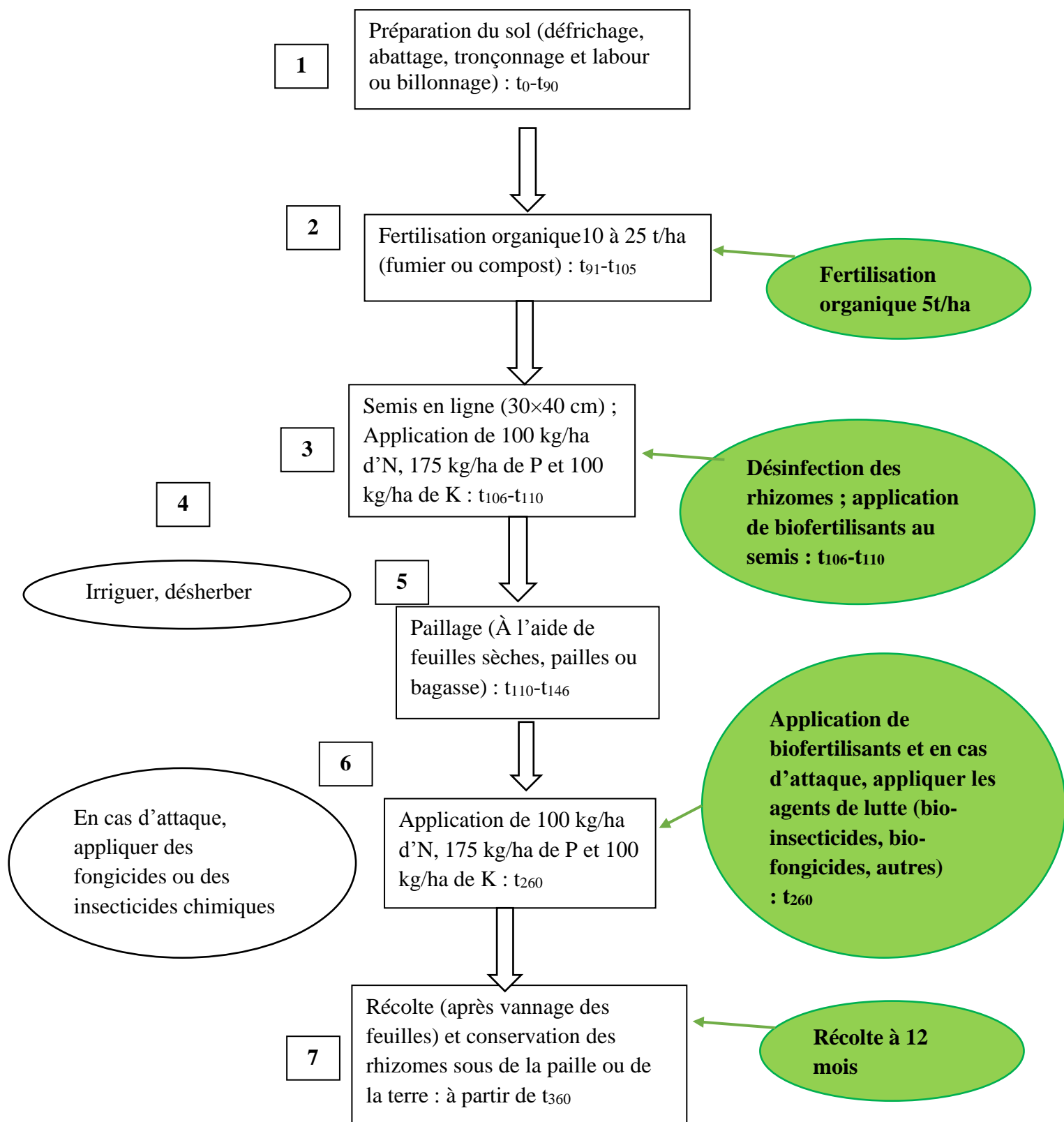


Figure 49. Itinéraire technique proposé pour une protection et une production de *Curcuma longa* biofertilisé (t temps en jours) : à gauche option conventionnelle ; à droite (vert) option biologique

NB : l'irrigation se fait à la plantation, suivie d'une irrigation hebdomadaire jusqu'au 5^e mois de croissance. Une plante de *Curcuma longa* nécessite environ 15 cm² en condition de champ pour une meilleure croissance et un rendement plus élevé (Hossain & Ishimine, 2005).

3.1.4. Activités antimicrobiennes des endophytes sélectionnés et antioxydantes des extraits de *Curcuma longa* biofertilisés

3.1.4.1. Activités antimicrobiennes des endophytes sélectionnés

L'efficacité des isolats endophytes sélectionnés a été criblée pour l'inhibition de la croissance *in vitro* de trois champignons phytopathogènes sur milieu CtMA et une bactérie phytopathogène sur milieu YGPA (Tableau XXII, figure 50) afin d'évaluer la capacité des isolats à stimuler les activités antimicrobiennes de la plante. Les résultats montrent que 52% ont une activité contre *Fusarium oxysporum* avec des Pics variables. 39% d'isolats ont un PIC de 2, les isolats CIKbDI2 ; CIPdBi1 ont un PIC de 3 et seul l'isolat CIGINk1 a un PIC de 4. D'un autre côté 43% d'isolats inhibent la croissance *Pythium myriotylum in vitro* dont 9 isolats avec un PIC de 2 et l'isolat CICEb2 avec un PIC de 4. En outre, 35% d'isolats ont un effet antagoniste sur *Phytophthora megakarya*, notamment 7 avec un PIC de 2 et l'isolat CISgNK3 avec un PIC de 3.

56% d'isolats ont un effet inhibiteur sur le développement de *Ralstonia solanacearum* avec des diamètres d'inhibitions différents. Ceux-ci étaient compris dans l'intervalle 0,2-0,5 cm pour les isolats CIGIBe2, CIKbDI3, CIKbDs3 et ils étaient supérieurs à 0,5 cm pour les isolats CICAj1, CICAj2, CICAj3, CICAj4, CICAj5, CICAj6, CICAj7, CICAj8, CICAj9, CICAj10, CICAj11, CICAj12, CICAj13, CICAj14, CICAj15, CICAj16, CICAj17, CICAj18, CICAj19, CICAj20, CICAj21, CICAj22, CICAj23, CICAj24, CICAj25, CICAj26, CICAj27, CICAj28, CICAj29, CICAj30, CICAj31, CICAj32, CICAj33, CICAj34, CICAj35, CICAj36, CICAj37, CICAj38, CICAj39, CICAj40, CICAj41, CICAj42, CICAj43, CICAj44, CICAj45, CICAj46, CICAj47, CICAj48, CICAj49, CICAj50, CICAj51, CICAj52, CICAj53, CICAj54, CICAj55, CICAj56, CICAj57, CICAj58, CICAj59, CICAj60, CICAj61, CICAj62, CICAj63, CICAj64, CICAj65, CICAj66, CICAj67, CICAj68, CICAj69, CICAj70, CICAj71, CICAj72, CICAj73, CICAj74, CICAj75, CICAj76, CICAj77, CICAj78, CICAj79, CICAj80, CICAj81, CICAj82, CICAj83, CICAj84, CICAj85, CICAj86, CICAj87, CICAj88, CICAj89, CICAj90, CICAj91, CICAj92, CICAj93, CICAj94, CICAj95, CICAj96, CICAj97, CICAj98, CICAj99, CICAj100.

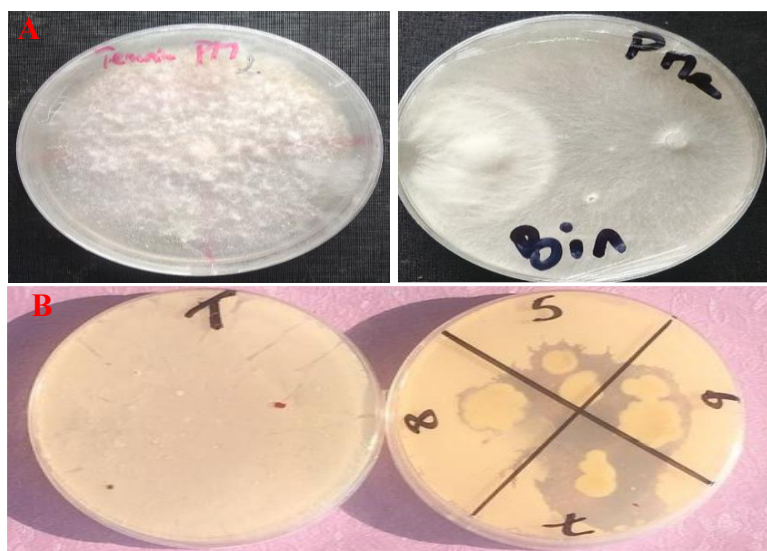


Figure 50. Activités antagonistes de quelques isolats endophytes contre (A) *Phytophthora megakarya* 7 jours après incubation et contre (B) *Ralstonia Solanacearum* 48h après incubation

Tableau XXII. Pourcentage et diamètre d'inhibition de croissance des endophytes sélectionnés des racines de *Curcuma longa* contre 4 agents pathogènes majeurs des plantes *in vitro*

Champignons pathogènes	Pourcentage d'inhibition de croissance (PIC)			
	1 (1-25%)	2 (26-50%)	3 (51-75%)	4 (76-100%)
<i>Fusarium oxysporum</i>		CiCaTb1, CiCaTb2, CiCeBe1, CiCeEb1, CiGIDj4, CiKbDs1, CiKbNk1, CiSgDj1, CiSgNk3	CiKbDI2, CiPdBi1	CiGINk1
<i>Pythium myriotylum</i>		CiCaTb1, CiCeNk1, CiCeTb2, CiGIBe2, CiGIDj4, CiKbDs1, CiKbNk1, CiSgDj1, CiPdBi1		CiCeEb2
<i>Phytophthora megakarya</i>		CiCaDj1, CiCaTb1, CiCaTb2, CiCeDs1, CiKbDI3, CiKbNk1, CiPdBi1	CiSgNk3	
Bactérie pathogène	Diamètre d'inhibition			
	< 0,1cm	0,1-0,2 cm	0,2–0,5 cm	> 0,5 cm.
<i>Ralstonia solanacearum</i>			CiGIBe2, CiKbDI3, CiKbDs3	CiCaDj1, CiCaTb1, CiCaTb2, CiCeDs1, CiCeEb1, CiCeEb2, CiCeNk1, CiGIDj4, CiKbDI2, CiKbNk1

Les résultats montrent également que les isolats CiCaTb1 et CiKbNk1 inhibent la croissance de tous les pathogènes testés *in vitro*. L'évaluation du niveau d'efficacité de chaque isolat révèle que les isolats CiCeEb2 et CiCeEb1 sont les plus efficaces contre *Ralstonia solanacearum* avec respectivement des diamètres d'inhibitions de 2,3 et 1,8 cm (Figure 51/a). Les isolats CiCeEb2 et CiCeTb2 sont plus efficaces contre *Pythium myriothylum* avec respectivement des pourcentages d'inhibition de 90 et 86% (Figure 51/b). Les isolats CiGINk1 et CiKbDI2 sont plus efficaces contre *Fusarium oxysporum* avec respectivement des pourcentages d'inhibition de 80 et 60% (Figure 51/c). Les isolats CiSgNk3, CiCaTb2, CiKbDI3 sont plus efficaces contre *Phytophthora megakarya* avec respectivement des pourcentages d'inhibition de 55%, 41%, et 41% (Figure 51/d).

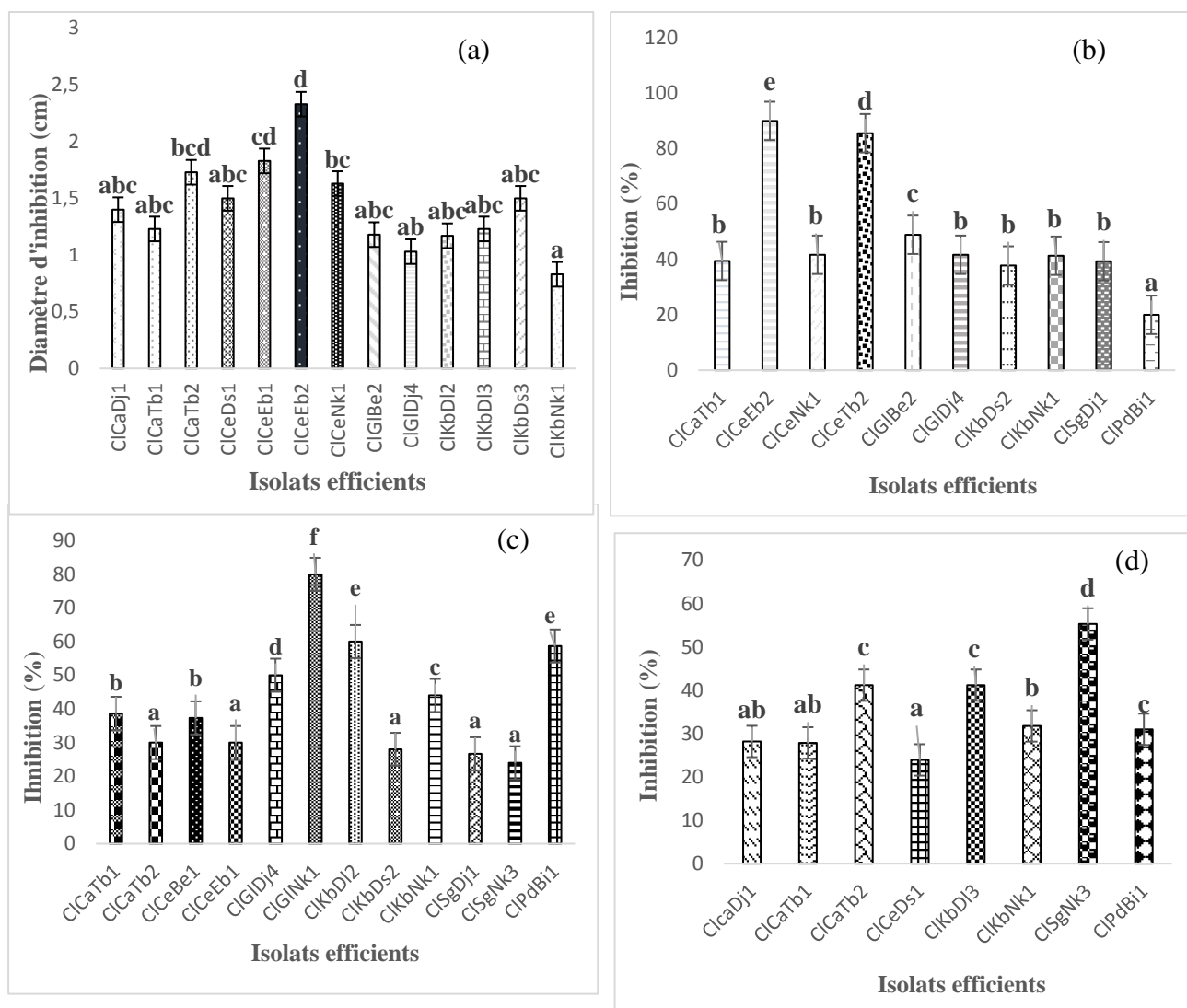


Figure 51. Efficacité des endophytes sélectionnés contre 4 agents pathogènes des plantes *in vitro*. (a) *Ralstonia solanacearum* (b) *Pythium myriotylum* (c) *Fusarium Oxysporum* (d) *Phytophthora megakarya* (Les barres avec la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes les unes des autres au seuil de 5% selon le test de Duncan).

3.1.4.2. Activités antioxydantes des extraits de *Curcuma longa* biofertilisés

Celles-ci ont été exprimées par la détermination des teneurs en GSH, en thiols totaux et en caroténoïdes.

a) Teneur en glutathion réduit

Les résultats de la figure 52 montrent que la teneur en GSH varie d'un traitement à l'autre et est comprise entre 10,74 et 15,27 mmol/g de poudre de *Curcuma longa*. Le témoin T à une teneur en GSH supérieure à celle des autres témoins et pratiquement à tous les traités exceptés TCICeDs1, TCICeBe1, TCICeDs2, TCiKbDJ3 et TCISgDJ1 avec 15,27 ; 14,71 ; 14,45 ; 13,64 et 13,64 mmol/g de poudre respectivement. Il existe des différences significatives entre ses cinq

traitements et les autres traitements. En outre, il existe une différence significative entre TCICeDs1 et les autres traitements.

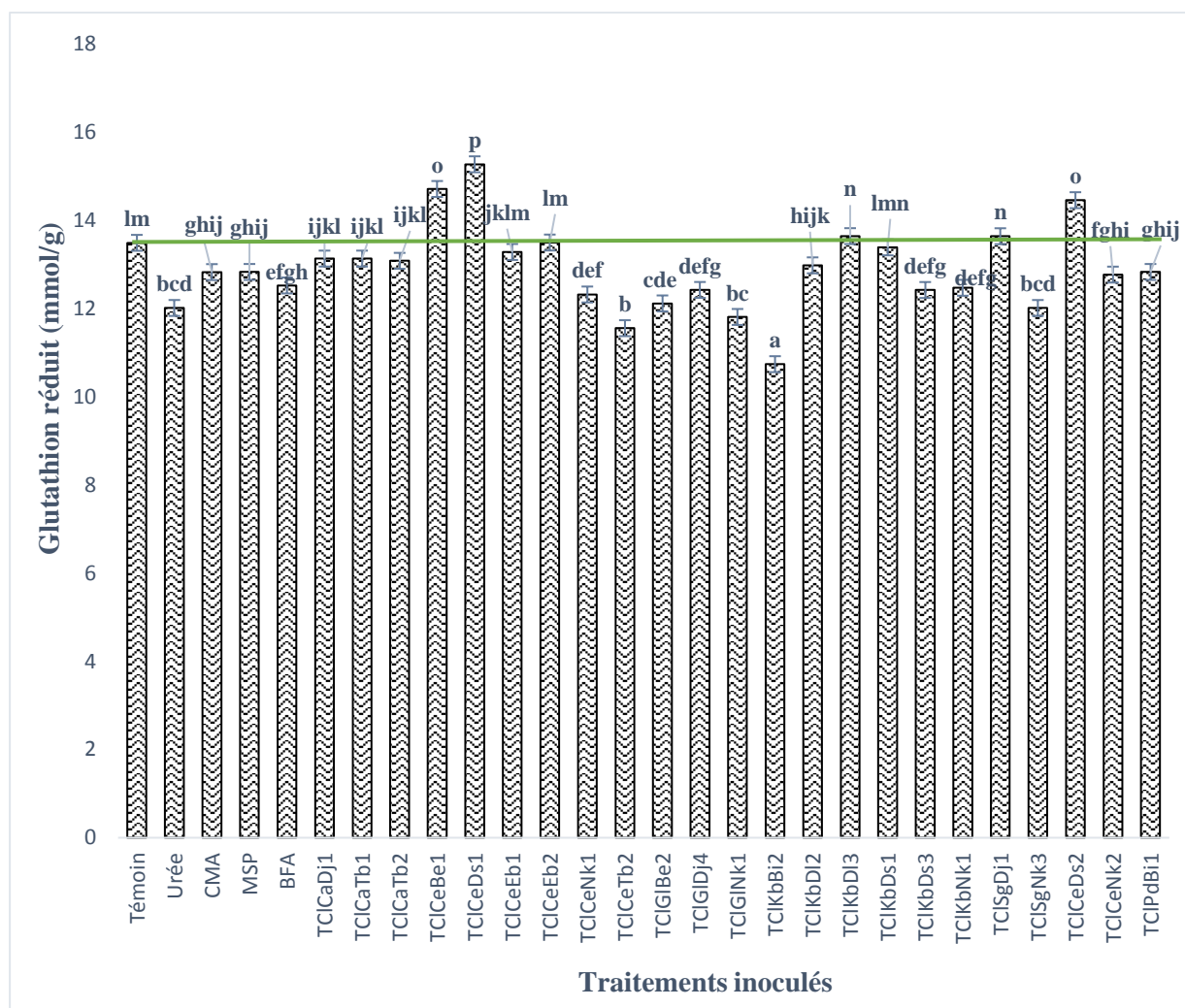


Figure 52. Effet des endophytes sélectionnés sur la teneur en glutathion réduit des rhizomes de *Curcuma longa* biofertilisés après 8 mois de culture (Les barres avec la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes les unes des autres au seuil de 5% selon le test de Duncan).

b) Teneur en thiols totaux

Les résultats montrent des différences significatives entre les traitements (Figure 53). Tout comme les teneurs en GSH, le témoin T a une teneur en thiols totaux supérieurs aux autres témoins BFA, MSP, Urée et CMA. Les isolats TCICeDs2 (70,15 $\mu\text{mol/g}$), TCIPdBi1 (71,55 $\mu\text{mol/g}$), TClcaDj1 (72,05 $\mu\text{mol/g}$), TCICeBe1 (75,67 $\mu\text{mol/g}$), TCICeT2 (80,79 $\mu\text{mol/g}$) et TCICeDs1 (132,37 $\mu\text{mol/g}$) ont des teneurs en TT supérieures à la teneur du témoin T (68,96 $\mu\text{mol/g}$). En outre, la teneur en TT de TCICeDs1 est la meilleure et est largement supérieure aux autres. Elle est 1,91 fois supérieure à celle de T et 4,35 fois supérieur à celle de TU.

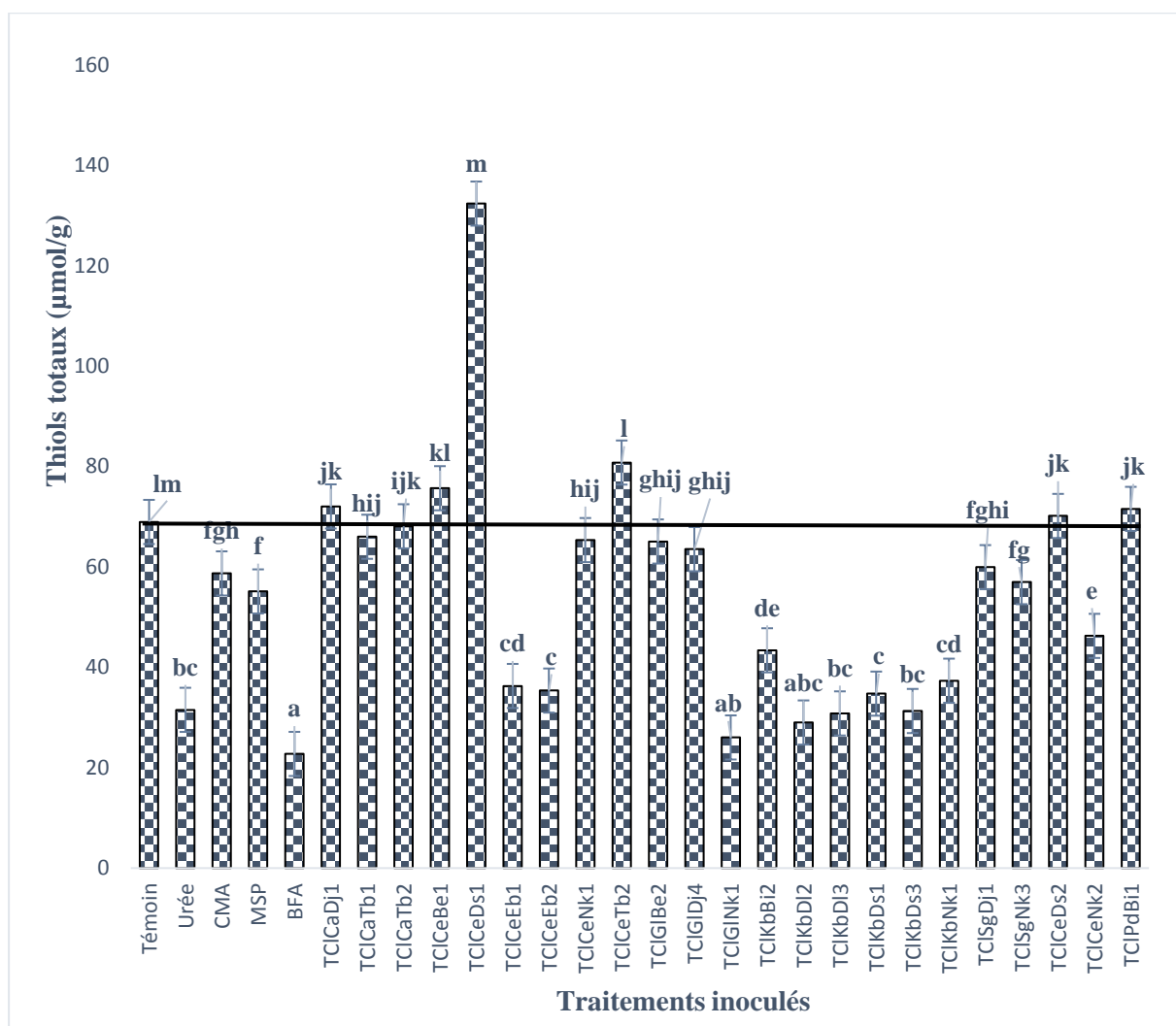


Figure 53. Effet des endophytes sélectionnés sur la teneur en thiols totaux des rhizomes de *Curcuma longa* biofertilisés après 8 mois de culture (Les barres avec la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes les unes des autres au seuil de 5% selon le test de Duncan).

c) Teneur en caroténoïdes

Les teneurs en caroténoïdes des rhizomes de *Curcuma longa* sont donnés dans la figure 54 ci-après. On note des différences significatives vis-à-vis de tous les traitements. Il en ressort que tous les traités ont une teneur en caroténoïdes supérieure à celle des témoins T et TU excepté les traités TCICeEb2 (1,45 mg/g) et TCIKDs3 (2,54 mg/g). Les traités TCIKbDj2 et TCICeBe1 produisent les plus grandes quantités de caroténoïdes notamment 6,1 et 5,99 mg/g de poudre de *Curcuma longa*. Ceux-ci présentent une différence significative entre eux.

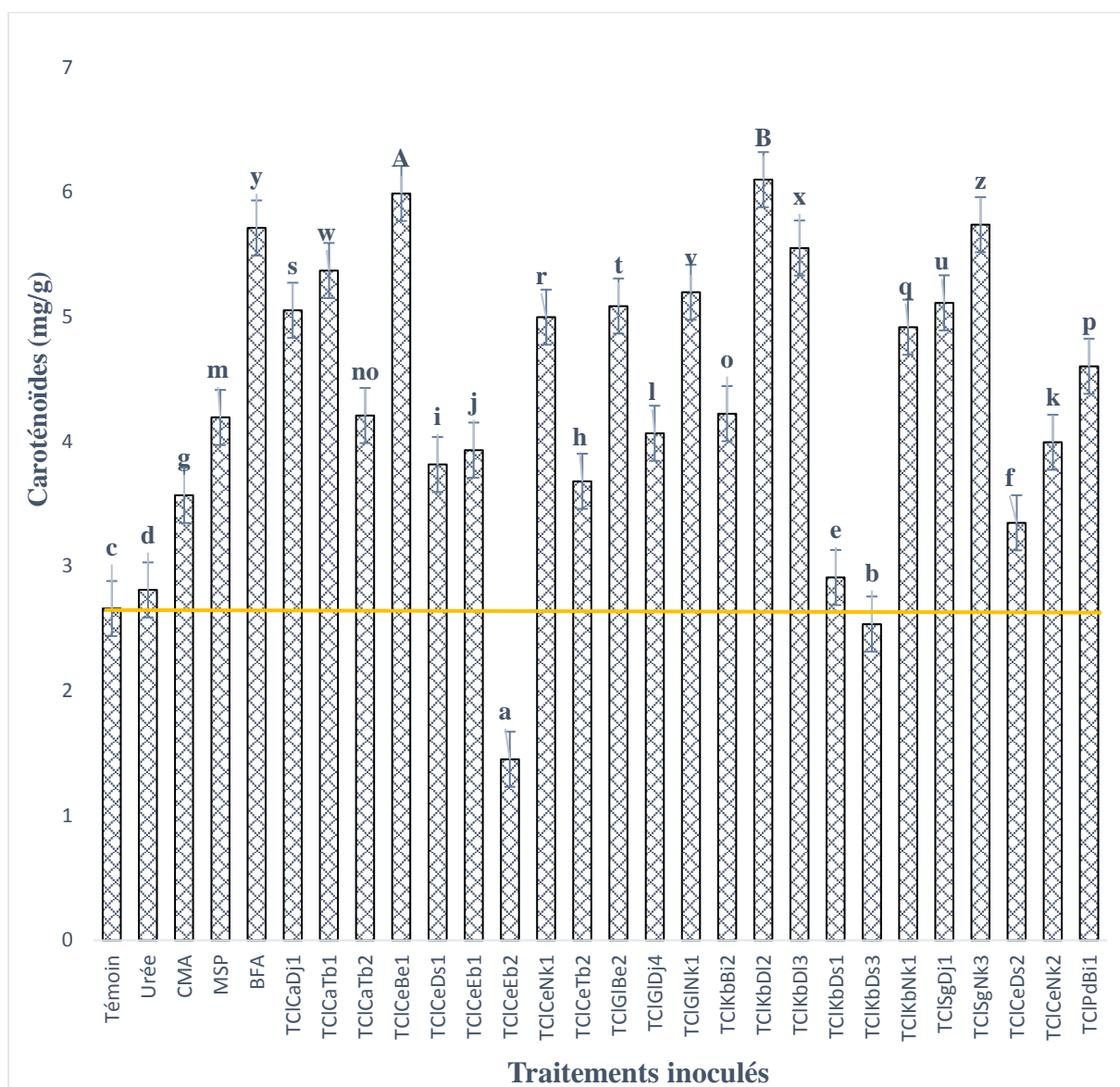


Figure 54. Effets des endophytes sélectionnés sur la teneur en caroténoïdes totaux des rhizomes de *Curcuma longa* biofertilisés obtenus après 8 mois de culture (Les barres avec la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes les unes des autres au seuil de 5% selon le test de Duncan).

3.1.4.3. Réponse à l'inoculation des endophytes sélectionnés sur les teneurs en glutathion, thiols totaux et caroténoïdes de *Curcuma longa*

Le tableau XXIII ci-après présente les réponses à l'inoculation des endophytes sélectionnés au cours de cette étude sur les teneurs en GSH, TT et CAR de *Curcuma longa*. Les résultats montrent que seules les isolats ClCeBe1 (+9%), ClCeDs1 (+13%), ClKbDI3 (+1%), ClSgDj1 (+1%) et l'isolat fongique ClCeDs1 (+7%) ont une réponse positive sur les teneurs en GSH ; les isolats ClCeBe1 (+10%), ClCeDs1 (+92%), ClCeTb2 (+17%) et les isolats fongiques ClCeDs1 (+2%) ClPdB11 (+4%) une réponse positive sur les teneurs en TT du *Curcuma longa*. Les isolats ClCeDs1 (+92%), ClCeTb2 (+17%) ont les meilleures réponses de tous les isolats sélectionnés

pour les teneurs en TT. En outre, les résultats montrent que seuls les isolats ClCeEb2 (-45%) et ClKbDs3 (-5%), présentent des réponses négatives sur la teneur en CAR de *Curcuma longa* suite à l'inoculation des endophytes. On note également que les isolats ClCeBe1 et ClKbDI2 sont ceux qui ont les meilleures réponses pour la teneur en CAR des plants avec un effet de +125% et +129% respectivement.

Tableau XXIII. Réponse à l'inoculation de l'activité des isolats d'endophytes sélectionnés sur les teneurs en glutathion, thiols totaux et caroténoïdes de *Curcuma longa* 240 jours après le semis

Traitements	Réponse à l'inoculation (%)		
	Glutathion	Thiols totaux	Caroténoïdes
Témoin	-	-	-
Urée	-11	-54	+6
CMA	-5	-15	+34
MSP	-5	-20	+58
BFA	-7	-67	+115
ClCaDj1	-3	4	+90
ClCaTb1	-3	-4	+102
ClCaTb2	-3	-1	+58
ClCeBe1	+9	+10	+125
ClCeDs1	+13	+92	+43
ClCeEb1	-2	-47	+48
ClCeEb2	/	-49	-45
ClCeNk1	-9	-5	+88
ClCeTb2	-14	+17	+38
ClGIBe2	-10	-6	+91
ClGIDj4	-8	-8	+53
ClGINk1	-12	-62	+95
ClKbBi2	-20	-37	+59
ClKbDI2	-4	-58	+129
ClKbDI3	+1	-55	+109
ClKbDs1	-1	-50	+9
ClKbDs3	-8	-55	-5
ClKbNk1	-8	-46	85
ClSgDj1	+1	-13	+92
ClSgNk3	-11	-17	116
ClCeDs2	+7	+2	+26
ClCeNk2	-5	-33	+50
ClPdBi1	-5	+4	+73
Moyenne générale des endophytes sélectionnés	-4	-18	+66
Moyenne générale des 3 meilleurs endophytes sélectionnés	+10	+40	+123

3.2. DISCUSSION

L'objectif de la présente étude visait à déterminer l'impact des endophytes sur la production de rhizomes, de curcumine et sur la stimulation des activités antioxydantes et antimicrobiennes du *Curcuma longa*. Elle nous a permis de déterminer d'une part, le substrat le plus apte pour la culture de *Curcuma longa* au Cameroun et d'autre part, de mettre en évidence le potentiel des endophytes sélectionnés pour la production de rhizomes de *Curcuma longa*, la stimulation de la production de curcumine, des molécules antioxydantes et des activités antimicrobiennes.

3.2.1. Effet des substrats des 5 zones agroécologiques du Cameroun sur la croissance et la production des rhizomes de *Curcuma longa*

3.2.1.1. Propriétés physico-chimiques et production des rhizomes de *Curcuma longa*

Le sol est le moteur des échanges entre microorganismes et plante, car bien qu'étant lieu d'échange entre les deux symbiotes, il est également source de nutriments. Les résultats ont montré que les rendements de production en rhizomes sont supérieurs à 10 g/plant dans les zones agroécologiques I (substrat de Touboro), II et III avec des valeurs respectives de 10,84 g/plant, 11,16 g/plant et 11,44 g/plant. Dans l'intervalle 8 à 10g/plant de production en rhizomes, seule la zone agroécologique V est représentée avec les substrats de Bertoua (9,58 g/plant) et Nkometou (8,08 g/plant). Le substrat de Douala issu de la zone agroécologique IV est le seul possédant un rendement de production en rhizomes inférieur à 5 g/plant. Ces résultats démontrent que les meilleurs rendements de production en rhizomes sont obtenus sur les sols argileux des zones agroécologiques I (Touboro) et II et sur le sol limono-argilo-sableux de la zone III. Ceci laisse croire que les textures argileuses et limono-argilo-sableuses sont adaptées à la culture du *Curcuma*. En effet, Cardon (2005), Hossain et Ishimine (2005) ont montrés que les limons fertiles ou argileux, bien drainés et meubles sont idéaux pour la culture de cette plante. En revanche, le sol de la zone agroécologique IV, à partir duquel le rendement le plus faible a été obtenu, est un sol limono-argileux-sableux. Ce résultat montre que la texture du sol seul ne suffit pas pour assurer un meilleur rendement du *Curcuma*.

Le pH d'un sol constitue un paramètre important pour apprécier la potentialité d'un sol à assurer la croissance des végétaux tout en déterminant la disponibilité des éléments nutritifs pour les plantes (Borah *et al.*, 2010). Les pH neutres des sols des zones I (substrat de Touboro), II et III pourraient expliquer ces meilleurs rendements en rhizomes observés. Le pH neutre d'un sol renseigne sur sa richesse en cations basiques qui sont nécessaires pour une meilleure croissance du *Curcuma longa*. De plus, cette plante préfère des sols ayant un pH compris entre 5 et 7,5

(Cardon, 2005). L'obtention de rendements moyens en rhizomes inférieurs sur les substrats de Nkometou (pH 4,92) et Ebolowa (pH 4,16) (Tableau VI) (7,82 g/plant pour Ebolowa et 8,08 g/plant pour Nkometou) montrent que cette plante est plus adaptée sur des sols neutres. Cependant, le plus faible rendement de production obtenu par le substrat de Douala issu de la zone agroécologique IV montre qu'en dehors de la texture et du pH du sol d'autres paramètres notamment les nutriments sont nécessaires pour une meilleure croissance du *Curcuma*.

Parmi les nutriments apportés aux cultures, le plus important est souvent l'azote, qui peut être attribué dans certains cas à 75% de l'augmentation des rendements observée (Danso & Eskew, 1984). En effet, il participe au développement et à la croissance de toutes les parties de la plante : feuilles, tiges et racines. C'est le principal facteur de croissance des plantes et un facteur de qualité qui influence le niveau de protéines des plantes (Danso & Eskew, 1984). On a noté qu'en général tous les sols de l'étude ont de faibles teneurs en azote. Les sols des zones agroécologiques I (sol de Touboro), II et III où les meilleurs rendements ont été observés possèdent des teneurs en N très faible et faible respectivement. Mais, les rapports C/N de ces sols inférieurs à 15 indiquent une bonne décomposition de la matière organique. Seul un sol de la zone agroécologique V (sol d'Ebolowa) a un rapport C/N de 19,83 indiquant une mauvaise décomposition de la matière organique. Ces bons rapports C/N indiquent que l'azote même à de faibles concentrations était disponible pour les plantes (Tableau VII) contribuant ainsi à la croissance de celles-ci. En effet, un bon rapport C/N montre que l'azote est minéralisé et disponible en grande quantité dans ce sol (Bipfubusa, 2006). Tous les substrats de l'étude ont un pH < 7, favorisant ainsi l'absorption du phosphore par les racines des rhizomes, stimulant alors l'enracinement. En effet, Sanchez *et al.* (2009) ont démontré qu'à faible pH (< 7), le phosphore est présent sous la forme H_2PO_4^- . Il est plus facilement absorbé par les racines sous cette forme que la forme HPO_3^{4-} présente dans les sols alcalins (pH > 7). En outre, des teneurs élevées en phosphore peuvent abaisser la capacité photosynthétique de la plante à limiter la mobilité de certains nutriments et entraîner un ralentissement de la croissance de la plante. Ce n'était pas le cas dans notre étude, car pour de très faibles teneurs en P, nous avons observé d'une part, un faible rendement de production (zone agroécologique IV) et d'autre part un rendement élevé de production (zone III). En dehors de l'N et du P, le *Curcuma* nécessite de grandes teneurs en matières organiques pour sa croissance. Toutefois, pour les substrats des zones I (sol de Touboro), II et III où les meilleurs rendements ont été observés, on note qu'ils possèdent de faibles teneurs en matières organiques. Seuls les sols des zones agroécologiques V ont une teneur moyenne en matière organique mais avec des rendements en rhizomes inférieurs à ceux obtenus dans des zones I (sol de Touboro), II et III. Ceci montrerait que la teneur en matière organique doit être associée à d'autres paramètres tels que le pH, la texture et même le rapport C/N. En effet, dans la zone V le rendement en rhizomes de *Curcuma longa*

était plus élevé pour le substrat de Bertoua (pH 5,40 ; C/N 10,93), suivi de Nkometou (pH 4,92 ; C/N 10,70) et Ebolowa (pH 4,16 ; C/N 19,863)

Les résultats montrent également qu'à la 16^e semaine, les paramètres de croissance (hauteur des plants et diamètres au collet) sont plus élevés pour les plants issus des substrats des zones agroécologiques I (substrat de Touboro), II, III et plus faible pour les plants issus des zones IV. Cette meilleure croissance des plants cultivés dans ces substrats serait due à leur composition granulométrique (sols argileux et Limono-argilo-sableux) et chimique (pH (5,4-6,6) et C/N (7,70-14,90)). Les résultats obtenus montrent donc qu'afin de faciliter la croissance des rhizomes de *Curcuma longa*, les sols alcalins doivent être évités, car ils induisent une asphyxie racinaire (Cardon, 2005 ; Hossain & Ishimine, 2005). De plus, on a obtenu des masses de rhizomes plus élevées pour les plantes des zones agroécologiques I (substrat de Touboro), II, III où les valeurs les plus élevées de diamètre au collet et de hauteur des plants ont été observées à la 16^e semaine. Le poids des rhizomes de *Curcuma longa* est proportionnel au diamètre au collet et à la hauteur de celui-ci. Effectivement, Hossain & Ishimine (2005) ont montré qu'une grande biomasse aérienne de *Curcuma longa* sur un sol rouge foncé entraînait un rendement de production plus élevé. Le test de corrélation a montré qu'il existe une corrélation entre le poids des rhizomes et la hauteur des plantes d'une part comme cela a été observé par Ajjiah *et al.* (2005), qui ont montré que la hauteur des plantes est un caractère significatif pour le rhizome de *Temulawak*, car elle a un effet direct sur le poids des rhizomes par touffe et d'autre part, entre le poids des rhizomes et le diamètre au collet. Sur la base des paramètres physico-chimiques, les résultats montrent que le substrat issu de la zone agroécologique III est plus adapté pour la production de *Curcuma longa*.

Le sol est un élément incontournable pour la croissance des plantes ; cependant quelques limites ont été observées notamment la pauvreté des sols en éléments chimiques (C ; N ; P et MO). Ceci peut ainsi s'expliquer par le fait que, les sols contiennent une autre source de fertilisation d'origine biologique : les microorganismes. Ceux-ci peuvent être bénéfiques et/ou pathogènes présents naturellement dans le sol (et les semences) et ayant des répercussions positives ou négatives sur le sol, les microorganismes et sur la plante.

3.2.1.2. Propriétés biologiques des substrats et production des rhizomes de *Curcuma longa*

La présence d'endophytes dans les racines des plants montre que la croissance des plantes de *Curcuma longa* n'est pas seulement fonction des propriétés physico-chimiques des sols, mais aussi des propriétés des microorganismes. L'étude montre que les substrats des zones agroécologiques I (substrat de Touboro), II, III n'ont pas le plus grand nombre d'endophytes isolés, mais les plus grandes croissances de *Curcuma longa* ont été obtenus sur ces substrats. Cette meilleure croissance serait due aux propriétés des endophytes présents dans ceux-ci. En effet,

certaines études (Jasim *et al.*, 2014 ; Deshmukh *et al.*, 2018) ont démontré le lien entre les endophytes, la production de métabolites secondaires et la croissance des plantes.

Les paramètres symbiotiques des sols indiquent que le nombre de spores est variable d'un type de sol à un autre à *T in situ* (Tableau VIII). À *T in situ*, les substrats des zones II (41 spores / g de sol), zone V (Nkometou) (44 spores / g de sol) et zone I (Djarengol) (67 spores / g de sol) multiplient le plus grand nombre de spores. Le nombre plus élevé de spores dans le sol de Djarengol pourrait s'expliquer d'une part par les conditions climatiques de cette zone notamment des températures très élevées qui favorisent la sporulation des microorganismes et d'autre part par sa faible teneur en azote. En effet, Egli & Brunner (2014) ont montré que les teneurs élevées en phosphore et en azote réduisent la mycorhization des plantes. Les CMA représentent un groupe abondant et fonctionnellement important de microorganismes du sol, qui forment des associations symbiotiques avec leurs hôtes (Jefwa *et al.*, 2010). Les mycorhizes représentent un atout pour l'agriculture, à travers leurs associations (Zhang *et al.*, 2016) avec leurs hôtes. Certains hôtes bénéficient plus souvent d'un accès accru aux nutriments, d'une croissance et d'un rendement améliorés (Pozo *et al.*, 2010). De plus, ils offrent une meilleure protection contre une multitude de ravageurs et de maladies en induisant une résistance locale et systémique (Bucking & Kafle, 2015).

Les résultats obtenus montrent que la fréquence de colonisation racinaire des CMA est relativement élevée (Tableau VIII). Cependant, dans le substrat du Djarengol, la fréquence de colonisation racinaire était faible (47%). Cette faible colonisation pourrait être due aux conditions climatiques (températures très élevées) de cette zone. En effet, Begoude *et al.* (2016) ont suggéré que le niveau de colonisation des racines dépend probablement plus des conditions environnementales que de la variété végétale. Les substrats de la zone III (78%) et de la zone II (72%) ont les fréquences de colonisation racinaire les plus élevées avec les rendements les plus élevés de tous les traitements. Cela confirme les résultats de nombreux auteurs qui ont montré que la présence de structures CMA dans les racines des plantes contribue à une meilleure production de ces dernières (Nwaga *et al.*, 2010 ; Begoude *et al.*, 2016 ; Hawaou, 2018). En effet, Samanhudi *et al.* (2014) ont montré que les CMA sont capables d'augmenter le poids frais des rhizomes de *Temulawak* ; Nwaga *et al.*, (2010) ont montré qu' au Cameroun, les CMA ont été sélectionnés pour une augmentation de la productivité d'environ 48% à 478% dans plus de 12 cultures (arachide, banane, igname, maïs, mucuna, niébé, palmier à huile, piment, poireau, sorgho, soja et tomate) seules ou en combinaison avec d'autres intrants agricoles qui stimulent leurs effets tels que les MSP (microorganismes solubilisant le phosphore) et les BNL (bactéries nodulant les légumineuses). Ces résultats prouvent par ailleurs que *Curcuma longa* a une réponse relativement forte à la mycorhization.

La recherche d'un substrat adapté pour la production de *Curcuma longa* au Cameroun est primordiale pour le développement de cette filière, car le sol est essentiel pour la croissance des plantes. Néanmoins, il est encore plus intéressant de rechercher et caractériser la biodiversité microbienne présente dans la rhizosphère de cette plante au Cameroun, parce qu'elle pourrait constituer une autre source de fertilisation des sols (biologique) pour une agriculture durable.

3.2.2. Propriétés des endophytes locaux isolés de la rhizosphère du *Curcuma longa*

3.2.2.1. Diversité des endophytes de la rhizosphère du *Curcuma longa*

Les champignons et bactéries endophytes sont omniprésents dans la nature, infectant pratiquement toutes les plantes des écosystèmes naturels et agronomiques (Ryan *et al.*, 2008). Certains d'entre eux n'ont probablement aucun effet bénéfique sur la forme physique de l'hôte et peuvent être des pathogènes latents ou des saprophytes qui restent inactifs jusqu'à ce que des signaux environnementaux déclenchent un changement de développement pour que l'endophyte poursuive son cycle de vie (Ryan *et al.*, 2008). D'autres ont été isolés à plusieurs reprises et décrits comme endophytes et se sont révélés bénéfiques d'une certaine manière pour la plante. Notre étude a permis d'isoler 105 endophytes dont la majorité est constituée de bactéries (82) suivies de champignons (23) (Tableaux X, XI, XII et XIII). On note une grande variabilité des isolats en fonction du substrat de piégeage. En effet, le plus grand nombre d'isolats a été obtenu pour un substrat de la zone agroécologique V, le substrat de Bertoua (19). Tandis que le plus petit nombre a été obtenu pour le substrat de la zone agroécologique II (8). La texture argilo-saleuse et l'antécédent cultural (maïs) du sol de Bertoua faciliteraient le développement des microorganismes comparées à la texture argileuse et l'antécédent cultural (igname) du sol de la zone II. Il faut également noter que, le sol de Bertoua a une teneur en matière organique plus élevée que celui de la zone agroécologique II. Cela pourrait également contribuer à l'obtention d'un nombre plus élevé d'endophytes pour le substrat de Bertoua de la zone agroécologique V.

En outre, les endophytes fongiques CIEaDj1 ; CIEaDj2, CIEaDs1 sont spécifiques aux zones I (substrat du Djarengol) et III ; tandis que, CIEaTb1, CIEaBi1, CIEaDs1 spécifiques aux zones I (substrat de Touboro), II et III ; De plus, CIEcTb1, CIEcDs1 ; CIEcDs2, CIEcBe1, CIEcNk1 sont spécifiques aux zones I (Touboro), III et V (substrats de Bertoua et Nkometou). L'endophyte bactérien CIEaEb1 est spécifique à la zone V. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Bahdjolbé (2019) qui a montré que les conditions de cultures en pot de la plante piège pourraient modifier l'infection racinaire des souches microbiennes.

3.2.2.2. Propriétés physiologiques des endophytes de la rhizosphère du *Curcuma longa*

Les principaux facteurs limitant l'activité des microorganismes dans les sols sont la salinité, les toxicités en aluminium et en fer, les hautes températures, les carences en éléments nutritifs et les pH acides. La détermination des paramètres physiologiques est donc un caractère primordial pour la sélection des microorganismes élités pouvant résister aux conditions environnementales locales.

Couramment, l'augmentation de la concentration en aluminium a un effet nocif notable sur les microorganismes du sol. C'est dans ce sens que les endophytes isolés ont été testés pour leur sensibilité à l'aluminium. Dans notre étude, le nombre d'isolats tolérant l'aluminium diminue lorsqu'on augmente les concentrations d'aluminium passant de 103 isolats tolérants à 50 mM à 46 isolats à 100 mM d'aluminium. Ces résultats concordent avec ceux de Maïmouna (2017) qui a démontré que les isolats de bactéries se développent mieux dans des milieux à faible concentration en aluminium. Les conditions climatiques extrêmes et la déplorable utilisation des terres agricoles au cours des dernières décennies a conduit à une salinité élevée, qui est un facteur limitant de la productivité agricole mondiale (Wicke *et al.*, 2011). Dans cette étude, les isolats endophytes ont pu se développer de manière différentielle à différents niveaux de NaCl. Le nombre d'isolats tolérant le NaCl baisse lorsqu'on augmente les concentrations de NaCl passant de 90 isolats tolérants 7,5% à 53 isolats tolérants 15% de sel. En outre, on note que plus de la moitié des isolats résistent à 15% de NaCl. Ces résultats sont contraires à ceux de Maïmouna (2017) qui a montré que des isolats de MSP étaient incapables de croître à des concentrations en sels supérieures à 5% et ils concordent avec ceux d'autres auteurs, qui ont montré que les endophytes peuvent tolérer de forte concentration en sels (Kumar *et al.*, 2016 ; Ullah *et al.*, 2018). L'acidité du sol est un problème majeur pour l'agriculture dans les tropiques où pratiquement 60 % des terres arables sont acides. La sensibilité des endophytes à l'acidité a ainsi été évaluée. Dans ce travail, le nombre d'isolats tolérant l'acidité est proportionnel à la diminution du pH variant de 105 isolats à un pH 6 à 78 tolérants un pH 3. Ceci montre que les microorganismes ne tolèrent pas de fortes acidités. Ces résultats vont dans le même sens qu'une étude (Appunu *et al.*, 2009) qui a montré que les microorganismes ont une croissance faible au pH 3,5.

En somme, dans cette étude, les endophytes ont montré différents niveaux de tolérance aux sels (7,5% ; 10% et 15%), à l'acidité (pH 3, 4 et 5) et à l'aluminium (50 mM ; 75 mM et 100 mM) où l'on note que le taux de croissance diminue avec l'augmentation des conditions de stress (Tableau XIV). En effet, de nombreux auteurs ont montré que les isolats d'endophytes tolèrent différents niveaux de stress abiotiques (Kumar *et al.*, 2016 ; Ullah *et al.*, 2018). Les endophytes isolés hautement tolérants au sel, à l'acidité et à l'aluminium seraient avantageux pour une

utilisation en qualité de fertilisant biologique afin d'atténuer les stress et rendre les cultures possibles et plus rentables en zone tropicale.

3.2.2.3. Propriétés biochimiques des endophytes pré-sélectionnés de la rhizosphère du *Curcuma longa*

La coloration de Gram a révélé que 14 isolats bactériens sont Gram négatifs dont 11 sous forme de coques ; tandis que 6 sont Gram positifs dont 3 sous forme de coque et 3 en forme de bâtonnets aux extrémités arrondies parmi les 20 isolats bactériens pré-sélectionnés. Ces résultats sont en contradiction avec ceux de Kannan *et al.* (2014) qui ont montré que sur 16 bactéries endophytes de racines de la mangue, les bactéries Gram positives (68,75%) étaient plus nombreuses que les Gram négatives (31,25%). Cependant, ces résultats vont dans le même sens qu'une autre étude qui a montré que les bactéries endophytes Gram négatives sont plus abondantes dans différentes plantes (Taghavi *et al.*, 2009).

Certains isolats microbiens utilisés dans la lutte biologique produisent des enzymes qui peuvent lyser une partie de la paroi cellulaire de divers champignons pathogènes (Glick, 2012). L'étude a révélé que la plupart des isolats exceptés les champignons CIEaDj2 ; CIPdEb2 ; CIPdTb2 et CICEnk2 sont catalases positives. La catalase est produite par les bactéries qui respirent à l'aide d'oxygène et les protègent des produits toxiques résultant du métabolisme de l'oxygène, ce qui les rend très résistantes aux stress environnementaux, mécaniques et chimiques (Ammor & Mayo, 2007 ; Kumar *et al.*, 2011). De ce fait, cette enzyme est considérée comme une caractéristique importante requise par les bactéries pour éviter la toxicité cellulaire. De plus, est considérée comme la première ligne de défense des microorganismes, qui les protège contre les radicaux libres nocifs qui résultent de stress biotiques et abiotiques, et par conséquent, favorise la croissance des plantes grâce à une stratégie indirecte (Ramesh *et al.*, 2014).

La protéase est une enzyme hydrolytique impliquée dans la suppression de la croissance des pathogènes et la réduction subséquente des dommages causés aux plantes (Bashan & de-Bashan, 2005). Dans ce travail, 54% d'isolats produisent la protéase. Nos résultats sont soutenus par ceux de Gomaa (2013) qui a également signalé que sur 23 bactéries alcaliphiles, 12 isolats étaient capables de produire de la protéase sur milieu SMA. Cependant, Dudeja *et al.* (2012) ont démontré que sur 91 isolats bactériens provenant de racines de plantes de dunes, seuls 23 isolats étaient positifs pour la production de protéases.

En outre, 100% d'isolats bactériens et les isolats fongiques CIPdBi1 et CICEds2 produisent l'uréase. Elle catalyse l'hydrolyse de l'urée en acide carbamique instable et la décomposition rapide de l'acide carbamique se produit sans catalyse enzymatique pour former de l'ammoniac et du

dioxyde de carbone ; L'ammoniac réagit avec l'eau pour former de l'ammonium (NH_4^+) qui est une source d'azote disponible dans la plante (Gurjot, 2016).

Dans le même contexte, l'activité amylase des isolats de cette étude montre que seul 38% produisent cette enzyme. Les bactéries produisent de l'amylase à l'extérieur de leurs cellules pour effectuer la digestion extracellulaire (Poli *et al.*, 2006). En effet, l'amylase favorise la germination précoce et augmente la disponibilité de l'assimilation de l'amidon (Gholami *et al.*, 2009).

La cellulose est la source de carbone organique la plus abondante et représente 50% du poids sec de la biomasse végétale. Ces sucres se trouvent dans la biomasse lignocellulosique composée principalement de cellulose hydrolysée par le complexe enzymatique cellulase (Sadhu & Maiti, 2013). De nombreuses bactéries et champignons utilisent la cellulose à des fins nutritives (Gurjot, 2016). La propriété cellulolytique de certains genres bactériens tels que *Cellulomonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.* et *Micrococcus sp.* a été démontrée (Susilowati *et al.*, 2015). Un rôle clé dans la décomposition et la transformation des matières organiques telles que les résidus végétaux dans l'écosystème du sol sont attribuées aux microorganismes aérobies, en particulier aux bactéries cellulolytiques omniprésentes dans les sols (Gurjot, 2016). 69% d'isolats produisent la cellulase. Nos résultats sont comparables à ceux de Prakamhang *et al.* (2009) qui ont rapporté que 96% de diazotrophes endophytes isolés des racines de riz étaient positifs pour l'activité de la cellulase.

Les enzymes hydrolytiques sécrétées par les endophytes sont utilisées pour améliorer la gestion industrielle de la dégradation des protéines et des polysaccharides (El-Esawi *et al.*, 2019). Dans le même contexte, les activités enzymatiques hydrolytiques telles que l'amylase, la CMCCase, la pectinase, la gélatinase et la xylanase sont corrélées à l'activité hyperparasitaire et aident les endophytes à pénétrer dans les cellules végétales (Kim & Chung, 2004). De plus, une étude (Kavamura *et al.*, 2013) a suggéré que les enzymes hydrolytiques sécrétées par les endophytes peuvent favoriser la croissance des plantes en supprimant les maladies des plantes causées par les agents pathogènes du sol.

Sur la base des propriétés morphologiques et biochimiques, les endophytes bactériens pourraient être assignés aux genres bactériens *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* (Aneja, 2006 ; Kumar *et al.*, 2016 ; Sev *et al.*, 2016). En effet, bien que l'association avec le *Rhizobium* ait été largement explorée dans les nodules racinaires des légumineuses où ils fixent l'azote atmosphérique, des études récentes suggèrent également que le *Rhizobium* peut présenter des activités favorisant la croissance des plantes avec des non-légumineuses (Sev *et al.*, 2016). De plus, de nombreuses études ont signalé des bactéries endophytes isolées des plantes appartenant à ces genres (Jasim *et al.*, 2013 ; Kumar *et al.*, 2016 ; Deshmukh *et al.*, 2018).

En outre, la coloration au bleu de méthylène révèle que tous les endophytes fongiques pré-sélectionnés sont des champignons supérieurs. Ceci est accord avec la littérature qui a montré que les champignons endophytes supérieurs particulièrement les Ascomycota sont ceux les plus isolés (Koukol *et al.*, 2012 ; Rana *et al.*, 2020). Le même résultat s'est reflété dans notre étude où nous avons obtenu cinq champignons pré-sélectionnés appartenant aux Ascomycota et un appartenant aux Basidiomycota. Parmi les Ascomycota, les genres identifiés seraient *Aspergillus*, *Alternaria* et *Fusarium*. Une étude menée en Chine sur des endophytes fongiques isolés de rizières saines a révélé que les genres *Aspergillus* et *Penicillium* étaient aussi parmi les endophytes les plus communs, à part *Fusarium* (Tian *et al.*, 2004). Il a été rapporté que les genres *Fusarium*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Botryodiplodia*, *Alternaria alternata*, *Phoma sp.* et *Beaveria bassiana* étaient des endophytes isolés des racines de maïs (Amin, 2013).

3.2.2.4. Propriétés favorisant la croissance des plantes des endophytes pré-sélectionnés de la rhizosphère du *Curcuma longa*

Actuellement, on s'intéresse de plus en plus au potentiel des endophytes pour leurs attributs favorisant la croissance des plantes et à leur utilisation en qualité d'agent de lutte biologique contre les phytopathogènes. Les endophytes améliorent la croissance des plantes en régulant leurs niveaux de phytohormone soit en augmentant la production d'auxines, de cytokines et de gibbérellines ou en diminuant les niveaux d'éthylène (Santoyo *et al.*, 2016). Les endophytes peuvent également faciliter l'absorption de nutriments naturels.

La solubilisation du phosphore est un mécanisme essentiel pour favoriser la croissance des plantes par le biais des endophytes (Li *et al.*, 2016). Le phosphore est l'un des macronutriments dont une grande quantité est nécessaire à la promotion de la croissance des plantes. Dans la plupart des cas, le phosphore est présent dans le sol sous forme inorganique insoluble ; il est intéressant de noter que différents endophytes ont la capacité de le convertir d'une source indisponible à une source disponible pour l'absorption par les plantes (Fan *et al.*, 2018). Dans la présente étude, tous les isolats ont le potentiel de solubiliser le phosphore excepté les bactéries endophytes C1CeEb2 et C1CeNk1. Cette étude a révélé C1GINk1 (Is=4,81) comme la bactérie favorisant la croissance des plantes avec la plus grande efficacité de solubilisation des phosphores parmi tous les isolats. Il est rapporté que les endophytes solubilisent le phosphore inorganique en réduisant le pH par l'élimination de l'activité acide organique, tandis que le phosphore organique est solubilisé par la production de diverses phosphatases, ce qui se traduit par un meilleur développement des plantes et un meilleur rendement (Rodríguez & Fraga, 1999). Les champignons solubilisant le phosphore peuvent être utilisés pour augmenter la production agricole et favoriser la croissance des plantes grâce à la disponibilité du phosphore (Liu *et al.*, 2014).

L'azote est plus abondamment requis par les plantes que le phosphore, et les plantes ont besoin de diazotrophes (microorganismes qui utilisent l'azote atmosphérique et le transforme en des formes plus utilisables telles que l'ammoniac) pour fixer l'azote. Bien que certains diazotrophes résident dans le sol et autour des racines des plantes, il existe également des études décrivant la présence de diazotrophes endophytes qui appartiennent pour la plupart au genre *Rhizobium* (Hirsch & Mauchline, 2015). Dans notre étude, on note que seule les endophytes bactériens fixent l'azote. Plusieurs endophytes ont été trouvés avec la capacité de fixer l'azote atmosphérique. L'habileté de fixation de l'azote par diverses bactéries endophytes a été signalée dans de nombreuses études et ce trait a contribué aux effets positifs sur les plantes cibles lors d'inoculations (Sun *et al.*, 2008). Puri *et al.* (2016) ont démontré que l'inoculation de *Brassica napus L.* avec la même souche *P. polymyxa P2b-2R* entraînait une fixation de l'azote et une stimulation de la croissance.

L'IAA est la principale phytohormone responsable de la croissance cellulaire, de la construction des tissus du xylème et du phloème, de la promotion et de l'augmentation de la croissance et de l'élongation des racines, qui à leur tour favorisent la croissance des plantes grâce à l'absorption des nutriments (Ribeiro & Cardoso, 2012 ; Vacheron *et al.*, 2013). Dans notre étude tous les isolats ont produit l'indole à différentes proportions excepté l'isolat fongique CIPdTb2 après 14 jours d'incubation. Les isolats CICEb1, CICEb2, CICEt2 et CIGINk1 sont ceux produisant les plus grandes quantités d'indole. Les résultats obtenus sont semblables aux travaux effectués par Ahemad & Khan (2010) ; Jasim *et al.* (2013). En effet, Mercado-Blanco & Lugtenberg (2014) estiment que, jusqu'à 80% des bactéries de la rhizosphère peuvent synthétiser des auxines et Ripa *et al.* (2019) ont rapporté que 56% des champignons endophytes isolés de *Triticum aestivum L.* peuvent produire de l'IAA. La production de molécules favorisant la croissance des plantes comme l'IAA est une importante contribution des endophytes qui peuvent stimuler en même temps des réponses rapides telles que l'élongation cellulaire et des réponses à long terme telles que la division cellulaire et la différenciation des tissus végétaux (Taghavi *et al.*, 2009).

En plus de l'IAA, la production d'ammoniac est l'un des mécanismes essentiels pour favoriser la croissance des plantes (Li *et al.*, 2016). La production d'ammoniac est un autre trait des MFCP qui a un rôle de signalisation parmi les interactions entre les plantes et les microbes (Ahemad & Khan, 2010). L'ammoniac produit peut-être absorbé par les plantes comme source d'azote pour l'allongement des racines et des pousses et favoriser ainsi la croissance des plantes ou pour favoriser la croissance des plantes de manière indirecte par la suppression des phytopathogènes (Deepa *et al.*, 2010 ; Nain *et al.*, 2012). Tous les isolats possèdent la capacité de produire de l'ammoniac.

L'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) joue un rôle important dans la biosynthèse de l'éthylène, une hormone inhibitrice de croissance des plantes. Dans cette étude, tous les endophytes pré-sélectionnés ont montré une activité ACC désaminase révélée par un test qualitatif excepté les isolats CIEaDj2 et CIPdEb2. Nos résultats sont étayés par des rapports antérieurs sur la production d'ACC désaminase par plusieurs souches isolées (Gupta & Pandey, 2019). La production d'ACC désaminase est l'une des caractéristiques importantes des MFPCP. L'ACC désaminase clive l'ACC, le précurseur immédiat de l'hormone végétale éthylène, pour produire de l' α -cétobutyrate et de l'ammoniac (Todorovic & Glick, 2008). Des études antérieures ont rapporté que l'inoculation de plantes avec des microorganismes producteurs d'ACC désaminase diminuait les niveaux d'éthylène, ce qui entraînait une diminution de l'inhibition de la croissance des plantes sous des stress biotiques et abiotiques (Glick *et al.*, 2007 ; Farwell *et al.*, 2007).

L'isolement d'endophytes locaux est d'un atout indéniable pour l'amélioration de la productivité au Cameroun. Ces endophytes possèdent de nombreuses propriétés favorisant la croissance des plantes qui pourraient être exploitées pour l'amélioration de la quantité et de la qualité des rhizomes de *Curcuma longa*.

3.2.3. Potentiel des endophytes sélectionnés pour la production de rhizomes de *Curcuma longa* et de curcumine

L'inoculation des plants de *Curcuma longa* avec différents isolats d'endophytes en condition semi-contrôlée a abouti non seulement à une amélioration quantitative, mais encore à une amélioration qualitative de ladite plante.

3.2.3.1. Potentiel des endophytes sélectionnés pour la production de rhizomes de *Curcuma longa*

Les résultats obtenus sur la croissance du *Curcuma longa* montrent que l'application des différents isolats améliore la croissance de cette plante (Figure 46). Le diamètre au collet et la surface foliaire des plantes ont augmenté à un rythme plus rapide jusqu'au 5^e mois de croissance et ont ensuite diminué. Cette diminution de la croissance à partir du 6^e mois de culture peut être attribuée au transport de nutriments des feuilles aux rhizomes. En général, dans toutes les cultures de tubercules, au fur et à mesure que la taille de l'organe de stockage souterrain augmente, il y aura une diminution graduelle de la croissance des parties aériennes (Kawakami, 1978).

L'efficacité des inocula sur la stimulation de la production de *Curcuma* pourrait s'expliquer par l'amélioration de la nutrition minérale du *Curcuma* par ceux-ci. Ces résultats vont dans le même sens qu'une étude (Jemo *et al.*, 2007) qui a démontré que la production de biomasse aérienne

et racinaire de *Mucuna pruriens* est significativement améliorée par l'inoculation mycorhizienne. Une étude analogue (Haro *et al.*, 2018) a montré que l'inoculation mycorhizienne du niébé avec les inocula locaux permet d'améliorer la production de biomasse et le rendement de la production de cette plante. Dans notre étude, dans la majorité des cas, l'application des fertilisants biologiques a eu un effet positif sur les paramètres de croissance (surface foliaire, diamètre au collet, nombre de feuilles) comparé au témoin quelle que soit la période de culture. Ces résultats corroborent avec ceux de Vinayarani & Prakash (2018) qui ont montré que l'application d'un champignon endophyte sur la culture de *Curcuma longa* favorise l'augmentation de la taille du plant et la production de rhizome.

L'application d'engrais organiques et des biofertilisants améliorent la productivité et la fertilité du sol, ce qui améliore le rendement des cultures de longue durée comme le *Curcuma* (Dinesh *et al.*, 2010). Dans notre étude, les masses des rhizomes pour les traitements TCIPdBi1 (17,89 g/plante) et TCISgDj1 (17,66 g/plante) sont les plus élevées suivies de celles des traitements TCICeDs1 (17 g/plante) et TCICeBe1 (16,10 g/plante) (Figure 46). Samanhudi *et al.* (2014) ont montré que les CMA augmentent le poids frais des rhizomes de *Temulawak*. Dans ce travail les CMA utilisés ont augmenté le rendement, mais celui obtenu par la majorité des endophytes sélectionnés leur était supérieur. En effet l'inoculation de suspension bactérienne de diazotrophes (*Pseudomonas* et *Bacillus sp.*) a montré une amélioration significative du poids des rhizomes (60%) et de la population microbienne du sol en comparaison aux témoins respectifs (Suryadevara & Ponmurugan, 2012). Kumar *et al.* (2013) ont inoculé *Azotobacter chroococcum* dans le rhizome de *Curcuma longa* et ont observé l'augmentation du nombre de feuilles, de la hauteur des pousses, de la biomasse des pousses et de la biomasse des rhizomes. Certaines études Jasim *et al.* (2014) ; Kumar *et al.* (2016) ; Bamisope *et al.* (2018) ont démontré le lien entre les endophytes, la production de métabolites secondaires et la croissance de la plante. Les espèces rhizosphériques et endophytes sont impliquées directement ou indirectement dans la promotion de la croissance et la gestion des maladies chez les plantes (Kumar *et al.*, 2017).

3.2.3.2. Potentiel des endophytes sélectionnés pour la production de curcumine

Les résultats montrent que la teneur en curcumine a augmenté pour la plupart des traitements ayant reçu les endophytes sélectionnés. Celle-ci est meilleure pour les traitements ayant reçu les inocula constitués des isolats CICEk1 (13,83 µg/mL), CISgDj1 (10,02 µg/mL) et CIPdBi1 (10,04 µg/mL) (Figure 48). L'inoculum à base de l'endophyte CICEk1 est le plus efficace de tous les inocula utilisés dans cette étude pour la production de curcumine. Tout comme la masse de rhizome, les CMA utilisés ont augmenté la teneur en curcumine mais celle obtenue par la majorité des endophytes sélectionnés leur était supérieur. En effet, Yamawaki *et al.*, (2013) montrent que

l'inoculation de CMA a des effets bénéfiques sur la croissance du *Curcuma* et la production de curcumine. Ils ont montré que l'inoculation de CMA a entraîné une augmentation de la production de biomasse et de l'absorption des nutriments du *Curcuma*. De plus, la concentration de curcumine, contenue dans le rhizome, a augmenté dans le traitement CMA. Ces résultats indiquent que l'inoculation de CMA a des effets bénéfiques sur la croissance du *Curcuma* et la production de curcumine. L'inoculum à base de CICEk1 augmente deux fois la teneur en curcumine des rhizomes. En outre, 52% de traitements inoculés favorisent une augmentation de la teneur en curcumine supérieure au traitement urée et 74% de traitements inoculés favorisent une augmentation de la teneur en curcumine supérieure au témoin. Les endophytes ont stimulé efficacement le principe actif de la plante. Ces résultats vont dans le même sens que ceux d'El Gendy *et al.*, (2013), qui ont montré une amélioration de la teneur en huile essentielle, flavonoïdes et polyphénol de la citronnelle par utilisation de bactéries bénéfiques endophytes.

L'inoculation de ces endophytes seul ou en combinaison en champ serait efficace pour l'augmentation des rendements et des teneurs en curcumine. Ceci laisserait donc entendre que les endophytes sélectionnés pourraient avoir des propriétés antimicrobiennes ou mieux encore possèderaient la capacité de produire des molécules permettant à la plante de résister aux différents stress biotiques et abiotiques.

3.2.4. Propriétés antimicrobiennes des endophytes sélectionnés et antioxydantes des extraits de *Curcuma longa*

3.2.4.1. Potentiel des endophytes sélectionnés pour la stimulation des activités antimicrobiennes

Les MFPC ont attiré beaucoup d'attention en qualité d'agents de lutte biologique pour leur rôle dans la lutte contre les maladies des plantes, bien que leur plein potentiel n'ait pas encore été atteint. Par conséquent, de nombreux endophytes bactériens favorisent indirectement la croissance des plantes en inhibant la croissance et les activités des phytopathogènes par la production de substances antimicrobiennes (Wu *et al.*, 2016). Plusieurs espèces de champignons endophytes sont maintenant testées avec succès comme agents de lutte biologique contre les champignons phytopathogènes. Cette stratégie est très prometteuse pour l'amélioration de la productivité des cultures et comme alternative aux fongicides chimiques et aux engrais synthétiques (Saravanakumar *et al.*, 2016).

Dans la présente étude, 23 endophytes sélectionnés ont été évalués *in vitro* pour leur potentiel antagoniste vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* responsable d'importantes maladies de flétrissement vasculaire chez les plantes et également de la pourriture des rhizomes. Nos résultats ont clairement montré que, parmi les 23 endophytes testés les isolats CIGINk1 et CIKbDI2 sont

les plus efficaces contre *Fusarium oxysporum* et ont considérablement réduit la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* avec respectivement des pourcentages d'inhibition de 80 et 60 % (Figure 51/c). Cependant, les effets dépendaient de chaque endophyte testé. Des effets similaires ont été rapportés par différents auteurs en utilisant des champignons endophytes isolés du concombre et d'autres plantes médicinales et identifiées comme *Trichoderma*, *Alternaria*, *Phomopsis*, *Colletotrichum*, *Phoma*, et *Acremonium* (Saravanakumar *et al.*, 2016 ; Xiang *et al.*, 2016). D'autres études ont par ailleurs signalé le rôle clé joué par les endophytes contre les champignons pathogènes comme celle de Miles *et al.* (2012) qui a étudié le potentiel de contrôle biologique de 100 endophytes fongiques associés à *Espeletia sp.* contre les agents pathogènes courants des cultures, notamment *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* et *Phytophthora infestans*. Leurs résultats ont indiqué que toutes les souches endophytes étaient très efficaces contre de nombreux agents pathogènes et l'effet inhibiteur était dû à la production de métabolites bioactifs par les endophytes. D'autre part, Amaresan *et al.* (2012) ont découvert que six isolats bactériens d'endophytes présentaient une activité antagoniste contre *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum capsici* et *Pythium sp.*

Le flétrissement bactérien, la maladie vasculaire causée par la bactérie du sol *Ralstonia solanacearum*, est considérée comme un facteur limitant majeur pour de diverses cultures dans le monde, y compris les cultures vivrières de subsistance, les petites cultures commerciales agricoles et les cultures industrielles, y compris les légumes (*Solanum tuberosum*, *S. lycopersicum*, *Capsicum spp.*), banane (*Musa spp.*), arachides (*Arachis hypogaea*) et tabac (*Nicotiana tabacum*) (Ji *et al.*, 2005). Dans cette étude, les endophytes isolés et sélectionnés du *Curcuma longa* ont été testés contre *Ralstonia solanacearum*. La plupart des isolats ont montré une activité antagoniste contre *Ralstonia solanacearum*. Ce résultat est conforme à la littérature. En effet, Zhou *et al.*, 2018 ont démontré que les isolats BJ-1 et BJ-31 sont efficaces pour lutter contre les maladies à *Ralstonia solanacearum* sur le gingembre. Des résultats similaires ont été rapportés sur les bactéries endophytes du plant de tomate. Il faut noter que les isolats ClCeEb2 et ClCeEb1 sont les plus efficaces contre *Ralstonia solanacearum* avec respectivement des diamètres d'inhibitions de 2,3 et 1,8 cm (Figure 51/a).

Pythium myriotylum est un agent causal de la pourriture molle des racines dans de nombreuses cultures économiquement importantes, notamment les arachides, la tomate, le blé, le concombre, le soja, le sorgho, le tabac, le chou, mais également le *Curcuma longa*. Le criblage *in vitro* d'isolats endophytes pour un antagonisme contre *Pythium myriotylum* a rapporté que les isolats ClCeEb2 suivi de ClCeTb2 sont plus efficaces et présentent une inhibition > 60% (Figure 51/b). Un travail récent (Meshanki *et al.*, 2018) a démontré que quatre isolats d'endophytes bactériens étaient très efficaces, car ils inhibaient plus de 70 % la croissance de *Pythium spp.* La

capacité des endophytes bactériens à supprimer la croissance de l'agent pathogène peut se refléter dans leur capacité à produire une enzyme hydrolytique responsable de la dégradation de la paroi cellulaire de l'agent pathogène. Les présents résultats sont soutenus par Dinesh *et al.* (2015) qui ont rapporté que l'isolat de *Bacillus GRB35 amyloliquefaciens* présentait une inhibition de 78,51% de la croissance de *Pythium myriotylum* dans le gingembre.

Phytophthora megakarya est l'un des agents pathogènes de la classe des *Oomycètes* identifié sur *Theobroma cacao*. C'est le plus virulent de l'espèce *Phytophthora* qui est responsable de la pourriture brune du cacao. Dans les conditions de précipitations fortes et fréquentes au Cameroun, *Phytophthora megakarya* peut entraîner des pertes de rendement allant de 50 à 70% voir 100% lorsqu'aucune mesure de contrôle n'est prise (Nwaga, 1984 ; 1988). Dans notre étude, seul un des endophytes testés *in vitro* contre *Phytophthora megakarya* montre un antagonisme avec un pourcentage d'inhibition supérieur à 50%. Les isolats ClSgNk3, ClCaTb2, ClKbDl3 donnent les meilleurs pourcentages d'inhibition avec respectivement des valeurs de 55%, 41%, et 41% (Figure 51/d). Ces travaux sont analogues à ceux de Fadiji & babalola (2020) ; Agnes *et al.* (2021) qui ont montré que des endophytes inhibent la croissance de *Phytophthora palmivora* sur le plant de cacao *in vitro* et *in vivo*. Les endophytes peuvent inhiber l'infection et la prolifération des agents pathogènes dans l'hôte directement via la production d'antibiotiques, la production d'enzymes, la compétition et le parasitisme ou indirectement en induisant des réponses de résistance intrinsèques à l'hôte (Fadiji & babalola, 2020).

Ces résultats suggèrent que le *Curcuma longa* possède une diversité d'endophytes en son sein, à partir desquels les agents de lutte biologique potentiels contre les pathogènes des plantes tels que *Fusarium oxysporum*, *Ralstonia Solanacearum*, *Pythium myriotylum*, *Phytophthora megakarya* peuvent être produits. Dans cette étude, certains isolats ont montré des effets antagonistes sur 2, 3 ou 4 pathogènes en même temps, par exemple, les isolats ClCaTb1 et ClKbNk1. Ceux-ci seraient un atout non négligeable pour la lutte biologique contre les maladies des plantes.

3.2.4.2. Potentiel des endophytes sélectionnés pour la stimulation des activités antioxydantes

Les antioxydants font partie des éléments clés qui protègent les plantes des dommages oxydatifs causés par les stress abiotiques. Les thiols sont des antioxydants importants et des études récentes ont montré que leur contenu varie en fonction des groupes de denrées alimentaires. Les résultats montrent que l'application des isolats ClCeBe1, ClCeTb2 et ClCeDs1 sur le *Curcuma longa* contribuent à une augmentation des teneurs en TT avec des valeurs respectives de 75,67 ; 80,79 et 132,37 $\mu\text{mol/g}$ (Figure 53). L'importance biologique des composés thiols est liée à l'activité du groupe sulfhydryle impliqué dans les réactions antioxydantes et de désintoxication

(Noctor *et al.*, 2012 ; Sytykiewicz, 2016). Dans les molécules de protéines, les acides aminés contenant des groupes thiol et le soufre sont les sites les plus sensibles à l'action des ERO (sharma *et al.*, 2012). Les ERO peuvent réagir avec les résidus cystéine pour former un acide sulfénique qui peut conduire par la suite à la formation de plusieurs produits, dont des disulfures (sharma *et al.*, 2012).

Le GSH est une petite molécule de thiol intracellulaire qui est considérée comme un puissant antioxydant non enzymatique. Le GSH est un tripeptide composé de cystéine, d'acide glutamique et de glycine et est le thiol non protéique le plus abondant dans les cellules. Son groupe actif est le groupement thiol (-SH) de la cystéine. Le GSH est maintenu à l'état réduit. Dans notre étude, les isolats ClCeDs1, ClCeBe1, ClCeDs2 sont ceux qui appliqués sur *Curcuma longa* ont favorisé une meilleure stimulation de production de GSH comparés aux témoins avec des valeurs respectives de 15,27 ; 14,71 ; 14,45 mmol/g (figure 52). Le GSH améliore la tolérance des plantes à différents stress abiotiques tels que : la salinité, la sécheresse, les températures élevées ou basses et la toxicité métallique (Nahar *et al.*, 2015a, b). Les thiols et le glutathion (GSH) sont deux des métabolites essentiels qui agissent comme détoxiquant et antioxydants (Noctor *et al.*, 2012 ; Sytykiewicz, 2016).

Les caroténoïdes sont des tétraterpénoïdes synthétisés dans les plantes, dans les organismes photosynthétiques ainsi que dans certaines bactéries, levures et moisissures non photosynthétiques. Selon leur composition chimique, ils sont classés en carotènes ou en xanthophylles. Tels que les TT, le GSH, et certains composés de faible poids moléculaire contenant des groupes sulfhydryle, les caroténoïdes sont considérés comme des importants antioxydants non enzymatiques (Lombardi & Sebastiani, 2005). Dans notre étude, nous avons évalué l'habileté des endophytes à stimuler la production des caroténoïdes chez le *Curcuma longa* (Figure 54). Les isolats ClKbDI2 et ClCeBe1 sont ceux qui multiplient les plus grandes quantités de caroténoïdes notamment 6,1 et 5,99 mg/g de poudre de *Curcuma longa*. Cette présence de caroténoïdes dans la plante lui confère des propriétés antioxydantes. En effet, ce sont des antioxydants efficaces qui éliminent le radical superoxyde et les radicaux peroxydes (Stahl & Sies, 2003). Ils peuvent réagir avec les radicaux libres de plusieurs manières, à savoir : transfert d'électrons, transfert ou ajout d'atomes d'hydrogène. Des études ont révélé que les caroténoïdes pourraient également protéger les plantes du stress oxydatif en modulant les propriétés physiques des membranes photosynthétiques avec une implication du cycle de la xanthophylle (Stahl & Sies, 2003).

L'étude montre que, les teneurs en GSH de ClCeDs1, en TT de ClCeDs1 et en CAR de ClKbDI2 sont respectivement 1,13 ; 1,91 et 2,29 fois supérieures à celle du témoin. Ces travaux témoignent à suffisance de l'efficacité des endophytes pour la stimulation de la production des molécules antioxydantes chez le *Curcuma longa*.

En somme, les meilleurs isolats pour l'amélioration de la production de *Curcuma longa* (Tableau XXIV) ont permis de retenir cinq isolats dont quatre isolats bactériens (CICeNK1, CICaTb1, CICeDs1, CISgDj1) et un isolat fongique (CIPdBi1).

Tableau XXIV. Synthèse sur les 3 meilleurs isolats d'endophytes (bactéries et champignons (C)) pour l'amélioration de la production de *Curcuma longa* et de métabolites fonctionnels

	Production				
	Rhizomes	Curcumine	Glutathion	Thiol totaux	Caroténoïdes
Meilleurs isolats	CIPdBi1(C)	CICeNk1	CICeDs1	CICeDs1	CIKbD12
	CISgDj1	CIPdBi1	CICeBe1	CICeBe1	CICeBe1
	CICeDs1	CISgDj1	CICeDs2	CICeTb2	CISgNk3

Les isolats CICeNK1, CIPdBi1 et CISgDj1 sont retenus pour leur potentiel biofertilisant ; l'isolat CICaTb1 pour son potentiel biopesticide contre les quatre agents pathogènes des plantes testés dans le cadre de l'étude et l'isolat CICeDs1 pour son potentiel antioxydant.

De plus, il faut noter que des cinq isolats retenus, trois d'entre eux ont été isolés à partir des milieux de culture constitués d'extraits de sols et d'extraits de *Curcuma longa*. Ceci montrerait que les milieux classiques d'isolement ne favorisent pas l'isolement de microorganismes locaux à fortes potentialités. Dès lors, l'utilisation de substrats locaux pourrait être une nouvelle approche pour la fabrication de milieu de culture.



**CONCLUSION GÉNÉRALE
ET PERSPECTIVES**

CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette étude avait pour objectif de déterminer l'effet produit par les endophytes locaux sur la production de rhizomes, de curcumine et sur la stimulation des activités antioxydantes et antimicrobiennes du *Curcuma longa*. Après 7 mois de culture de *Curcuma longa* sur 8 substrats des 5 zones agroécologiques du Cameroun, une croissance moyenne et une production de rhizome comprise entre 5 et 11,44 g/plante est obtenue. La meilleure production de rhizome est obtenue à partir des substrats des zones agroécologiques I (Touboro (10,84 g/plante), II (11,16 g / plante) et III (11,44 g / plante) qui ont des rendements en production de rhizomes 2 fois supérieur au substrat de la zone IV (5g/plante) qui a la plus faible production. La culture de *Curcuma longa* est adéquate sur des sols à texture argileuse et Limono-argilo-sableuse. Le *Curcuma longa* préfère les sols moyennement acides à neutre et riche en matière organique. L'activité biologique est plus intense pour les sols des zones II et III.

Au total, 105 isolats d'endophytes sont isolés de *Curcuma longa*. Cette étude évoque que l'isolement des endophytes est fonction du substrat de piégeage et qu'il existe une diversité d'endophytes de *Curcuma longa*. Le nombre d'endophytes est plus élevé pour la zone agroécologique V avec 43 endophytes et plus bas pour la zone agroécologique II qui n'enregistre que 8 endophytes. Les endophytes fongiques ClEaDj1 ; ClEaDj2, ClEaDs1 sont spécifiques aux zones I (substrat du Djarengol) et III ; tandis que, ClCaTb1, ClCaBi1, ClCaDs1 spécifiques aux zones I (substrat de Touboro), II et III ; De plus, ClCeTb1, ClCeDs1 ; ClCeDs2, ClCeBe1, ClCeNk1 sont spécifiques aux zones I (Touboro), III et V (substrats de Bertoua et Nkometou). L'endophyte bactérien ClEaEb1 est spécifique à la zone V (substrat de Bertoua).

Les endophytes locaux tolèrent de grands niveaux de stress abiotiques. De plus, ces endophytes possèdent de nombreuses propriétés favorisant la croissance des plantes. La majorité des isolats pré-sélectionnés produisent des enzymes de lyse particulièrement la protéase, la catalase, l'uréase, la cellulase et l'amylase qui peuvent intervenir dans la lutte biologique. La plupart des isolats produisent le phosphore, l'ACC désaminase, les isolats bactériens fixent l'azote et tous les isolats présélectionnés produisent de l'indole et de l'ammoniac. Les 20 isolats bactériens pré-sélectionnés sont regroupés en sept morphotypes qui pourraient appartenir aux genres *Pseudomonas* ; *Bacillus* et *Rhizobium* tandis que les six isolats fongiques retenus sont regroupés en six morphotypes et dont cinq appartiennent aux Ascomycota et un aux Basidiomycota.

Les endophytes augmentent le rendement de production en rhizomes et les teneurs en curcumine de *Curcuma longa* sur substrat stérile et en conditions semi-contrôlées avec des rendements supérieurs à celui obtenu sur un sol ayant reçu l'urée comme engrais conventionnel. Les endophytes ClPdBi1 (issus de la zone II) et ClSgDj1 (issus de la zone I) sont ceux qui favorisent les plus grandes productions en rhizomes et les endophytes ClCeNk1 (issus de la zone

V), ClCaTb1 (issus de la zone I) et ClPdBi1 (issus de la zone II) les plus grandes teneurs en curcumine. L'isolat ClCeNk1 permet de doubler la teneur en curcumine comparé au témoin (14 µg/mL pour ClCeNk1 contre 7 µg/mL pour le témoin). Ceci pourrait contribuer à réduire le cycle de production de la plante de 2 ans à 1 an. Ainsi, la production de *Curcuma longa* et de curcumine dépend de l'interaction plante-endophyte et varie d'un endophyte à un autre. Ces résultats orientent vers le choix de certains isolats proposés pour des essais en champ (ClCaTb1 ; ClCeDs1 ; ClCeNK1 ; ClSgDj1 et ClPdBi1).

L'association endophyte-*Curcuma longa* augmente les effets antimicrobiens et permettrait une meilleure croissance de celle-ci lorsqu'elle est attaquée. On note que 52% d'isolats sélectionnés ont une activité contre *Fusarium oxysporum* ; 43% d'isolats inhibent la croissance *Pythium myriotylum* ; 35% d'isolats ont un effet antagoniste sur *Phytophthora megakarya* et 56% d'isolats ont un effet inhibiteur sur le développement de *Ralstonia solanacearum*. Ces isolats proviennent de toutes les zones agroécologiques. L'activité antagoniste varie en fonction de l'agent pathogène. Les isolats ClCaTb1 (issus de la zone I) et ClKbNk1 (issus de la zone V) ont présenté des effets antagonistes contre tous les pathogènes. De plus, certains endophytes sélectionnés favorisent l'augmentation des teneurs en glutathion réduit et en thiols totaux et la plupart des endophytes sélectionnés augmentent les teneurs en caroténoïdes de *Curcuma longa*. En général, l'association endophytes-*Curcuma* stimulent la production de *Curcuma longa*, celles de curcumine et des activités antioxydantes et antimicrobiennes de la plante.

PERSPECTIVES

Des recherches doivent être entreprises suite à ce travail de thèse pour mieux valoriser l'utilisation des endophytes, une alternative durable, moins coûteuse et respectueuse de l'environnement pouvant accroître les rendements de production du *Curcuma*, mais également d'autres cultures. Ces travaux ultérieurs pourraient se focaliser sur :

- ❖ l'identification moléculaire des isolats sélectionnés au cours de cette étude ;
- ❖ la réalisation d'essais en champs multi-locaux afin de mettre à la disposition des agriculteurs ces souches efficaces ;
- ❖ l'évaluation des souches sur d'autres cultures d'intérêt ;
- ❖ la formulation de biopesticides et de biofertilisants ;
- ❖ la réalisation de la cartographie des microorganismes au Cameroun.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adesemoye, A.O., & Egamberdieva, D. (2013). Beneficial Effects of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Improved Crop Production: Prospects for Developing Economies. In D.K. Maheshwari et al. (eds.). *Bacteria in Agrobiolgy: Crop Productivity* (p. 45-63). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag;
- Aggarwal, B. B., Sundaram, C., Malani, N., & Ichikawa, H. (2007). Curcumin: the Indian solid gold. *Advances in experimental medicine and biology*, 595, 1–75. https://doi.org/10.1007/978-0-387-46401-5_1 ;
- Aggarwal, N.B., Jain, S., Agarwal, N.K., Mediratta, P.K., & Sharma, K.K. (2011). Modulation of pentylenetetrazole-induced kindling and oxidative stress by curcumin in mice. *Phytomedicine*, 18(8-9), 756-759. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.11.007> ;
- Agnes, V.S., Hahuly, M.V., & Henuk, B.D. (2021). Endophytic fungi as potential biocontrol agents of *Phytophthora palmivora* in the cocoa plant. *Biodiversitas.*, 22(5), 2601-2609. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220519> ;
- Ahemad, M., & Khan, M.S. (2010). Plant growth promoting activities of phosphate-solubilizing *Enterobacter asburiae* as influenced by fungicides. *Eurasian Journal of Biosciences*, 4, 88-95;
- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 26(1), 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001> ;
- Ajijah, N., Setiyono, R. and Bermawie, N. (2005). *Selection Criteria for Yield on Ginger (Curcuma xanthorrhiza Roxb.)*. Proceedings of Seminar National TOI XXVII, Batu;
- Akram, M., Shahab-Uddin, Afzal, A., Khan, U., Abdul, H., Mohiuddin, E. & Asif, M. (2010). *Curcuma Longa* and Curcumin: A Review Article. *Romanian Journal of Biology-Plant Biology*, 55(2), 65–70;
- Allagui M. & Lepoivre P. (1996). Comparaison de différentes techniques d'inoculation du piment par *Phytophthora nicotianae* var *parasitica*. *Agronomie*, 16(7), 433-440. <https://doi.org/10.1051/agro:19960703> ;
- Amalraj, A., Pius, A., Gopi, S., & Gopi, S. (2017). Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives - A review. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(2), 205–233. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.05.005> ;
- Amaresan, N., Jayakumar, V., Kumar, K., & Thajuddin, N. (2012). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria and their effect on tomato (*Lycopersicon*

- esculentum*) and chilli (*Capsicum annuum*) seedling growth. *Annals of Microbiology*, 62, 805–810. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0321-7> ;
- Amin, N. (2013). Diversity of endophytic fungi from root of Maize var. *Pulut* (waxy corn local variety of South Sulawesi, Indonesia). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(8), 148–154;
- Ammor, M. S., & Mayo, B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat science*, 76(1), 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.022> ;
- Andrade-Bustamante, G., Manelik García-López, A., Cervantes-Díaz, L., Aíl- Catzim, C.E., Borboa-Flores, J., & Rueda-Puente, E.O. (2017). Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México : control de fitopatógenos. *Revista De La Facultad De Ciencias Agrarias UNCuyo*, 49(1), 127–142. <https://revistas.uncu.edu.ar/ojs/index.php/RFCA/article/view/3110>
- Aneja, K. (2006). *Experiments in Microbiology and Plant Pathology and Biotechnology*. New Delhi: New Age International Pvt. Ltd;
- Appunu, C., Reddy, L.M., Reddy, C.V., Sen, D., & Dhar, B. (2009). Symbiotic diversity among acid-tolerant bradyrhizoidal isolates with cowpea. *Journal of Agricultural Sciences*, 4(3), 126–131. <https://doi.org/10.4038/jas.v4i3.1651> ;
- Ariffin, H., Abdullah, N., Umi, Y., Shirai, Y., & Hassan, M. (2006). Production and characterization by *Bacillus pumilus* EB3. *International Journal of Engineering and Technology*, 3(1), 47-53;
- Arshad, M., Saleem, M., & Hussain, S. (2007). Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. *Trends in biotechnology*, 25(8), 356–362. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.05.005> ;
- Atkinson, J., Epan, R.F., & Epan, R.M. (2008). Tocopherols and tocotrienols in membranes: A critical review. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(5), 739–764. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.11.010>;
- Babalola, O.O. (2010). Ethylene quantification in three rhizobacterial isolates from *Striga hermonthica*-infested maize and sorghum. *Egyptian Journal of Biology*, 12, 1–5;
- Bacon, C.W., & Hinton, D.M. (2002). Endophytic and biological control potential of *Bacillus mojavensis* and related species. *Biological Control*, 23(3), 274-284. <https://doi.org/10.1006/bcon.2001.1016> ;
- Bahdjolbé, M. (2019). *Symbiose Vigna sp. - Bradyrhizobium : étude préliminaire sur la caractérisation et la sélection des isolats pour les performances du niébé et du sorgho* (Mémoire de master en Microbiologie). Université de Yaoundé I;

- Bamisope, B., Chandra, K., Komivi, S., Ravindran, K., Oluwatoyin, G., Mubasher, H., Qasim, M., & Wang, L. (2018). Prospects of endophytic fungal entomopathogens as biocontrol and plant growth promoting agents: an insight on how artificial inoculation methods affect endophytic colonization of host plants. *Microbiological Research*, 217, 34-50. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.08.016> ;
- Bardin, M., Ajouz, S., Comby, M., Lopez-Ferber, M., Graillot, B., Siegwart, M., & Nicot, P. (2015). Is the efficacy of biological control against plant diseases likely to be more durable than that of chemical pesticides? *Frontiers in Plant Science*, 6, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00566>
- Bashan, Y. & de-Bashan, L. (2005). BACTERIA | Plant Growth-Promoting. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, 103-15. <https://doi.org/10.1016/B0-12-348530-4/00513-0> ;
- Begoude, D., Saliou, S., Yondi, T., Owona, D., Ndacnou, M. & Araki S. (2016). Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associated with Cassava (*Manihot esculenta Crantz*) Cultivars as Influenced by Chemical Fertilization and Tillage in Cameroon. *Journal of Applied Bioscience*, 98, 9270-9283. <https://doi.org/10.4314/jab.v98i1.4> ;
- Behailu, M. & Weyessa, G. (2019). Growth, yield, and quality responses of turmeric (*Curcuma longa L.*) to nitrogen fertilizer rate and timing of its application. *Acta Agrobotanica*, 72(3), 1781. <https://doi.org/10.5586/aa.1781>;
- Bern, M. & Goldberg, D. (2005). Automatic selection of representative proteins for bacterial phylogeny. *BMC Evolutionary Biology*, 5(34), 1-17. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-5-34>;
- Bhadur, G., & Rani, R. (2020). Agricultural crops disease identification and classification through leaf images using machine learning and deep learning technique: a review. *SSRN Electronic Journal*, 1–9. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3564973>;
- Bhattacharyya, P.N., & Jha, D.K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9> ;
- Bipfubusa, M. (2006). *Influence of Mixed Mud Inputs from Fresh and Composted Paper Mills on Soil Aggregation Dynamics, Soil Bacterial Diversity and Crop Yields*. (Ph.D. Thesis). Laval University;
- Bishop, P.E., & Jorerger, R.D. (1990). Genetics and molecular biology of an alternative nitrogen fixation system. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 41, 109–125. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.41.060190.000545> ;
- Bloomer, R.J., & Fisher-Wellman, K.H. (2008). Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. *Gender Medicine*, 5(3), 218-28. <https://doi.org/10.1016/j.genm.2008.07.002>
- Bolwell, G.P. (1999). Role of active oxygen species and NO in plant defence responses, *Current Opinion in Plant Biology*, 2(4) 287–294. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)80051-X](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)80051-X) ;

- Borah, K. K., Bhuyan, B., & Sama, H.P. (2010). Lead arsenic, fluoride, and iron contamination of drinking water in the Tea garden belt of Darrang district, Assam, India. *Environnemental Monitoring and assessment*, 169, 347-352. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-1176-2> ;
- Bougnom, B. P., Mbassa, G. F., Sontsa-Donhoung, A.-M., Molemb, N. A., Effa, O. P., & Etoa F.-X. (2020). Green waste compost with wood ash additive improves physico-chemical and biological parameters of an Oxisol, and soybean (*Glycine max* L) yield. *International journal of Horticulture, Agriculture and Food science*, 4(2), 21-28. <https://doi.org/10.22161/ijhaf.4.2.2> ;
- Browne, R.W., Bloom, M.S., Schisterman, E.F., Hovey, K., Trevisan, M., Wu, C., Liu, A., Wactawski-Wende, J. (2008). Analytical and biological variation of biomarkers of oxidative stress during the menstrual cycle. *Biomarkers*, 13(2), 160-83. <https://doi.org/10.1080/13547500701775563>;
- Bucking, H. & Kafle, A. (2015). Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the Nitrogen Uptake of Plants: Current Knowledge and Research Gaps. *Agronomy*, 5(4), 587-612. <https://doi.org/10.3390/agronomy5040587> ;
- Busby, P., Ridout, M., & Newcombe, G. (2016). Fungal endophytes: modifiers of plant disease. *Plant Molecular Biology*, 90, 645–655. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0412-0>;
- Canny, M.J. & Huang, C.X. (1993). What is in the intercellular spaces of roots? Evidence from the cryo-analytical-scanning electron microscope. *Physiologia Plantarum*, 87(4), 561-568. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1993.tb02507.x> ;
- Carbù, M., González-Rodríguez, V., Garrido, C. Husaini, A.M., & Cantoral, J.M. (2016). New biocontrol strategies for strawberry fungal pathogens. In: Husaini A, Neri D (eds). *Strawberry: growth, development and diseases*. Boston: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781780646633.0196>;
- Card, S., Johnson, L., Teasdale, S., & Caradus, J. (2016). Deciphering endophyte behaviour: the link between endophyte biology and efficacious biological control agents. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(8), 1–20. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw114>;
- Cardon, D. (2005). *Colorants et tannins. Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3*. Pays Bas: PROTA Backhuys Publishers/CTA;
- Chaiharn, M., Chunchaleuchanon, S., Kozo, A., & Lumyong S. (2008). Screening of rhizobacteria for their plant growth promoting activities. *KMITL science and technology journal*, 8, 18–23;
- Chakraborty A., Kundu S., Mukherjee S., & Ghosh B. (2019). Endophytism in Zingiberaceae: Elucidation of Beneficial Impact. S. Jha (ed.). *Endophytes and Secondary Metabolites* (p1-26). Switzerland: Springer Nature;
- Chareprasert, S., Piapukiew, J., Thienhirun, S., Whalley, A., & Sihanonth, P. (2006). Endophytic fungi of teak leaves *Tectonagrandis* L. and rain tree leaves *Samanea saman* Merr. *World*

- Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22, 481-486. <https://doi.org/10.1007/s11274-005-9060-x> ;
- Chen, Y., Yan, F., Chai, Y., Liu, H., Kolter, R., Losick, R., & Guo J.-H. (2013). Biocontrol of conserved genes mediating biofilm formation. *Environmental Microbiology*, 15(3), 848–864. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02860.x> ;
- Chirangi, k., Dhakre, S., & Sharma, A., (2004). Growth and instability of turmeric production in North-East: Region. *Agricultural Situation*, 66, 463-466;
- CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute), 2012. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard 9th ed. USA: M07-A9. Wayne, Pa ;
- Compant, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Clément, C., & Barka, A.E. (2005). Endophytic colonization of *Vitis vinifera L.* by plant growth promoting bacterium *Burkholderia sp.* Strain PsJN. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(4), 1685-1693. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.1685-1693.2005> ;
- Comporta, P., (1985). Antagonisme in vitro de *Trichoderma spp.* vis-à-vis de *Rhizoctonia solanikuln.* *Agronomie*, 5(7), 613-620. <https://doi.org/10.1051/agro:19850707>;
- Dabin, B., (1985). Les sols tropicaux acides. *Cahiers ORSTOM, Série Pédologie*, 21(1), 7-19 ;
- Danso, S., & Eskew, D. (1984). Enhancing Biological Nitrogen Fixation. *Food and Agriculture*, 26(2), 29-34;
- Darvesh, A. S., Carroll, R. T., Bishayee, A., Novotny, N. A., Geldenhuys, W. J. & Van der Schyf, C. J. (2012). Curcumin and neurodegenerative diseases: a perspective. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 21(8), 1123–1140. <https://doi.org/10.1517/13543784.2012.693479> ;
- Dat, J.F., Van Breusegem, F., Vandenabeele, S., Vranová, E., Van Montagu, M., & Inze, D. (2000). Dual action of active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 57, 779–795. <https://doi.org/10.1007/s000180050041>;
- Day, P. (1953). Experimental Confirmation of Hydrometer Theory. *Soil Science*, 75(3), 181-186. <https://doi.org/10.1097/00010694-195303000-00002> ;
- De Moffarts, B., Portier, K., Kirschvink, N., Coudert, J., Fellmann, N., Van Erck, E., Letellier, C., Motta, C., Pincemail, J., Art, T., & Lekeux, P. (2007). Effects of exercise and oral antioxidant supplementation enriched in (n-3) fatty acids on blood oxidant markers and erythrocyte membrane fluidity in horses. *The Veterinary Journal*, 174(1),113-21. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.06.001> ;
- Dean, D.R. & Jacobson, M.R. (1992). Biochemical genetics of nitrogenase. In: Stacey, G., Burris, R.H., Evans, H.J. Eds. *Biological Nitrogen Fixation* (p.763-834). New York: Chapman and Hall;

- Deepa, C., Dastager, S.G., & Pandey, A. (2010). Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria from non-rhizospheric soil and their effect on cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seedling growth. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 1233-40. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0293-y> ;
- Deepthi, A.S. & Ray, J.G. (2018). Endophytic diversity of hanging velamen roots in the epiphytic orchid *Acampe praemorsa*. *Plant Ecology & Diversity*, 11(5-6), 649-661. <https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1610911> ;
- Delaveau, P. (1987). *Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments*. Paris : Albin Michel ;
- Dellarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et documentation*. Paris : Lavoisier ;
- Deshmukh, A., Patil, V., Kale, S., & Dudhare, M. (2018). Isolation, Characterization and Identification of Endophytes from *Curcuma longa*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, 1040-1050;
- Dinesh, R., Srinivasan, V., Hamza, S., & Manjusha, A. (2010). Short term incorporation of organic manures and biofertilizers influences biochemical and microbial characteristics of soil under an annual crop (*Curcuma longa* L.). *Bioresource Technology*, 101(12), 4697-4702. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.108> ;
- Dinesh, R., Anandaraj, M., Kumar, A., Bini, Y.K., Subila, K.P. & Aravind, R. (2015). Isolation, characterization, and evaluation of multi-trait plant growth promoting rhizobacteria for their growth promoting and disease suppressing effects on ginger. *Microbiology Research*, 173, 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.01.014> ;
- Doebereiner, J. (1994). Isolation and identification of aerobic nitrogen fixing bacteria. In K. Alef and P. Nannipieri, Eds. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry* (p. 134-141). Cambridge, MA, USA, Academic;
- Dohare, P., Garg, P., Sharma, U., Jagannathan, N. R., & Ray, M. (2008). Neuroprotective efficacy and therapeutic window of curcuma oil: in rat embolic stroke model. *BMC complementary and alternative medicine*, 8, 55. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-8-55>;
- Dohroo, N.P. (2005). Diseases of ginger. In: Ravidram, P.N. and Nirmal Babu, K. (eds.) *Ginger - the genus Zingiber*. Florida: CRC Press.
- Dohroo, N.P. (2007). Diseases of Turmeric. In: Ravidram, P.N. and Nirmal Babu, K. (eds.) *Turmeric-The Genus Curcuma*. Florida: CRC Press.
- Douris, P.C., Elokda, A.S., Handrakis, J.P., Principal, S., Rondo, E., Bovell, J., Coughlin, W.P., Mastroianni, C.N., Wong, M.J., & Zimmerman, T. (2009). Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 23(5), 1518-1523. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181b339ac>;

- Draper, J. (1997). Salicylate, superoxide synthesis and cell suicide in plant defense, *Trends in Plant Science*, 2(5), 162–165. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01030-3](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01030-3);
- Duarte, T.L., Cooke, M.S., & Jones G.D. (2009). Gene expression profiling reveals new protective roles for vitamin C in human skin cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 46(1), 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.09.028>;
- Dudeja, S. S., Giri, R., Saini, R., Suneja-Madan, P., & Kothe, E. (2012). Interaction of endophytic microbes with legumes. *Journal of basic microbiology*, 52(3), 248–260. <https://doi.org/10.1002/jobm.201100063>;
- Dutta, D., Puzari, K.C., Gogoi, R., & Dutta, P. (2014). Endophytes: exploitation as a tool in plant protection. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(5), 621–629. <https://doi.org/10.1590/S1516-8913201402043>;
- Egli, S. & Brunner, I. (2014). Mycorrhiza: A Fascinating Community in the Forest. *Merkbl. Practice*, 35, 1-7;
- El Gendy, A.G., Taghred, Hegazy, A., & El-Sayed, S. M., (2013). Effect Of Biofertilizers And/Or Urea On Growth, Yield, Essential Oil And Chemical Compositions Of *Cymbopogon Citratus* Plants. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(1), 309-320;
- El-Esawi, M. A., Al-Ghamdi, A. A., Ali, H. M., & Ahmad, M. (2019). Overexpression of *AtWRKY30* Transcription Factor Enhances Heat and Drought Stress Tolerance in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genes*, 10(2), 163. <https://doi.org/10.3390/genes10020163> ;
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*, 82(1), 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6) ;
- Etesami, H., Mirsyedhosseini, H., & Alikhani, H.A. (2013). Rapid Screening of Berseem Clover (*Trifolium alexandrinum*) Endophytic Bacteria for Rice Plant Seedlings Growth-Promoting Agents. *International Scholarly Research Notices*, 2013, 1-9;
- Eun, C., & Mee, J. (2016). Endophytic bacteria as biocontrol agents against plant pathogens: current state-of-the-art. *Plant Biotechnology Reports*, 10, 353–357. <https://doi.org/10.1007/s11816-016-0423-6>;
- Euroconsult (1989). *Agricultural compendium for Rural Development in the Tropics and Subtropics*. Amsterdam: Elsevier;
- Eyer, P., Worek, F., Kiderlen, D., Sinko, G., Stuglin, A., Simeon-Rudolf, V., & Reiner, E. (2003). Molar absorption coefficients for the reduced Ellman reagent: reassessment. *Analytical Biochemistry*, 312(2), 224-227. [https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(02\)00506-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(02)00506-7);
- Fadiji, A. E., & Babalola, O. O. (2020). Exploring the potentialities of beneficial endophytes for improved plant growth. *Saudi journal of biological sciences*, 27(12), 3622–3633. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.002> ;

- Fan, M., Liu, Z., Nan, L., Wang, E., Chen, W., Lin, Y., & Wei, G. (2018). Isolation, characterization, and selection of heavy metal-resistant and plant growth-promoting endophytic bacteria from root nodules of *Robinia pseudoacacia* in a Pb/Zn mining area. *Microbiological research*, 217, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.09.002> ;
- Fankem, H. (2007). *Occurrence and potentials of phosphate solubilizing microorganisms associated with oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) rhizosphere in Cameroon (Thèse de Doctorat)*. Université de Yaoundé I, Cameroon;
- FAO (2020). Crop Prospects and Food Situation—Quarterly Global Report. Crop Prospects and Food. Repéré sur: <http://www.fao.org>
- Farwell, A. J., Vesely, S., Nero, V., Rodriguez, H., McCormack, K., Shah, S., Dixon, D. G., & Glick, B. R. (2007). Tolerance of transgenic canola plants (*Brassica napus*) amended with plant growth-promoting bacteria to flooding stress at a metal-contaminated field site. *Environmental pollution*, 147(3), 540–545. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.10.014>;
- Finaud, J., Lac, G. & Filaire, E. (2006). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and Training. *Sports medicine*, 36 (4), 327-58. <https://doi.org/10.2165/00007256-200636040-00004> ;
- Fisher-Wellman, K., & Bloomer, R.J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30-year history. *Dynamic Medicine*, 8(1), 1-25. <https://doi.org/10.1186/1476-5918-8-1>;
- Fokkema, N.J. (1976). The role of saprophytic fungi in antagonism against *Drechlera sorokiniana* (*Helminthosporium sativum*) on agar plates and on rye leaves with pollen. *Physiol. Plant Pathol.*, 3, 195–205;
- Frank, A. C., Saldierna Guzmán, J. P., & Shay, J. E. (2017). Transmission of Bacterial Endophytes. *Microorganisms*, 5(4), 70. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040070>;
- Gerdemann, J.W., & Trappe, J.M. (1974). The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir*, 5, 1-76;
- Gholami, A., Shahsavani, S., & Nezarat, S. (2009). The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Germination, Seedling Growth and Yield of Maize. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 3, 9-14;
- Giroux, M., & Audesse, P. (2004). Comparison of Two Methods for Determining the Contents of Organic Carbon, Total Nitrogen and the C/N Ratio of Various Organic Amendments and Farm Fertilizers. *Agrosol*, 15(2), 107-110;
- Glare, T., Caradus, J., Gelernter, W., Trevor, J., Nemat, K., Jürgen, K., Marrone, P., Morin, L., & Stewart, A. (2012). Have biopesticides come of age? *Trends in Biotechnology*, 30(5), 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.01.003>;

- Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J., & Duan, J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-containing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119, 329–339. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9162-4>;
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, 963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>;
- Glick, B. R. (2015). Introduction to plant growth-promoting bacteria. *Beneficial Plant-Bacterial Interactions* (p. 1-28). India: Springer;
- Goel, A., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochemical pharmacology*, 75(4), 787–809. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.08.016>;
- Gomaa, E. Z. (2013). Optimization and characterization of alkaline protease and carboxymethyl-cellulase produced by *Bacillus pumillus* grown on *Ficus nitida* wastes. *Brazilian journal of microbiology*: 44(2), 529–537. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013005000048> ;
- Grange, J.M., & Devey, R.W. (1990). Free radicals and phenolics patterns in biology. *Society and Hygiènes*, 83, 159–60.
- Gupta, N., Gandham, N., Jadhav, S., & Mishra, R. N. (2015). Isolation and identification of *Acinetobacter* species with special reference to antibiotic resistance. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 6(1), 159–162. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.149116>;
- Gupta, S., & Pandey, S. (2019). ACC Deaminase Producing Bacteria with Multifarious Plant Growth Promoting Traits Alleviates Salinity Stress in French Bean (*Phaseolus vulgaris*) Plants. *Frontiers in microbiology*, 10, 1506. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01506> ;
- Gurjot, K. (2016). *Isolation and characterization of endophytic bacteria from rice (oryza sativa l.)* (Integrated Master of Science in Microbiology). Punjab Agricultural University;
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., & Chapelle, J.P (2007). Le stress oxidant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10), 628-638. <https://hdl.handle.net/2268/8914>;
- Hankin, L. & Anagnostakis, S.L. (1975). The Use of Solid Media for Detection of Enzyme Production by Fungi. *Mycology*, 67, 597-607. <http://dx.doi.org/10.2307/3758395> ;
- Hapsari, Y., Djauhari, S. & Cholil, A. (2014). Keanekaragaman jamur endofit akar kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) pada lahan pertanian organik dan konvensional. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*, 2(4), 1-10;
- Hardoim, P., Overbeek, L., Berg, G., Pirttilä, A.M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293–320. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>;

- Harikrishna, Y. (2013). Effect of concentration of *Ocimumsactum Linn (Tulsi)* leaves extract on the α -Amylase, α -Glocusidase activity and microorganism growth. *International Journal of Engineering Sciences & Research Technology*, 2(2), 2277-9655;
- Haro, H., Sanon, K.B., Le Roux, C., Duponnois, R. & Traoré, A.S. (2018). Improvement of cowpea productivity by rhizobial and mycorrhizal inoculation in Burkina Faso. *Symbiosis*, 74 (2), 107-120. [10.1007/s13199-017-0478-3](https://doi.org/10.1007/s13199-017-0478-3);
- Harold, (2002). Microbiological applications: Laboratory manuel in general microbiology. 8^e edition. Boston: McGraw-Hill.
- Hartanti, D. (2015, Juin). *Endophytic Fungi Researches in Indonesia*. Proceeding of the 1st University of Muhammadiyah Purwokerto - Pharmacy International Conference. Indonesia;
- Hata, K., & Sone, K. (2008). Isolation of endophytes from leaves of *Neolitsea sericea* in broadleaf and conifer stands. *Mycoscience*, 49(4), 229–232. <https://doi.org/10.1007/S10267-008-0411-Y> ;
- Hawaou, (2018). *Lutte contre les bio-agresseurs pour la production de l'oignon (Allium cepa L.) à partir des microorganismes bénéfiques : champignons mycorrhiziens et agent de bio contrôle* (Mémoire de master en microbiologie). Université de Yaoundé I ;
- Hirsch, P. R., & Mauchline, T. H. (2015). The Importance of the Microbial N Cycle in Soil for Crop Plant Nutrition. *Advances in applied microbiology*, 93, 45–71. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2015.09.001>;
- Hmouni, A., Hajlaoui, M.R., & Mlaiki, A. (1996). Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. *OEPP/EPPO Bulletin*, 26(3-4), 697-705. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1996.tb01513.x>;
- Hodkinson, T.R., & Murphy, B.R. (2019). Endophytes for a growing world. In: Hodkinson TR, Doohan FM, Saunders MJ, Murphy BR, editors. *Endophytes for a growing world* (p. 3-22). Cambridge, England;
- Hombourger, C. (2010). *De l'épice au médicament* (Thèse d'état de docteur en pharmacie). Université Henri Poincare - Nancy 1;
- Hossain, A., & Ishimine, Y. (2005). Growth, Yield and Quality of Turmeric (*Curcuma longa L.*) Cultivated on Dark-Red Soil, Gray Soil and Red Soil in Okinawa, Japan. *Plant Production Science*, 8(4), 482-486. [10.1626/ppp.8.482](https://doi.org/10.1626/ppp.8.482);
- Hyde, K.D., & Soyong, K. (2008). The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity*, 33, 163-173;
- Intracen, 2018. *International Trade Center*. Repéré à <https://www.intracen.org/itc/sectors/spices/> (2018) ;

- Ishimine, Y., Hossain, M.A., Ishimine, Y. & Murayama, S. (2003). Optimal planting depth for turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivation in dark red soil in Okinawa Island, Southern Japan. *Plant Production Science*, 6(1), 83-89; <https://doi.org/10.1626/pps.6.83>;
- ISLER, O. (1971). Caroténoids. German: Birkhauser Verlag
- Izem-Meziane, M., Djerdjouri, B., Rimbaud, S., Caffin, F., Fortin, D., Garnier, A., Veksler, V., Joubert, F., & Ventura-Clapier, R. (2012). Catecholamine-induced cardiac mitochondrial dysfunction and mPTP opening: protective effect of curcumin. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*, 302(3), 665–674. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00467.2011>;
- Jansen, P., Grubben, H., & Cardon, D. (2005). *Ressources végétales de l’Afrique tropicale 3. Colorants et tanins*. Wageningen, Pays-Bas : PROTA ;
- Jarvis, C. & Mishkin, M. (1977). Responses of cells in the inferior temporal cortex of monkeys during visual discrimination reversal. *Society for Neuroscience Abstract*, 3, 564;
- Jasim, B., Jimtha, C.J., Jyothis, M., & Radhakrishnan, E. K. (2013). Plant growth promoting potential of endophytic bacteria isolated from *Piper nigrum*. *Plant Growth Regulation*, 71, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10725-013-9802-y>;
- Jasim, B., Aswathy, A.J., Jimtha, J.C., Jyothis, M., & Radhakrishnan, E.K. (2014). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria from the rhizome of *Zingiber officinale*. *3 Biotech*, 3, 197–204. <https://doi.org/10.1007/s13205-013-0143-3>;
- Jayaprakasha, G.K., Rao, L.J., & Sakariah, K.K. (2005). Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 533-548;
- Jefwa, J.M., Vanlauwe, Bernard, Coyne, D., Van Asten, P.J., Gaidashova, S., Rurangwa, E., Mwashasha, M., & Elsen, A. (2010). Benefits and potential use of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in banana and plantain (*Musa spp.*) Systems in Africa. *Acta Horticulturae*, 879, 479-486. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.879.52>;
- Jehl, F. (2014). Comité de l’antibiogramme de la Société Française de Microbiologie-Recommandations 2014. Jehl F. (ed). Paris : Société Française de Microbiologie ;
- Jemo, M., Nolte, C., & Nwaga, D. (2007). *Biomass production, N and P uptake of Mucuna after Bradyrhizobia and Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation, and P-application on acid soil of Southern Cameroon*. Dordrecht, Netherlands: Springer;
- Ji, P., Momol, M. T., Olson, S. M., Pradhanang, P. M., & Jones, J. B. (2005). Evaluation of Thymol as Biofumigant for Control of Bacterial Wilt of Tomato Under Field Conditions. *Plant disease*, 89(5), 497–500. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0497>;
- Johnson, L. J., Teasdale, S. E., & Caradus J. R. (2018). Fungal endophyte diversity of the tropical forage grass *Brachiaria*. *Plant Ecology & Diversity*, 11(5-6), 611-624 <https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1610913> ;

- Jourdan, J.-P. (2015). *Curcuma et curcumine : de l'histoire aux intérêts thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques* (Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie). Université de Caen;
- Jurenka, J. S. (2009). Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*, 14(2), 141–153;
- Kahlmeter, G., Brown, D.F.J., Goldstein, F.W., MacGowan, A.P., Mouton, J.W., Odenholt, I., Rodloff, A., Soussy, C.J., Steinbakk, M., Soriano, F., Stetsiouk, O. (2006). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST); Technical Notes on antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection*, 2(6), 501-503. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01454.x>;
- Kamble, K. J. & Soni, S. B. (2009). A study of improving turmeric processing. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 22(1), 137-139;
- Kannan, R., Damodaran, T., Pandey, B. K., Umamaheswari, S., Rai, R. B., Jha, S.K., Mishra, V. K., Sharma, D. K., & Sah, V. (2014). Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting bacteria (PGPB) associated to the sodicity tolerant polyembryonic mango (*Mangifera indica* L.) root stock and growth vigour in rice under saline sodic environment. *African Journal of Microbiology Research*, 8(7), 628-36 <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.6552> ;
- Kannan, V., Bastas, K., & Antony, R. (2015a). Plant pathogenic bacteria: an overview. In Kannan, V.R., & Bastas, K.K. (Eds.). *Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria (1st edition)*. CRC Press.
- Kannan, V., Bastas, K., & Devi, R. (2015b). Scientific and economic impact of plant pathogenic bacteria. In Kannan, V.R., & Bastas, K.K. (Eds.). *Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria (1st edition)*. CRC Press.
- Kavamura, V.N.; Santos, S.N.; Da Silva, J.L.; Parma, M.M.; Ávila, L.A.; Visconti, A.; Zucchi, T.D.; Taketani, R.G.; Andreote, F.D.; & De Melo, I.S. (2013). Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiological Research*, 168(4), 183–191. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.002> ;
- Kawakami, K. (1978). Physiology of yield of underground storage organs. In: *Crop Physiology* (Eds. Gupta, U.S.) (p269-301). New Delhi: Oxford and IBH Publ. Co;
- Kering, K. K., Kibii, B.J., & Wei, H. (2019). Biocontrol of phyto-bacteria with bacteriophage cocktails. *Pest Management Science*, 75(7), 1775–1781. <https://doi.org/10.1002/ps.5324>;
- Khalid, A., Akhtar, M. H., Makhmood, M. H., & Arshad, M. (2006). *Mikrobiologiia*, 75(2), 277–283;
- Khan, W., Usha, A., Rayirath, P., Sowmyalakshmi, A., Subramanian, A., Mundaya, N. J., Prasanth, R., Hodges, M. D., Critchley, A. T., Craigie, J. S., Norrie, J. & Prithiviraj, B. (2009).

- Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28, 386-399. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x> ;
- Kim, J., & Rees, D. C. (1994). Nitrogenase and biological nitrogen fixation. *Biochemistry*, 33(2), 389–397. <https://doi.org/10.1021/bi00168a001> ;
- Kim, P. I., & Chung, K. C. (2004). Production of an antifungal protein for control of *Colletotrichum lagenarium* by *Bacillus amyloliquefaciens* MET0908. *FEMS microbiology letters*, 234(1), 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.03.032>;
- Kimura, M. & Rodriguez-Amaya, D.B. (2004). *Harvest plus handbook for carotenoids analysis*. Washington DC: International food policy research Institute;
- Kirschvink, N., De Moffarts, B., & Lekeux, P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*, 177(2), 178–191. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.033>;
- Koolman, J., & Rohm, K.H. (1999). *Atlas de Poche de Biochimie*. Flammarion: Paris.
- Kormanik, P., P. & Mc Graw, A. C. (1982). Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizal in plant roots. In: Schenck NC (ed). *Methods and principles of mycorrhizal research* (37-45). USA: St. Paul, Minn., American Phytopathological Society;
- Korsten, L., & De Jager, E.S. (1995). Mode of action of *Bacillus subtilis* for control of avocado postharvest pathogens. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 18, 124-130 ;
- Koukol, O., Kolarík, M., Kolárová, Z., & Baldrian, P. (2012). Diversity of foliar endophytes in wind-fallen *Picea abies* trees. *Fungal Diversity*, 54(1), 69–77. <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0112-2> ;
- Krinsky, N. I. (2014). Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 7(6), 617-635. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(89\)90143-3](https://doi.org/10.1016/0891-5849(89)90143-3) ;
- Kumar, A., Jyotsna, D., & Anup, S. (2011). A review on spice of life *curcuma longa* (turmeric). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical*, 2, 371-379;
- Kumar, A., Singh, A. K., Kaushik, M. S., Mishra, S. K., Raj, P., Singh, P. K., & Pandey, K. D. (2017). Interaction of turmeric (*Curcuma longa* L.) with beneficial microbes: a review. *3 Biotech*, 7(6), 357. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0971-7>;
- Kumar, A., Singh, R., Yadav, A., Giri, D. D., Singh, P. K., & Pandey, K. D. (2016). Isolation and characterization of bacterial endophytes of *Curcuma longa* L. *3 Biotech*, 6(1), 60. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0393-y>;
- Kumar, U., Kumar, V.L., & Annapurna, K., (2013). Antagonistic potential and functional diversity of endo and rhizospheric bacteria of basmati rice. *Oryza*, 50(2), 162-68;
- Laloi, C., Apel, K., & Danon, A. (2004). Reactive oxygen signalling: The latest news. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(3) 323–328. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.03.005>;

- Lamouche, C. (2011). *Etude de conditions de mise en oeuvre d'une Indication géographique sur le curcuma d'anivorano-est-madagascar* (Mémoire de fin d'études). Ecole supérieure d'Agro-Développement International, ISTOM, Madagascar ;
- Larkindale, J., Hall, J.D., Knight, M.R., Vierling, E. (2005). Heat stress phenotypes of *Arabidopsis* mutants implicate multiple signaling pathways in the acquisition of thermotolerance. *Plant Physiology*, 138(2), 882–897. <https://doi.org/10.1104/pp.105.062257>;
- Latz, C., M., Jensen, B., Collinge, D. B., & Jørgensen, H. J. (2018). Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. *Plant Ecology & Diversity*, 11(5-6), 555-567 <https://doi.org/10.1080/17550874.2018.1534146> ;
- Lazarovits, G., Turnbull, A., & Johnston-Monje, D. (2014). Plant health management: biological control of plant pathogens. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 4, 388–399. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00177-7>;
- Lee, C. J., Lee, J. H., Seok, J. H., Hur, G. M., Park, Y. C., Seol, I. C., & Kim, Y. H. (2003). Effects of baicalein, berberine, curcumin and hesperidin on mucin release from airway goblet cells. *Planta medica*, 69(6), 523–526. <https://doi.org/10.1055/s-2003-40655>;
- Lepoivre, P. (2003). Phytopathologie. In De boeck eds. Bruxelles : De boeck sup. 415p.
- Li, X., Geng, X., Xie, R., Fu, L., Jiang, J., Gao, L., & Sun, J. (2016). The endophytic bacteria isolated from elephant grass (*Pennisetum purpureum Schumach*) promote plant growth and enhance salt tolerance of Hybrid Pennisetum. *Biotechnology for biofuels*, 9(1), 190. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0592-0> ;
- Liu, F.-P., Liu, H.-Q., Zhou, H.-L., Dong, Z.-G., Bai, X.-H., Bai, P. & Jian-Jun, Q. (2014). Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from betel nut (*Areca catechu*) and their effects on plant growth and phosphorus mobilization in tropical soils. *Biology and Fertility of Soils*, 50, 927–937. <https://doi.org/10.1007/s00374-014-0913-z> ;
- Loey, M., ElSawy, A., & Afify, M. (2020). Deep learning in plant diseases detection for agricultural crops: a survey. *International Journal of Service Science, Management, Engineering, and Technology*, 11(2), 41–58. <https://doi.org/10.4018/IJSSMET.2020040103>;
- Lombardi, L. & Sebastiani, L. (2005). Copper Toxicity in *Prunus cerasifera*: Growth and Antioxidant Enzymes Responses of in Vitro Grown Plants. *Plant Science*, 168(3), 797-802. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.10.012> ;
- Ludwig-Müller, J. (2015). Plants and endophytes: equal partners in secondary metabolite production? *Biotechnology Letters*, 37, 1325–1334. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1814-4>;
- Lyn, P. (2006). Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*, 11(2), 114–127.

- Mac Laren, D. (2007). *Advances in sports and exercise science series*. Close GL and Mc Ardle F. (eds). Nutrition and Sport: Antioxidants and free radicals. Elsevier.
- Maïmouna, A. (2017). *Intérêt des microorganismes solubilisant les phosphates de roche pour la production des céréales (maïs et sorgho) dans la zone septentrionale : aspects écologiques et agronomiques* (Thèse de Doctorat PhD en Biologie, spécialité : Biotechnologie végétales). Université de Ngaoundéré ;
- Marchal, N., Bourdon, L., & Richard, C. (1982). *Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries*. France, Paris: Doin ;
- Maroof, A., Muzaffer, H., & Manoj, K. (2012). Isolation of microbial endophytes from some ethnomedicinal plants of Jammu and Kashmir. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 2(2), 215-220;
- Marques, A. P., Pires, C., Moreira, H., Rangel, A. O., & Castro, P. M. (2010). Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using *Zea mays* as indicator plant. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(8), 1229–1235. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.04.014> ;
- Martins, P.M., Merfa, M.V., Takita, M.A., & De Souza, A.A. (2018). Persistence in phytopathogenic bacteria: Do we know enough? *Frontiers in Microbiology*, 9, 1099. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01099>;
- Massart, A. (2011). *Supplémentation en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo*. (Thèse de Doctorat). Université d'Orléans.
- Mercado-Blanco, J., & Lugtenberg, B. (2014). Biotechnological Applications of Bacterial Endophytes. *Current Biotechnology*, 3(1), 60-75. <https://doi.org/10.2174/22115501113026660038> ;
- Meshanki, B., Majumder, D., Thakuria, D., & Rajesh, T. (2018). In Vitro Efficacy of Bacterial Endophytes against *Pythium sp.* Causing Soft Rot of Ginger in Meghalaya. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(8), 367-374. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.708.041> ;
- Miles, L. A., Lopera, C. A., González, S., De García, M. C., Franco, A. E. & Restrepo, S. (2012). Exploring the biocontrol potential of fungal endophytes from an Andean Colombian Paramo ecosystem. *BioControl*, 57, 697–710. <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9442-6> ;
- MINEPAT, 2020. Stratégie Nationale de développement 2020-2030. Pour la transformation structurelle et le développement inclusif.
- Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de La forêt, (2015). Les politiques agricoles à travers le monde : quelques exemples. Repéré à <https://agriculture.gouv.fr/cameroun>
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9);

- Moghadamtousi, S. Z., Kadir, H. A., Hassandarvish, P., Tajik, H., Abubakar, S., & Zandi, K. (2014). A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed research international*, 2014, 186864. <https://doi.org/10.1155/2014/186864> ;
- Mohammadi, K. (2012). Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and Their Role in Crop Production. *Resources and Environment*, 2, 80-85 ;
- Montillet, J.-L., Chamnongpol, S., Rusterucci, C., Dat, J., Van De Cotte, B., Agnel, J.-P., Battesti, C., Inze, D., Van Breusegem, F., & Triantaphylides, C. (2005). Fatty acid hydroperoxides and H₂O₂ in the execution of hypersensitive cell death in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 138(3), 1516–1526. <https://doi.org/10.1104/pp.105.059907>;
- Morimoto, T., Sunagawa, Y., Kawamura, T., Takaya, T., Wada, H., Nagasawa, A., Komeda, M., Fujita, M., Shimatsu, A., Kita, T., & Hasegawa, K. (2008). The dietary compound curcumin inhibits p300 histone acetyltransferase activity and prevents heart failure in rats. *The Journal of clinical investigation*, 118(3), 868–878. <https://doi.org/10.1172/JCI33160>
- Morton, J. B., & Bentivenga, S. P., (1994). Levels of diversity in endomycorrhizal fungi (*Glomales*, *Zygomycetes*) and their role in defining taxonomic and non-taxonomic groups. *Plant and Soil*, 159, 47. <https://doi.org/10.1007/BF00000094>
- Murphy, B. R., Doohan, F. M., & Hodkinson, T. R. (2019). Prospecting crop wild relatives for beneficial endophytes. In: Hodkinson TR, Doohan FM, Saunders MJ, Murphy BR, editors. *Endophytes for a growing world* (p. 390-410). Cambridge University Press, England;
- Nabavi, S.F., Daglia, M., Moghaddam, A.H., Habtemariam, S., & Nabavi, S.M. (2014). *Curcumin and liver disease: from chemistry to medicine*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(1), 62–77. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12047> ;
- Nabavi, S. M., Russo, G. L., Tedesco, I., Daglia, M., Orhan, I. E., Nabavi, S. F., Bishayee, A., Nagulapalli Venkata, K. C., Abdollahi, M., & Hajheydari, Z. (2018). Curcumin and Melanoma: From Chemistry to Medicine. *Nutrition and cancer*, 70(2), 164–175. <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1412485> ;
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Alam, M.M., & Fujita, M. (2015a). Exogenous glutathione confers high temperature stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata L.*) by modulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system. *Environmental and Experimental Botany*, 112, 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.12.001> ;
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Alam, M.M., & Fujita, M. (2015b). Roles of exogenous glutathione in antioxidant defense system and methylglyoxal detoxification during salt stress in mung bean. *Biologia Plantarum*, 59, 745–756. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0542-x> ;
- Nain, L., Yadav, R., & Saxena, J. (2012). Characterization of multifaceted *Bacillus sp.* RM-2 for its use as plant growth promoting bioinoculant for crops grown in semi-arid deserts. *Applied Soil Ecology*, 59, 124–135. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.08.001> ;

- Nair, D.N., & Padmavathy, S. (2014). Impact of endophytic microorganisms on plants, environment and humans. *The Scientific World Journal*, (), 1–11. <https://doi.org/10.1155/2014/250693>;
- Ngo Nkot, L. (2009). *Acidité du sol comme facteur limitant la fixation de l'azote atmosphérique par l'arachide (Arachis hypogaea L.) en zone de forêt dense humide* (Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de Doctorat/PhD). Université de Yaoundé I ;
- Noctor, G., Mhamdi, A., Chaouch, S., Han, Y., Neukermans, J., Marquez-Garcia, B., Queval, G., & Foyer, C. H. (2012). Glutathione in plants: an integrated overview. *Plant, cell & environment*, 35(2), 454–484. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02400.x> ;
- Nwaga, D. (1984). *Contribution à l'amélioration génétique de la résistance du cacaoyer (Theobroma cacao L.) à la pourriture brune des cabosses dues à Phytophthora spp. : mise au point d'un test précoce de la résistance* (DEA Ecophysiologie et Génétique végétales). Université de Rennes 1 ;
- Nwaga, D. (1988). *Intérêt du polymorphisme protéique et enzymatique pour la caractérisation des Pythiacées (Phytophthora et Pythium) et de leur interaction avec le tabac et le haricot* (Thèse de Doctorat). Université de Rennes I ;
- Nwaga, D., Ngonkeu, M.E.L., Oyong, M.M., Ngakou, A., Abelong, M-P., Foko, J. (2000). Soil beneficial micro-organisms and sustainable agricultural production in Cameroon: current research and perspectives. In: UNESCO-TSBF (ed). *The biology and fertility of tropical soils*, TSBF Report 1998 (p 62–65). Kenya: Nairobi;
- Nwaga, D., Jansa, J., Angue, M. A., and Frossard, E. (2010). The Potential of Soil Beneficial Micro-Organisms for Slash-and-Burn Agriculture in the Humid Forest Zone of Sub-Saharan Africa. In: Dion, P., ed. *Soil Biology and Agriculture in the Tropics* (p. 81-107). Berlin: Springer;
- Nwaga, D., Nana, W. L., Ngonkeu, M. E. L., Onguene, N. A., Tchameni, N. S., Maimouna, A., Mvele, M. E. C., Mayoh, J. F., Mbouapougnigni, V. P., Ngoumé, R. (2013). Valorisation des fonctions multiples des champignons mycorhiziens arbusculaires pour la production agricole. In: Duponnois R., Hafidi M., Ndoye I., Ramanankierana H., Amadou M. B. (eds). *Des champignons symbiotiques contre la désertification des écosystèmes méditerranéens, tropicaux et insulaires* (p. 156-176). France, Marseille : Institut de Recherche pour le Développement ;
- Nybe, E.V., Peter, K.V., & Raj, N.M. (2003). Integrated cropping in coconut involving spice crops. *Indian Coconut Journal*, 34, 3-9.
- Pacios-Michelena, S., González C.N., Alvarez-Perez, O.B., Rodriguez-Herrera, R., Chávez-González, M., Arredondo, R., Ascacio, J.A., Govea, M., & Ilyina, A. (2021). Application of Streptomyces Antimicrobial Compounds for the Control of Phytopathogens. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 696518. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.696518>;

- Parent, C., Capelli, N., & Dat, J. (2008). Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. *Comptes Rendus Biologies*, 331(4), 255–261. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2008.02.001> ;
- Parnell, J.J., Berka, R., Young, H.A., Sturino, J.M., Kang, Y., Barnhart, D.M., & DiLeo, (2016). From the lab to the farm: an industrial perspective of plant beneficial microorganisms. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01110>;
- Phan, T. T., See, P., Lee, S. T., & Chan, S. Y. (2001). Protective effects of curcumin against oxidative damage on skin cells in vitro: its implication for wound healing. *The Journal of trauma*, 51(5), 927–931. <https://doi.org/10.1097/00005373-200111000-00017> ;
- Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J.O. (2013). Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme : importance en matière de prévention. *Medi-sphère*, 87(12), 1-4.
- PNIA, (2014). *Plan National d'Investissement Agricole du Cameroun 2014-2020*. Répéré à https://xa.yimg.com/kq/groups/18227766/1908176323/name/PNIA_2014_2020_Cameroun_Dernier_draft_AVRIL_2014.pdf
- Poli A., Esposito E., Lama L., Orlando P., Nicolaus G., Francesca de Appolonia, Gambacorta, A., & Nicolaus B., (2006). *Anoxybacillus amylolyticus sp. nov.*, a thermophilic amylase producing bacterium isolated from Mount Rittmann (Antarctica). *Systematic and Applied Microbiology*, 29(4), 300-307. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.10.003> ;
- Portes, E. (2008). *Synthèse et étude de tetrahydrocurcuminoïdes : propriétés photochimiques et antioxydantes, application à la préservation de matériaux d'origine naturelle*. (Thèse de docteur en chimie organique). Ecole doctorale des sciences chimiques Bordeaux I ;
- Powers, S.K., Smuder, A.J., Kavazis, A.N., & Hudson, M.B. (2010). Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 20(1), 2–14. <https://doi.org/10.1123/ijsnem.20.1.2>
- Pozo, M. J., Jung, S. C., Lopez-Raez, J. A., & Azcon-Aguilar, C. (2010). Impact of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis on Plant Response to Biotic Stress: The Role of Plant Defence Mechanisms. In: Koltai, H. and Kapulnik, Y., Eds. *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (p.193-207). Dordrecht, Netherlands: Springer;
- Pradhan, U.B., Maiti, S., & Pal, S. (2003). Effect of frequency of pruning and tree spacing of *Leucaena* on the growth and productivity of turmeric when grown under alley cropping system with *Leucaena leucocephala*. *Environment and ecology*, 21, 306-312.
- Prakamhang, J., Minamisawa, K., Teamtaisong, K., Boonkerd, N., & Teaumroong N. (2009). The communities of endophytic diazotrophic bacteria in cultivated rice (*Oryza sativa L.*). *Applied Soil Ecology*, 42(2), 141–49. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.02.008> ;

- Prasad, V.K., Kavita, N.Y., Chandrashekhar, L.B. & Manohar J.P. (2018). Standardization and quantification of curcumin from *Curcuma longa* extract using UV visible spectroscopy and HPLC. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(5), 1913-1918;
- Puri, A., Padda, K. P., & Chanway, C. P. (2016). Evidence of nitrogen fixation and growth promotion in canola (*Brassica napus L.*) by an endophytic diazotroph *Paenibacillus polymyxa P2b-2R*. *Biology and Fertility of Soils*, 52, 119–125. <https://doi.org/10.1007/s00374-015-1051-y> ;
- Rahmani, A. S., Mohammed, A. A., Salah, M. A., Masood, A. K. & Yousef, H. A. (2018). Role of Curcumin in Disease Prevention and Treatment. *Advanced Biomedical Research.*, 7, 38 https://doi.org/10.4103/abr.abr_147_16 ;
- Ramesh, A., Sharma, S. K., Sharma, M. P., Yadav, N., & Joshi, O. P. (2014). Plant Growth-Promoting Traits in *Enterobacter cloacae subsp. Dissolvens* MDSR9 Isolated from Soybean Rhizosphere and its Impact on Growth and Nutrition of Soybean and Wheat Upon Inoculation. *Agricultural Research*, 3, 53-66. <https://doi.org/10.1007/s40003-014-0100-3> ;
- Rana, K. L., Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Yadav, A. N., Yadav, N., Dhaliwal, H. S., & Saxena, A. K. (2020). Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. *Antonie van Leeuwenhoek*, 113(8), 1075–1107. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01429-y> ;
- Rapilly F., 1968. Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Annales des Epiphytes. Paris : Institut national de la recherche agronomique
- Ravindran, N., Nirmalbabu, K. & Sivaraman, K. (2007). *Turmeric, The genus Curcuma. Medicinal and aromatic plants-Industrial profiles*. Florida, USA: CRC press, Taylor and Francis group;
- Rhoads, D.M., & Subbaiah, C.C. (2007). Mitochondrial retrograde regulation in plants. *Mitochondrion*, 7(3), 177–194. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2007.01.002>;
- Ribeiro, C. M., & Cardoso, E. J. (2012). Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*). *Microbiological research*, 167(2), 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.03.003> ;
- Rijavec, T., & Lapanje, A. (2016). Hydrogen Cyanide in the Rhizosphere: Not Suppressing Plant Pathogens, but Rather Regulating Availability of Phosphate. *Frontiers in microbiology*, 7, 1785. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01785> ;
- Ripa, F. A., Cao, W. D., Tong, S., & Sun, J. G. (2019). Assessment of Plant Growth Promoting and Abiotic Stress Tolerance Properties of Wheat Endophytic Fungi. *BioMed Research International*, 2019, 6105865. <https://doi.org/10.1155/2019/6105865> ;
- Rodríguez, H., & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5), 319–339. [https://doi.org/10.1016/s0734-9750\(99\)00014-2](https://doi.org/10.1016/s0734-9750(99)00014-2) ;

- Rodriguez, R. J., White, J. F., Jr, Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *The New phytologist*, 182(2), 314–330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x> ;
- Romanazzi, G., Smilanick, J., Feliziani, E., & Droby, S. (2016). Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. *Postharvest Biology and Technology*, 113, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.11.003>;
- Roskov, Y., Biota in Bánki, O., Vandepitte, L., DeWalt, R. E., Remsen, D., Schalk, P., Orrell, T., Keping, M., Miller, J., Aalbu, R., Adlard, R., Adriaenssens, E., Aedo, C., Aesch, E., Akkari, N., Alonso-Zarazaga, M. A., Alvarez, B., Alvarez, F., Anderson, G., et al. (2021). Catalogue of Life Checklist (Version 2021-10-18). <https://doi.org/10.48580/d4t2> ;
- Roughley, P.J. & Whiting, D.A. (1973). Experiment in the biosynthesis of curcumin. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 1973, 2379-2388. <https://doi.org/10.1039/P19730002379>
- Rubio, L. M., & Ludden, P. W. (2008). Biosynthesis of the iron-molybdenum cofactor of nitrogenase. *Annual review of microbiology*, 62, 93–111. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162737> ;
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., & Dowling, D. N. (2008). Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS microbiology letters*, 278(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x> ;
- Sadhu, S. & Maiti, T. (2013). Cellulase Production by Bacteria. *British Microbiology Research Journal*, 3(3), 235-258. <https://doi.org/10.9734/BMRJ/2013/2367> ;
- Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., & Bhatti, A. S. (2007). Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 34(10), 635–648. <https://doi.org/10.1007/s10295-007-0240-6> ;
- Samanhudi, Ahmad, Y., Bambang, P., & Muji, R. (2014). Application of Organic Manure and Mycorrhizal for Improving Plant Growth and Yield of Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*). *Scientific Research Journal*, 2(5), 11-16;
- Sanchez, C. E., Munoz, E., Anchondo, A., Ruiz, J. & Romero, L. (2009). Nitrogen Impact on Nutritional Status of Phosphorus and Its Main Bioindicator: Response in the Roots and Leaves of Green Bean Plants. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15(2), 177-182 <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2009.15.024> ;
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological research*, 183, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008> ;
- Sarangthem, I. D. & Momota, P. (2012). Isolation and characterization of Endophytic microbiome from indigenous maize (*Zea mays*) variety of Manipur and its impact on biological control.

- International journal of human genetics medical biotechnology and microbiological studies*, 1, 11–17;
- Sarathi, I., Senthil K. V., kumar, S., & Panneerselvam, A. (2014). Studies on rhizome rot pathogen in *Curcuma longa*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(8), 296-302;
- Saravanakumar, K., Yu, C., Dou, K., Wang, M., Li, Y., & Chen, J. (2016). Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*. *Biological Control*, 94, 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.12.001> ;
- Sarma, N.N., Paul, S.R., Dey, J.K., Sarma, D., Baruah, G.K.S., Sarma, R.K., Maibangsa, M.M., & Dey, A.K. (2003). Improved practices for management of shifting cultivation in Assam. *The Indian Journal of Agricultural Science*, 73, 315-321.
- Savina, P. (2014). *Le Curcuma, un agent naturel de lutte contre le vieillissement cutané* (Master 2 Biologie-Gestion). Université de Rennes ;
- Sayre, L. M., Moreira, P. I., Smith, M. A., & Perry, G. (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Annali dell'Istituto superiore di sanita*, 41(2), 143–164.
- Schenck, N. C. & Perez, Y. (1990). *Manual for the identification of VA mycorrhizal (VAM) fungi*. Gaines ville: University of Florida;
- Sedlak, J., & Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 25(1), 192–205. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4) ;
- Senthilkumar, M., Anandham, R., Madhaiyan, M., Venkateswaran, V., & Tongmin, S. (2011). Endophytic bacteria: perspectives and applications in agricultural crop production. In: Maheshwari DK (ed) *Bacteria in agrobiolgy: crop ecosystems*. New York: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-18357-7_3;
- Septiana, E., Sukarno, N., & Simanjuntak, P. (2017). Endophytic fungi associated with turmeric (*Curcuma longa* L.) can inhibit histamine-forming bacteria in fish. *HAYATI Journal of Bioscience*, 24(1),46–52. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2017.05.004> ;
- Sev, T. M., Khai, A. A., Ayme, A., & Yu, S. S. (2016). Evaluation of endophytic bacteria from some rice varieties for plant growth promoting activities. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 5(4), 144-148;
- Sharma, B. R., Dutta, S., Roy, S., Debnath, A., & Roy, M. D. (2010). The effect of soil physico-chemical properties on rhizome rot and wilt disease complex incidence of ginger under hill agro climatic region of West Bengal. *The Plant Pathology Journal*, 26(2), 198-202. <https://doi.org/10.5423/PPJ.2010.26.2.198> ;

- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessaraki, M. (2012). *Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions*. *Journal of Botany*, 2012, 1-26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037> ;
- Shils, M.E., Shike, M., Ross, A.C., Caballero, B., & Cousins, R.J. (2006). *Modern Nutrition in Health and Disease*. Tenth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Shukla, P. K., Khanna, V. K., Khan, M. Y., & Srimal, R. C. (2003). Protective effect of curcumin against lead neurotoxicity in rat. *Human & experimental toxicology*, 22(12), 653–658. <https://doi.org/10.1191/0960327103ht411oa> ;
- Smibert, R. M. & Krieg, N. R. (1994). Phenotypic characterization. In Gerhardt, R.G.E. Murray, W.A. Wood, and N.R. Krieg. Eds. *Methods for general and molecular bacteriology* (p. 607-654). Washington DC: American Society for Microbiology;
- Sneath, P. H. (2001). Bacterial nomenclature. In: Garrity GM (ed). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (p. 83-88). New York: Springer;
- Souza, R., Beneduzi, A., Ambrosini, A., Costa, P., Meyer, J., Vargas, L., Schoenfeld, R., & Passaglia, M.P. (2013). The effect of plant growth promoting rhizobacteria on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in southern Brazilian fields. *Plant and Soil*, 366, 585–603. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1430-1> ;
- Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular aspects of medicine*, 24(6), 345–351. [https://doi.org/10.1016/s0098-2997\(03\)00030-x](https://doi.org/10.1016/s0098-2997(03)00030-x) ;
- Statista, (2021). *Market volume of turmeric worldwide in 2017 and 2027*. Réperé à <https://www.statista.com/statistics/740259/global-turmeric-market-volume/> ;
- Stempak, D., Dallas, S., Klein, J., Bendayan, R., Koren, G., & Baruchel, S. (2001). Glutathione stability in whole blood: effects of various deproteinizing acids. *Therapeutic drug monitoring*, 23(5), 542–549. <https://doi.org/10.1097/00007691-200110000-00008> ;
- Suman, A., Yadav, A. N., & Verma, P. (2016). Endophytic Microbes in Crops: Diversity and Beneficial Impact for Sustainable Agriculture. In: Singh D., Singh H., Prabha R. (eds). *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity* (p 117-143). New Delhi: springer;
- Sun, J., Guo, L., Zang, W., Ping, W., & Chi, D. (2008). *Diversity and ecological distribution of endophytic fungi associated with medicinal plants*. *Science in China Series C: Life Sciences*, 51, 751–759. <https://doi.org/10.1007/s11427-008-0091-z> ;
- Suryadevara, N., & Ponmurugan, P. (2012). Response of Turmeric to Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Inoculation under different levels of Nitrogen. *International Journal of Biological Technology*, 3(1), 39-44;

- Susilowati, D. N., Sudiana, I. M., Mubarika N. R. & Suwanto, A. (2015). Species and functional diversity of rhizobacteria of rice plant in the coastal soils of Indonesia. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 16(1), 39-50;
- Syed Ab Rahman, S., Singh, E., Pietersen, C., & Schenck, P. (2018) Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*, 267, 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.012>;
- Sytykiewicz, H. (2016). Transcriptional reprogramming of genes related to ascorbate and glutathione biosynthesis, turnover and translocation in aphid-challenged maize seedlings. *Biochemical Systematics and Ecology*, 69, 236–251. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.10.009> ;
- Taghavi, S., Garafola, C., Monchy, S., Newman, L., Hoffman, A., Weyens, N., Barac, T., Vangronsveld, J., & van der Lelie, D. (2009). Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees. *Applied and environmental microbiology*, 75(3), 748–757. <https://doi.org/10.1128/AEM.02239-08> ;
- Tao, G. C., Tian, S. J., Cai, M. Y., & Xie, G. H. (2008). Phosphate solubilizing and -mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere*, 18(4), 515–523 [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(08\)60042-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(08)60042-9) ;
- Temga, J.P., Sababa, E., Mamdem, E., Ngo Bijeck, M.L., Tamfuh Azinwi, P.T., Nathanael Tehna, N., Zamea, P., Onana V.L., Nguetnkamb, J.P., Lucien Dieudonné Bitoma, L.D., Ndjigui, P.-D. (2021). Rare earth elements in tropical soils, Cameroon soils (Central Africa). *Geoderma Regional*, 25, e00369. <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2021.e00369>
- Thangapazham, R. L., Sharad, S., & Maheshwari, R. K. (2013). Skin regenerative potentials of curcumin. *BioFactors*, 39(1), 141–149. <https://doi.org/10.1002/biof.1078> ;
- Tian, X. L., Cao, L. X., Tan, M., Zaeng, G., Jia, Y., Han, W. Q., & Zhou, S. (2004). Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities in vitro. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20, 303–309. <https://doi.org/10.1023/B:WIBI.0000023843.83692.3f> ;
- TNAU (Tamil Nadu Agricultural University), (2004). *Crop Production Techniques of Horticultural Crops*, Directorate of Horticulture and Plantation Crops, Chepauk, Chennai, India;
- Todorovic, B., & Glick, B. R. (2008). The interconversion of ACC deaminase and D-cysteine desulfhydrase by directed mutagenesis. *Planta*, 229(1), 193–205. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0820-3> ;
- Torres, M.A., & Dangl, J.L. (2005). Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development. *Current Opinion in Plant Biology*, 8 (4) 397–403. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.05.014>;

- Torres, M.A., Jones, J.G., & Dangl, J.L. (2006). Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiology*, *141*(2), 373–378. <https://doi.org/10.1104/pp.106.079467>;
- Traber, M.G., & Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology Medicine*, *43*, 4–15. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.024>;
- Ullah, A., Hafsa, M., Usman, A., Hakim, Ehsan, A., & Samavia, M. (2018). Screening, isolation, biochemical and plant growth promoting characterization of endophytic bacteria. *Microbiology: Current Research*, *2*(3), 62-68. <https://doi.org/10.4066/2591-8036.18-368>;
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., & Prigent-Combaret, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in plant science*, *4*, 356. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356> ;
- Van Breusegem, F., & Dat, J.F. (2006). Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiology*, *141*(2), 384–390. <https://doi.org/10.1104/pp.106.078295>;
- Van Loon, C. (2007). Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology*, *119*, 243–254. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9165-1> ;
- Vashistha, A., & Chaudhary, A. (2019). Effects of biocontrol agents and heavy metals in controlling soilborne phytopathogens. *International Journal of Herbal Medicine*. *7*(3), 41–45.
- Velivelli, S., De Vos, P., Kromann, P., Declerck, S., & Prestwich, B.D. (2014). Biological control agents: from field to market, problems, and challenges. *Trends in Biotechnology*, *32*(10), 493–496. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.07.002> ;
- Verma, P., Yadav, A. N., Shukla, L., Saxena, A. K., & Suman, A. (2015). Hydrolytic enzymes production by thermotolerant *Bacillus altitudinis* IARI-MB-9 and *Gulbenkiania mobilis* IARI-MB-18 isolated from Manikaran hot springs. *International Journal of Advanced Research*, *3*, 1241-1250;
- Vidal, G., Ribas-Carbo, M., Garmier, M., Dubertret, G., Rasmusson, A.G., Mathieu, C., Foyer, C.H., & De Paepe, R. (2007). Lack of respiratory chain complex I impairs alternative oxidase engagement and modulates redox signaling during elicitor-induced cell death in tobacco. *The Plant Cell*, *19*(2), 640–655. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.044461>;
- Vinayarani, G., & Prakash, H. S. (2018). Fungal endophytes of turmeric (*Curcuma longa* L.) and their biocontrol potential against pathogens *Pythium aphanidermatum* and *Rhizoctonia solani*. *World journal of microbiology & biotechnology*, *34*(3), 49. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2431-x> ;
- Watanabe, T. (2002). *Identification of Fungi from: Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi, Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species* (Second Edition). Washington: CRC Press;

- Watanabe, T. (2010). *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species* (3ed). Washington: CRC Press;
- White, J. F. J., Morrow, A. C., Morgan-Jones, G. & Chambless, D. A. (1991). Endophyte-host associations in forage grasses. XIV. Primary stromata formation and seed transmission in *Epichloë typhina*: developmental and regulatory aspects. *Mycologia*, 83(1), 72-81. <https://doi.org/10.2307/3759833> ;
- Wicke, B., Edward, S., Veronika, D., Vashev, B., Gaiser, T., Wim, T., & Faiij, A. (2011). The global technical and economic potential of bioenergy from salt-affected Soils. *Energy & Environmental Science*, 4(8), 2669-2681. <https://doi.org/10.1039/C1EE01029H> ;
- Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inze, D., & Van Camp, W. (1997). Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants. *The EMBO Journal*, 16, 4806-4816. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.16.4806>;
- Wolinsky, I. (1998). *Nutrition in Exercise and Sport*. 3th edition. New York: CRC Press;
- Wu, L., Shang, H., Wang, Q., Gu, H., Liu, G., & Yang, S. (2016). Isolation and characterization of antagonistic endophytes from *Dendrobium candidum* Wall ex Lindl., and the biofertilizing potential of a novel *Pseudomonas saponiphila* strain. *Applied Soil Ecology*, 105, 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.04.008> ;
- Xiang, L., Gong, S., Yang, L., Hao, J., Xue, M., Zeng, F., Zhang, X., Shi, W., Wang, H., & Yu, D. (2016). Biocontrol potential of endophytic fungi in medicinal plants from Wuhan Botanical Garden in China. *Biological Control*, 94, 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.12.002> ;
- Yadav, A. N., Rastegari, A. A., Yadav, N., & Kour, D. (2020). *Advances in plant microbiome and sustainable agriculture: diversity and biotechnological applications*. Singapore: Springer;
- Yamawaki, K., Atsushi, M., Rintaro, H., Arata, T., Hossain, M. A., Yoshiyuki, O. & Hiroyuki, D. (2013). Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrient uptake and curcumin production of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Agricultural Science*, 4(2), 66-71. <http://dx.doi.org/10.4236/as.2013.42011> ;
- Yang, Y., Duan, W., Lin, Y., Yi, W., Liang, Z., Yan, J., Wang, N., Deng, C., Zhang, S., Li, Y., Chen, W., Yu, S., Yi, D., & Jin, Z. (2013). SIRT1 activation by curcumin pretreatment attenuates mitochondrial oxidative damage induced by myocardial ischemia reperfusion injury. *Free radical biology & medicine*, 65, 667-679. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.007> ;
- Zago, E., Morsa, S., Dat, J.F., Alard, P., Ferrarini, A., Inze, D., Delledonne, M., Van Breusegem, F. (2006). Nitric oxide- and hydrogen peroxide-responsive gene regulation during cell death induction in tobacco. *Plant Physiology*, 141(2), 404-411. <https://doi.org/10.1104/pp.106.078444>;

- Zahir, Z. A., Munir, A., Asghar, H. N., Shaharoon, B., & Arshad, M. (2008). Effectiveness of rhizobacteria containing ACC deaminase for growth promotion of peas (*Pisum sativum*) under drought conditions. *Journal of microbiology and biotechnology*, 18(5), 958–963.
- Zakaria, C.A. (2012). *Études chimiques et biologiques d'Aframomum sceptrum (Zingiberaceae) et de la curcumine* (Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur). Université Paris Sud - Paris XI ;
- Zandi, K., Ramedani, E., Mohammadi, K., Tajbakhsh, S., Deilami, I., Rastian, Z., Fouladvand, F., Yousefi, F., & Farshadpour, F. (2010). Evaluation of antiviral activities of curcumin derivatives against HSV-1 in Vero cell line. *Natural Product Communications*, 5, 1935-1938 ;
- Zhang, H.W., Song, Y.C., & Tan, R.X. (2006). Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*, 23(5),753–771. <https://doi.org/10.1039/b609472b>;
- Zhang, Y., Wang, P., Wu, Q., Zou, Y., Bao, Q. and Wu, Q. (2016). Arbuscular Mycorrhizas Improve Plant Growth and Soil Structure in Trifoliolate Orange under Salt Stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63(4), 1-10. <https://doi.org/10.1080/03650340.2016.1222609> ;
- Zhou, N., Zhao, L., Sun, X. & Liu, X. (2018). Isolation, Screening and Evaluation of Potential Biocontrol Endophytes Against *Ralstonia solanacearum* on Ginger. In: Liu H., Song C., Ram A. (eds). *Advances in Applied Biotechnology*. Singapore : Springer.



PUBLICATION



ANNEXES

ANNEXE 1. COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE DE L'ÉTUDE

Ingrédients	g/L
PDA	
Pomme de terre	250
Glucose	15
Agar	15
pH ajusté à 25°C	7± 0,2
YEMA	
Mannitol	10
Extrait de levure	0,5
K ₂ HPO ₄ , 7H ₂ O	0,2
NaCl	0,1
Agar	15
pH ajusté à 25°C	6,8± 0,2
YMB + peptone	
Mannitol	10
Extrait de levure	0,5
K ₂ HPO ₄ , 7H ₂ O	0,2
NaCl	0,1
Peptone	5
pH ajusté à 25°C	6,8± 0,2
Gélose King-B	
Peptone	20
Glycérol	10 mL
K ₂ HPO ₄ , 7H ₂ O	1,5
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	1,5
Agar	15
pH ajusté à 25°C	7,2 ± 0,2
GLM	
Extrait de levure	3
Extrait de Malt	3
Peptone	5
D-Glucose	10
Agar	18
pH ajusté à 25°C	7 ± 0,2
SGA	
K ₂ HPO ₄ , 7H ₂ O	0,75
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	0,4
CaCO ₃	0,4
Sucrose	2,5
Glucose	2,5
Yeast extract	3
Agar	15
pH ajusté à 25°C	7 ± 0,2
EA	
Extrait de sol (10%)	200 mL
Agar	20
pH ajusté à 25°C	7 ± 0,2
CA	
Extrait de Curcuma (10%)	200 mL
Agar	20
pH ajusté à 25°C	7 ± 0,2

CEA	
Extrait Curcuma (10%)	200 mL
Extrait de sol (10%)	200 mL
Agar	20g
pH ajusté à 25°C	7 ± 0,2
SMA	
Lait écrémé	15
Extrait de levure	0,5
Agar	9,3
pH ajusté à 25°C	6,8± 0,2
CMC agar	
KH ₂ PO ₄	1
MgSO ₄ .7H ₂ O,	0,5
NaCl	0,5
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01
MnSO ₄ .H ₂ O	0,01
NH ₄ NO ₃	0,3
CMC	10
Agar	12
pH ajusté à 25°C	7± 0,2
NFM	
CaCl ₂	0,02
NaCl	0,1
FeCl ₃	0,001
KH ₂ PO ₄	0,4
K ₂ HPO ₄	0,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,002
Sodium malate	5
Extrait de levure	0,5
pH ajusté à 25°C	7,2–7,4
Nutrient Agar	
Peptone	5
NaCl	5
Extrait de levure	1,5
Agar	15
pH ajusté à 25°C	6 ± 0,2
Bouillon nutritif	
Peptone	5
NaCl	5
Extrait de levure	1,5
pH ajusté à 25°C	7± 0,2
Milieu minimal de sels DF	
KH ₂ PO ₄	4
K ₂ HPO ₄	6
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,1
Acide borique	10µg
MnSO ₄ (II)	10 µg
ZnSO ₄	70 µg
CuSO ₄	50 µg
MoO ₃	10 µg
Glucose	2

Acide gluconique	2
Acide citrique	2
Agar	12
pH ajusté à 25°C	6,8 ± 0,2
Eau peptonée	
Peptone	10
Nacl	5
KH ₂ PO ₄	1,5
Na ₂ HPO ₄	3,5
pH ajusté à 25°C	7 ± 0,2
NBRIP Medium	
Glucose	10
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5
Mgcl ₂	0,5
(NH ₄)SO ₄	0,1
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25
Kcl	0,2
Agar	15
pH ajusté à 25°C	7 ± 0,2
CtMA	
Carotte	250g
Glucose	10
Mannitol	1,5
Agar	15
pH ajusté à 25°C	6,8 ± 0,2
YGPA (Yeast Glucose Peptone Agar)	
Glucose	10
Peptone	5
Extrait de levure	5
Agar	15
pH	7,2

ANNEXE 2. INOCULA D'ENDOPHYTES PRODUITS A PARTIR DES ISOLATS PRE-SELECTIONNES



ANNEXE 3. PRODUCTION DE RHIZOMES DE *CURCUMA LONGA* SUR DIFFERENTS SUBSTRATS ET PIEGEAGE DES ENDOPHYTES



Figure A. Mise en place du dispositif expérimental 1



Figure B. Plants de *Curcuma longa* 60 jours après le semis (a) et 210 jours après le semis (b)
(Cliché SONTSA-DONHOUNG)

ANNEXE 4. INFLUENCE DES ENDOPHYTES SUR LA PRODUCTION DES RHIZOMES DE *CURCUMA LONGA* ET DE CURCUMINE SUR SUBSTRAT STERILE



Figure C. Suivi du Dispositif expérimental II 6 mois après le semis (Cliché SONTSA-DONHOUNG)



TCICaDj1--TCICaTb1--TCICaTb2--TCICeBe1--TCICeDs1



TCICeEb1--TCICeEb2--TCICeNk1--TCICeTb2--TCIGIBe2



TCIGIDj4--TCIGINK1--TCIKbBi2--TCIKbDI2--TCIKbDI3



TCIKbDs2--TCIKbDs3--TCIKbNk1--TCISgDj1--TCISgNk3

Fig D. Effet des endophytes sur la croissance des plants de *Curcuma longa* 6 mois après le semis (Cliché SONTSA-DONHOUNG)



Fig E. Curcuma standard

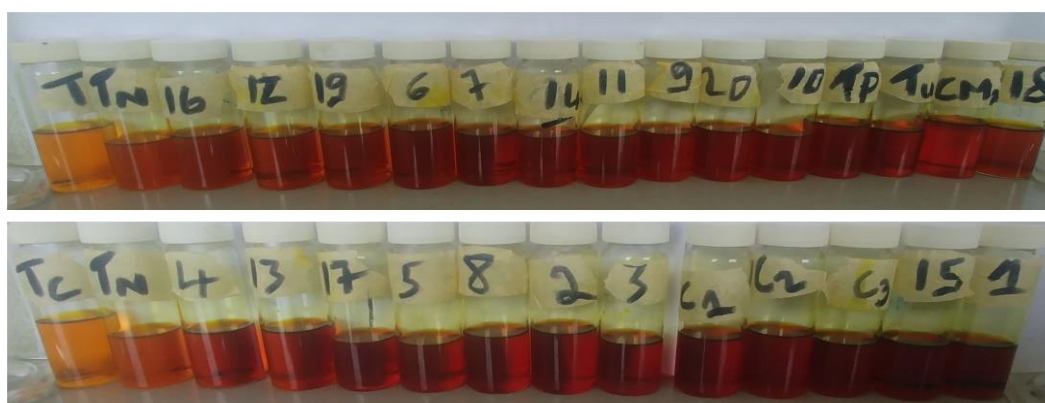


Fig F. Extraits méthanoliques de curcuminoïdes obtenus après 3 jours de macération. Tc : témoin ; TN : BFA ; TP : MSP ; TU : urée ; CMA ; 1 : TCICaDj1 ; 2 : TCICaTb1 ; 3 : TCICaTb2 ; 4 : TCICeBe1 ; 5 : TCICeDs1 ; 6 : TCICeEb1 ; 7 : TCICeEb2 ; 8 : TCICeNk1 ; 9 : TCICeTb2 ; 10 : TCIGIBe2 ; 11 : TCIGIDj4 ; 12 : TCIGINK1 ; 13 : TCIKbBi2 ; 14 : TCIKbDI ; 15 : TCIKbDI3 ; 16 : TCIKbDs2 ; 17 : TCIKbDs3 ; 18 : TCIKbNk1 ; 19 : TCISgDj1 ; 20 : TCISgNk3 ; C1 : TCICeDs2 ; C2 : TCICeNk2 ; C3 : TCIPdBi1

ANNEXE 5. APPRECIATIONS DE QUELQUES PARAMETRES CHIMIQUES

Appréciation des bases échangeables

Niveau	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺
	(meq/100 g sol)			
Très élevé	>20.0	>8.0	> 1.2	> 2.0
Élevé	10.0 – 20.0	3.0 – 8.0	0.6 – 1.2	0.7 – 2.0
Moyen	5.0 – 10.0	1.5 – 3.0	0.3 – 0.6	0.3 – 0.7
Faible	2.0 – 5.0	0.5 – 1.5	0.1 – 0.3	0.1 – 0.3
Très faible	<2.0	<0.5	< 0.1	<0.1

Source : Euroconsult (1989)

Appréciation de l'acidité du sol

pH	Classification
< 4,5	Extrêmement acide
4,6-5	Très fortement acide
5,1-5,5	Fortement acide
5,6-6	Moyennement acide
6,1-6,5	Faiblement acide
6,6-7,3	Neutre
7,4-7,8	Légèrement alcalin
7,9-8,4	Moyennement alcalin
8,5-9	Fortement alcalin

Source : Memento de l'agriculture (1993)

Appréciation de l'azote total

Niveau	N total%
Très faible	<0.050
Faible	0.050-0.125
Moyen	0.125-0.225
Elevé	0.225-0.300
Très élevé	>0.300

Source : Euroconsult (1989)

Appréciation du phosphore

Niveau	P (ppm)
Très faible	<7
Faible	7-16
Moyen	16-46
Elevé	>46

Source : Euroconsult (1989)

**ANNEXE 6. GUIDE D'ENQUÊTE SOCIOECONOMIQUE SUR LA PRODUCTION
ET LA COMMERCIALISATION DU CURCUMA LONGA AU CAMEROUN
(2018-2019)**

Producteur

Date :

A. Identité de l'enquêté

1. **Nom**

Sexe :

Tél :

2. **Tranche d'âge** : 20-30 ; 30-40 ; 40-50 ; 50-60 ; 70- ∞ .

3. **Situation familiale** (célibataire, marié, veuf...) :

Nombre d'enfants :

4. **Distance (Km, temps marche) domicile / surface agricole** :

B. Historique et foncier

1. **Première année d'agriculture** :

2. **Contexte d'acquisition des terres** :

3. **Seul propriétaire ou partage avec d'autres membres?**.....

5. **Location de terres (année, ha)** :

6. **Faits marquants de l'exploitation** :

C. Activité Curcuma/Production

1. Variétés

Espèces	Années de culture	Rendement	Couleur	Goût

2. **Localisation des parcelles de curcuma** :

3. **Culture d'association (O/N)..... Lesquelles et pourquoi ?**
.....

4. **Utilisation de curcuma par le ménage (O/N) :..... Sous quelle(s) forme(s) ?**

5. **Quelle(s) étape(s) réalisez-vous ?**

- Division rhizomes mères Défrichage Sarclage Paillage
 Jachère Labour Traitements phytosanitaires
 Fertilisation Autres :

6. **Période de récolte** :

7. D'après quels facteurs décidez-vous de récolter ?

a) Epreuves particulières

- o Feuilles jaunes
- o Taille des pieds
- o Sortie des rhizomes de la terre
- o Autres :

b) Sans épreuve

- o Besoin de trésorerie
- o Peur du vol sur pied
- o Présence de demande
- o Autres :

8. Récolte même si les feuilles sont vertes (O/N):

9. Nb main d'œuvre mobilisée/ embauchée :

10. Quels sont les problèmes liés à la culture ?

.....
.....

Comment les traiter vous ?

.....
.....

11. Utilisez-vous des fertilisants (O/N) :

Quel type ? Chimique ; Organique ; Bio-fertilisant

Autres à préciser.....

Connaissez-vous les bio-fertilisants ? OUI NON

Noms des fertilisants utilisés

.....

Autres à préciser :

12 -Rendement de culture

a-Urée

Bon Moins bon Mauvais

b-Engrais

Bon Moins bon Mauvais

c-Organique

Bon Moins bon Mauvais

d- Bio-fertilisant

Bon Moins bon Mauvais

f-Autres à préciser :

Bon Moins bon Mauvais

13 -Difficultés rencontrées

a-Conditions environnementales

Type de sol sécheresse excès d'eau variabilité climatique autres

