

Identification et caractérisation morphologique des champignons responsables de la maladie de nécroses racinaires de manioc dans la Province de la Tshopo en République Démocratique du Congo

Robert BEDIDJO^{1*}, Grégoire MAMBA^{1,2} et Godefroid MONDE^{1,2,3}

¹ Institut Facultaire des Sciences Agronomiques de Yangambi, Département de Phytotechnie, Laboratoire de Phytopathologie et Biotechnologie Végétales, BP 1232 Kisangani, RD Congo

² Institut Facultaire des Sciences Agronomiques de Yangambi, Central and West African Virus Epidemiology (WAVE), BP 1232 Kisangani, RD Congo

³ Institut International d'Agriculture Tropicale (IITA), Agenda de Transformation Agricole, BP 1222 BUKAVU, RD Congo

(Reçu le 18 Mars 2024 ; Accepté le 24 Avril 2024)

* Correspondance, courriel : bedidjobyensi@gmail.com

Résumé

Cette étude a pour objet d'identifier les champignons responsables de la maladie de nécroses racinaires de manioc (CNRD) dans la Province de la Tshopo en RD du Congo. Pour ce faire, une enquête a été réalisée dans trois champs de collection de manioc à savoir celui de WAVE/IFA-Yangambi, de IITA et celui de l'INERA-Yangambi. 30 échantillons de tubercule de manioc présentant les symptômes de nécroses ont été prélevés dans chaque champs de collection et ensuite amenées au Laboratoire de Phytopathologie et Biotechnologie végétales de WAVE/IFA-Yangambi pour être cultivés sur le milieu de culture PDA et faire des études macroscopiques et microscopiques de ces isolats. La sévérité de la maladie de nécroses racinaires de manioc a été obtenues pour les trois champs de collection et se présente de la manière suivante : le champ de collection de WAVE/IFA-Yangambi a une sévérité de 3, le champ de collection de l'IRERA-Yangambi a une sévérité de 2 et celui de IITA en a 2. Les analyses macroscopiques et microscopiques des isolats issus de racines de manioc nécrosées ont permis de mettre en évidence les genres de champignons responsables de cette maladie. Il s'agit de trois différents genres de champignons qui sont : 20 isolats appartenant au genre *Fusarium*, 28 isolats du genre *Phytophthora* et 10 isolats du genre *Pythium*.

Mots-clés : *champignons, nécrose, manioc, champs de collection, Tshopo.*

Abstract

Identification et caractérisation morphologique des champignons responsables de la maladie de nécroses racinaires de manioc dans la Province de la Tshopo en République Démocratique du Congo

The aim of this study is to identify the fungi responsible for cassava root necrosis disease (CNRD) in Tshopo Province, DR Congo. To this end, a survey was carried out in three cassava collection fields : WAVE/IFA-Yangambi, IITA and INERA-Yangambi were taken from each collection field and taken to the WAVE/IFA-Yangambi Plant Pathology and Biotechnology Laboratory to be grown on PDA culture medium and

to carry out macroscopic and microscopic studies on these isolates. The severity of cassava root necrosis disease was obtained for the three collection fields and is as follows : the WAVE/IFA-Yangambi collection field has a severity of 3, the IRERA-Yangambi collection field has a severity of 2 and the IITA collection field has a severity of 2. Macroscopic and microscopic analyses of isolates from necrotic cassava roots revealed the fungal genera responsible for this disease. These are three different genera of fungi: 20 isolates belonging to the genus *Fusarium*, 28 isolates from the genus *Phytophthora* and 10 isolates from the genus *Pythium*.

Keywords : *fungi, necrosis, cassava, collection fields, Tshopo.*

1. Introduction

Le manioc est l'aliment de base de plus de 800 millions de personnes dans les zones tropicales dont 500 millions en Afrique [1]. En 2019, la République Démocratique du Congo (RD Congo) est classée au deuxième rang en Afrique avec une production de 40 millions de tonnes par an derrière le Nigeria (59 millions de tonnes) [2]. A raison de la teneur élevée en amidon dans ses racines tubéreuses, le manioc constitue une source importante d'énergie métabolisable [3], les racines tubéreuses contiennent des quantités significatives de vitamines C, de thiamine, de riboflavine et de niacine. La consommation du manioc est en progression constante (2,5 à 3 % par an) [4]. Selon [5], le manioc constitue une source de revenu pour environ 70 % de la population congolaise. L'intérêt grandissant que le manioc représente auprès des paysans dans le but surtout commercial ou de subsistance a été démontré [6]. La productivité du manioc en Afrique centrale et orientale est considérablement limitée par deux maladies virales, la maladie de la mosaïque du manioc (CMD) et la maladie de la striure brune du manioc (CBSD). Ces deux viroses causent des pertes annuelles d'un milliard de dollars américains [7] et nuisent à la sécurité alimentaire dans la région sub-saharienne [8]. La maladie des nécroses racinaires de manioc (CNRD) sévit en RD Congo. C'est au début des années 2000, qu'une maladie caractérisée par de nécroses racinaires similaire à la striure brune du manioc (appelé CBSD-like) a été signalée dans les champs de manioc dans les contrées de Kinshasa et du Kongo - Central [9]. Toutefois, cette maladie n'a développé aucun symptôme caulinair ou foliaire contrairement à la CBSD qui présente des tels symptômes en Afrique de l'Est [10].

Par manque d'analyses moléculaires et suite à la similitude des symptômes racinaires avec la CBSD, l'étiologie virale été soupçonnée être la cause de la propagation de cette maladie similaire à la CBSD [11]. Les diagnostics par PCR, utilisant des amorces spécifiques au virus de la CBSD, n'ont pas permis de détecter ou d'identifier les agents pathogènes de nature virale dans les échantillons symptomatiques de manioc collectés à l'Ouest de la RD Congo [12]. Par conséquent, les techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS) ont été proposées. Ces techniques sont largement utilisées pour identifier les agents pathogènes responsables de maladies nouvelles [10]. Plusieurs tentatives d'identification de l'agent responsable de la CNRD à l'Ouest de la RD Congo ont été effectuées sans succès à ce jour [12]. Les résultats de diagnostics moléculaires de 5 laboratoires différents, utilisant des amorces PCR spécifiques de deux CBSV connus (CBSV et UCBSV), ont été négatifs pour les CBSVs. Ceci suggère que l'agent causal de la CNRD pourrait être différent de ceux connus actuellement [13]. Etant donné que les efforts orientés vers le diagnostic viral sont vains, nous pensons que les nécroses observées sur les racines du manioc auraient une origine fongique et/ou bactérienne. Pour ce faire, nous avons exploré trois champs de collection de manioc en vue d'identifier les champignons responsables de la maladie des nécroses racinaires de manioc (CNRD).

2. Matériel et méthodes

2-1. Sites et périodes de prospection

La collecte des données relatives à la présence de la maladie des nécroses racinaires a été effectuée dans trois champs de collection. Le premier est celui de WAVE situé au Pk14 sur l'axe ancienne route Buta (Latitude N 0°36,01' 872" ; Longitude E 25°15'53,83656" ; Altitude : 400,8 m), le second est celui de l'IITA situé au Pk43 de Kisangani sur l'axe route Ituri (Latitude N 0°28'58" ; Longitude E 25°31'638" ; Altitude : 482 m ; précision : 4,94 m) et le troisième est la collection de manioc de manioc de l'INERA Yangambi qui se trouve à environ 100 Km au Nord-Ouest de la ville de Kisangani, sur la rive droite en aval du Fleuve Congo (avec comme coordonnées géographiques : Latitude N 00°49, 190" ; Longitude E 024°27, 247" et 466 m d'altitude) dans la province de la Tshopo, en RD Congo. Cette collecte a été réalisée pendant une période de trois mois allant de Mars à Mai 2023.

2-2. Matériel

Les fragments des tubercules de différents cultivars de manioc présentant des nécroses ont été récoltés après arrachage de pieds. Les tubercules collectés ont été bien lavés avec de l'eau sur la couche externe, emballés avec du papier aluminium et placés dans une glacière pour être transportés au laboratoire de Phytopathologie et Biotechnologie végétale de WAVE/IFA-Yangambi pour les analyses (*Figure 1*). Les échantillons ont été gardés à 4°C dans un frigo avant les analyses. Le *Tableau 1* présente les différents cultivars de manioc issus de trois champs de collection de manioc dans la province de la Tshopo.



Figure 1 : Échantillons de tubercule manioc emballés dans du papier aluminium et placés dans une glacière

Tableau 1 : Différents cultivars de manioc sur lesquels les échantillons ont été prélevés

Champs de collecte d'échantillons	Coordonnées géographiques	Age de champs	Principaux cultivars	Nombre d'échantillon	Incidence CNRD	Sévérité (1-5)
WAVE	Latitude : N 0°36,01'872" Longitude : E 25°15'53,83656" Altitude : 400,8m	9 MAP	BODJALO, ZALINGO, BAGAGIRI, BASUKWABAO, ZAKANDO, YAFIRA, KIZOZOLI, MOEFA, KAUNGA, FOKA, KABUMBA, TSHOYA, POKEA, OBAMA, MUGULI, KASAKAKO, ILONA, KALANGA, NYAKE, BOKALASA, MASIYO, AGARAMA, NGUABA, CHARLOTE, POKO, MABENGO, ANGONDE, ALEMBIA, KELENGA, BISONDE	30	80	3
IITA	Latitude : N 0°28'58" Longitude E 25°31'638" Altitude : 482m	6 MAP	ILONA	30	33	2
INERA-Yangambi	Latitude : N 00°49, 190" Longitude : E 024°27, 247" Altitude : 466 m	9 MAP	YBI2018-060, YBI2019-835, YBI2019-1311, YBI2019-317, YBI2019-463, YBI2018-057, YBI2019-396, YBI2018-215, YBI2019-561, YBI2018-021, Gelali, Kindisa, YBI2018-179, YBI2018-167, YBI2019-407, YBI2018-06, YBI2018-078, YBI2019-860, Yafela, YBI2018-161, YBI2019-1095, YBI2019-1125, YBI2011-258, YBI2019-327, N'sansi, YBI2019-987, YBI2018-137, YBI2018-155, YBI2019-1189, YBI2018-048	30	73	2

2-3. Méthodes

2-3-1. Échantillonnage

Un total de 90 échantillons de tubercule de manioc a été collecté à raison de 30 échantillons par champs de collection de manioc (âgés de 6 à 9 mois). Pour chaque point d'échantillonnage, les coordonnées GPS ainsi que le nom de la variété de manioc ont été notés. Les plants échantillonnés ont été déracinés, leurs racines comptées et chacune coupée transversalement en cinq coupes à intervalles réguliers le long de la racine. La sévérité des nécroses racinaires était évaluée sur chacune de cinq tranches de la manière suivante [14] :

- (1) Racine apparemment saine ;
- (2) Moins de 2 % de nécroses ;
- (3) 2 à 5 % de nécroses ;
- (4) 5 à 50 % de nécroses ;
- (5) > 50 % de nécroses racinaires.

La **Figure 2** montre les images de chaque tranche de tubercule de manioc correspondant à une échelle de cotation allant de 1 à 5.



Figure 2 : Cotes de sévérité des nécroses racinaires de manioc

2-3-2. Paramètres pathologiques observés

L'incidence a été déduite des données relatives à la sévérité de la nécrose racinaire puis calculée comme suit :

$$\text{Incidence au champ} = \frac{\text{Nbre de plants ayant manifestés de nécroses racinaires}}{\text{Nbre total de plants observés}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Incidence au labo} = \frac{\text{Nbre de boîtes de pétri présentant le développement de colonies de m.o.}}{\text{Nbre total de boîte de petri ensemencés}} \times 100 \quad (2)$$

Les données de dépouillement des formulaires ont été analysées à l'aide du logiciel R 4.3.2 (R Core Team 2023). L'identification des champignons a été rendu possible grâce à un isolement des tissus malades de manioc au laboratoire sur le milieu de culture spécifique PDA

2-3-3. Mode opératoire

La préparation de milieu culture s'est effectuée de la manière suivante : On commence par peser 42g de PDA et le mélangé dans 1000 ml d'eau distillée puis homogénéiser la solution, ensuite autoclaver la solution pendant 15 - 20 minutes à 120°C. Laisser la solution se refroidir à 50°C dans un bain-marie. Sous hotte à flux laminaire, à côté d'une flamme et dans les conditions totales d'asepsie :

- Il faut Tremper les tissus végétaux dans une solution saline (NaCl 0,85 %) pendant 30 minutes ;
- Les tissus végétaux sont déposés sur le milieu de culture (dans des boites à pétri) au moyen d'une pince ;
- L'anse d'ensemencement est stérilisée dans l'alcool éthylique 70 % et la faire passer à la flamme du bec bunsen ;
- Il faut étaler la suspension par épuisement sur les milieux de culture nouvellement préparés en guise de repiquage ;
- On laisse incuber à 27°C, 85 % d'humidité, au pH 7 et durant 3 jours. Les colonies fongiques vont se développer ;
- Le repiquage s'est effectué sur la colonie âgée de 72 heures.

2-3-3-1. Purification et conservation des isolats

Une purification a été faite en réalisant des repiquages successifs sur le milieu PDA jusqu' à l'obtention de colonies pures [15, 16]. Les souches ont été également ensemencées en gélose PDA en tubes inclinées puis incubées pendant 7 jours à 28°C et stockées à 4°C.

2-3-3-2. Étude macroscopique

Cette étude a été basée sur l'observation à l'œil nu des colonies développées sur les milieux PDA. Les observations des caractères ont porter sur :

- L'aspect et la texture de la colonie (duveteux, floconneux, soyeux, cotonneux, etc.) ;
- La couleur de la surface (recto) et du revers de la boite (verso) ;
- La présence ou l'absence de gouttelettes (exsudats) sur le mycélium ;
- La production de pigments diffusibles.

2-3-3-3. Étude microscopique

Pour cela, et à l'aide d'une anse de platine stérile on a prélevé un fragment de la colonie fongique que l'on a déposé sur une lame. Cet échantillon a été ensuite coloré par le bleu de lactophénol ou le bleu Cotton. La lame a été ensuite recouverte d'une lamelle, puis observée au microscope avec caméra au grossissement 40 X (taille 1024x768) [17, 18]. Les observations des caractères ont porté sur :

- La vitesse de croissance radiale (par mesure de diamètre de la colonie fongique après 3, 6, 9 et 12 jours d'incubation) ;
- Le type des hyphes : cloisonnés ou non ;
- La présence de macro conidies, leurs caractéristiques ;
- La présence ou l'absence de micro conidies, leur forme (fusiformes, piriformes, ellipsoïdes, ovoïdes ou subglobuleuses), leur nombre et abondance ainsi que leur disposition : attachées sur le mycélium ou libres ;
- La présence ou l'absence de chlamydozoospores, leur disposition : terminales ou intercalaires et leur regroupement : isolées, en amas, en chaînes.

Les caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques) des isolats ont été observés au microscope. Les photos prises ont été comparées par rapport à la clé de détermination CMI.

3. Résultats

3-1. Paramètres pathologiques observés

Les résultats relatifs aux paramètres pathologiques sont indiqués sur la **Figure 3** si dessous montre que le champ de collection de manioc de WAVE présente une incidence au champ de 80 % et une incidence au labo (culture microbienne) de 90 %, le champ de collection de IITA a une incidence au champ de 33 % et une incidence au labo identique et celui de l'INERA-Yangambi a une incidence au champs de 73 % et une incidence au labo de 83 %. Cette différence au niveau de ces deux paramètres pathologiques (indécence au champs et au labo) est due au fait qu'après la culture des fragments de tubercules, certains échantillons qui apparemment sains avaient de germes de champignons. En ce qui concerne la sévérité, il ressort que le champ de collection de manioc de WAVE présente une sévérité de CNRD de 3, celui de l'INERA en est de niveau 2 et celui de l'IITA de niveau 2. Le test de Kruskal-Wallis (df = 2, p-value = 0.01074) montre qu'il y a une différence hautement significative en ce qui concerne la sévérité de la CNRD entre ces différents champs de collection.

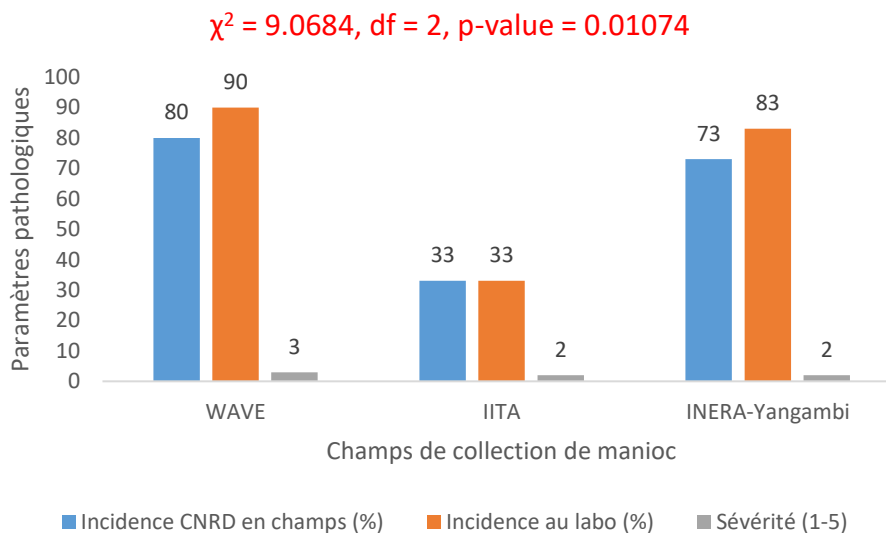


Figure 3 : Incidences et sévérité de la CNRD dans les trois champs de collection de manioc

3-2. Champignons isolés et caractérisés morphologiquement

Les cultures réalisées à partir des échantillons de 90 cultivars de manioc (voir les matériels) ont abouti à des aspects, de texture et de couleurs différentes sur milieu PDA. L'identification des isolats obtenus a été basée essentiellement sur les clés de détermination décrites par la littérature [19, 20], en se basant sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, forme, contour, pigmentation sur Agar) et sur les caractères microscopiques du mycélium et des conidies ou spores (cloisonnement du mycélium, forme des spores, forme des organes de fructification).

3-2-1. Observation macroscopique des isolats

Un total de 90 isolats a été obtenu sur 90 cultivars de manioc à raison de 30 isolats issus de cultivars de champs de collection de WAVE, 30 cultivas issus de champs de collection de l'IITA et 30 autres issus de champs de collection de l'INERA-Yangambi. Sur l'ensemble des isolats, 58 ont manifesté une croissance sur le PDA et 32 n'ont pas manifestés une croissance sur le même milieu de culture. Après purification des souches isolées

sur le milieu PDA, les caractères macroscopiques étudiés sur le milieu PDA sont résumés dans le **Tableau 2** ci-dessous :

- 8 isolats de champ de collection de WAVE, 3 isolats de champ de collection de IITA et 9 isolats ont présenté les mêmes caractères morphologiques macroscopiques de la colonie à savoir une couleur blanche qui tend vers beige, un aspect laineux, une forme régulière, un contour régulier, une absence de gouttelette et une absence de pigmentation sur agar ;
- Par contre, 7 isolats de champ de collection de WAVE, 5 isolats de champ de collection de IITA et 16 isolats de champ de collection de l'INERA-Yangambi ont présenté les mêmes caractères morphologiques macroscopiques de la colonie à savoir une couleur blanc jaunâtre, un aspect velouteux, une forme irrégulière, un contour ondulé, une présence de gouttelette et une absence de pigmentation ;
- En fin, 8 isolats de champ de collection de WAVE et 2 isolats de champs de collection de IITA ont présenté les mêmes caractères morphologiques macroscopiques de la colonie à savoir une couleur blanche orange, un aspect poudreux, une forme irrégulière, un contour ondulé, une absence de gouttelette et une absence de pigmentation

Tableau 2 : *Caractéristiques morphologiques macroscopiques des isolats identifiés sur le PDA*

Champ de collection	Nombre d'isolats	Couleur	Aspect	Forme	Contour	Gouttelette	Pigmentation sur agar
WAVE	8	Blanche	Laineux	Régulière	Régulier	Absente	Non
	7	Blanc orange	velouteux	Irrégulière	Ondule	Présente	Non
	8	Blanche	Poudreux	Irrégulière	Ondule	Absente	Non
IITA	3	Blanche	Laineux	Régulière	Régulier	Absente	Non
	5	Blanc orange	velouteux	Irrégulière	Ondule	Présente	Non
	2	Blanche	Poudreux	Irrégulière	Ondule	absente	Non
INERA-Yangambi	9	Blanche	Laineux	Régulière	Régulier	Absente	Non
	16	Blanc orange	velouteux	Irrégulière	Ondule	Présente	Non

3-2-2. Observation microscopique des isolats

L'étude microscopique réalisée a porté sur l'observation des structures caractéristiques de 58 isolats fongiques obtenus. L'observation au grossissement de 40x (taille 1024 x 768) a été faite sur la structure du mycélium, le mode de formation des spores, la forme de spores et sur l'organe de fructification. Partant des différents critères d'identification taxonomique des champignons étudiés dans cette étude (**Tableaux 2 et 3**), les résultats de caractérisation morphologique (macroscopique et microscopique) des isolats obtenus ont donné 20 isolats au genre *Fusarium* et 28 isolats au genre *Phytophthora* et 10 isolats au genre *Pythium*. Les résultats d'observations microscopiques ont permis de regrouper les isolats trouvés au sein des genres taxonomiques dans le **Tableau 3**.

Tableau 3 : Les caractéristiques microscopiques des isolats au grossissement de 40x (taille 1024 x 768)

Champ de collection	Nombre d'isolats	Mode de formation des spores	Structure du mycélium	Forme des spores	Organe de fructification
WAVE	8	Blastique	Non Cloisonnée	Macro conidie fusiforme	-
	7	Blastique	Cloisonnée	Ovoïde	Arthroconidie
	8	Thalique	Cloisonnée	Ovoïde	Thalle portant de Masse de spore
IITA	3	Blastique	Non Cloisonnée	Macro conidie fusiforme	-
	5	Blastique	Cloisonnée	Ovoïde	Arthroconidie
	2	Thalique	Cloisonnée	Ovoïde	Thalle portant de Masse de spore
INERA-Yangambi	9	Blastique	Non Cloisonnée	Macro conidie fusiforme	-
	16	Blastique	Cloisonnée	Ovoïde	Arthroconidie

3-3. Croissance radiale moyenne de champignons

Ce paramètre a été obtenu grâce à une mesure de diamètre des isolats des colonies fongiques qui se sont développées sur le milieu PDA après 3, 6, 9, 12 jours d'incubation. La croissance radiale moyenne de diamètre des colonies fongiques est représentée dans la **Figure 4** et elle a évolué en fonction du genre de champignon et de temps d'incubation, le genre *Fusarium* a été le plus performant sur le milieu PDA avec une moyenne de 6,21 cm de diamètre au cours de 12 jours de culture suivie du genre *Phytophthora* avec une moyenne de 5,58 cm de diamètre et le genre *Pythium* a été le moins performant sur le même milieu de culture avec une moyenne de 5,29 cm de diamètre au cours de 12 jours d'incubation.

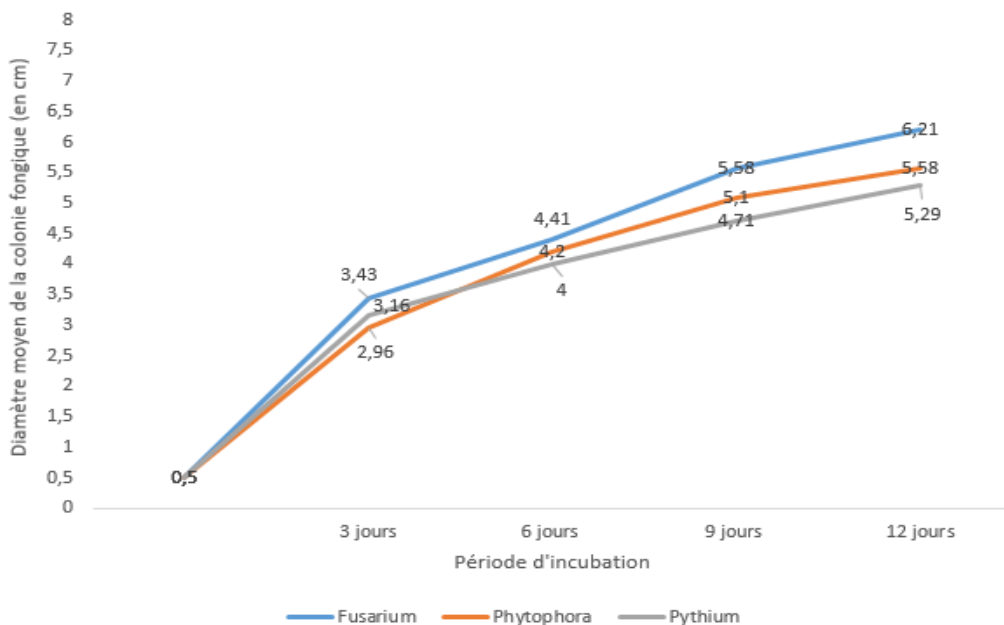


Figure 4 : Croissance moyenne de diamètre des colonies fongiques à 12 jours d'incubation sur le milieu de culture PDA

3-4. Accroissement moyen de diamètre des colonies fongiques

Il a été obtenu grâce à une mesure de différence de croissance de diamètre moyen des colonies fongiques sur le milieu de culture PDA après 3, 6, 9 et 12 jours d'incubation. L'accroissement moyen est représenté dans la **Figure 5**. L'accroissement moyen de diamètre des colonies fongiques a évolué en fonction du genre de champignon et du temps d'incubation. Le genre *Fusarium* a manifesté un meilleur accroissement de diamètre moyen des colonies fongiques sur le PDA avec 2,93 cm, suivie *Pythium* 2,66 cm et enfin *Phytophthora* 2,46 cm de diamètre. Ces valeurs ont diminué au fur et à mesure de la durée d'incubation pour atteindre une moyenne d'accroissement 0,63 cm de diamètre pour le *Fusarium*, 0,58 cm de diamètre pour le *Pythium* et 0,48 cm de diamètre pour le *Phytophthora* entre 9^{ème} et 12^{ème} jour d'incubation. Il est à noter que ces meilleurs résultats ont été obtenus au début de la période d'incubation de ces isolats sur le milieu PDA. Il s'explique par le fait que les colonies fongiques sont encore très jeunes et que le milieu de culture est encore très nutritif pour permettre à ces différentes colonies d'exprimer leurs potentialités de croissance.

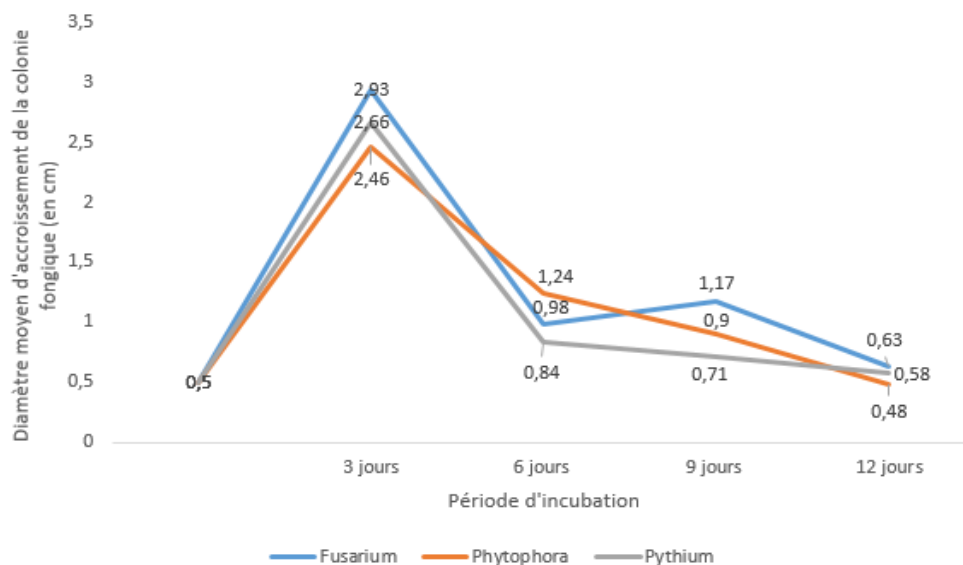


Figure 5 : Accroissement moyenne de diamètre des colonies fongiques à 3,6,9 et 12 jours d'incubation sur le milieu de culture PDA

4. Discussion

Très peu d'études se sont penchées sur la maladie des nécroses racinaires de manioc qui sévit dans certaines régions de la République Démocratique du Congo. Il semble qu'il y ait deux maladies distinctes, à savoir la maladie de nécroses racinaires de manioc (CRND) et la maladie de la striure brune du manioc (CBSD), qui présentent des symptômes de nécroses racinaires similaires mais des symptômes différents sur la tige et le feuillage. Les connaissances sur l'étiologie de la maladie sont de première importance dans la lutte contre les maladies des plantes [21]. Le choix du milieu PDA pour l'isolement des espèces fongiques pathogènes dans cette étude est basé sur son utilisation réussie dans des études précédentes et mentionné comme un milieu approprié pour l'isolement d'une large gamme de champignons [22]. L'identification des agents pathogènes responsables de la maladie de nécroses racinaires était faite sur 90 isolats pour la culture fongique. Les résultats de l'identification morphologiques des isolats obtenus ont révélé que 20 isolats appartiennent au genre *Fusarium*, 28 isolats appartenant au genre *Phytophthora* et 10 isolats au genre *Pythium*. Le travail de [23] sur les caractérisations morphologiques des isolats a révélé 17 isolats appartenant au genre *Fusarium*.

Par ailleurs, les résultats de la caractérisation moléculaire ont révélé une identité très forte ces isolats avec l'espèce *Fusarium solani*. [24] isolent et identifient certains champignons pathogènes associés à la maladie de la pourriture des racines du manioc (*Manihot esculenta* Crantz) au Cameroun. Ils recueillent 20 isolats sur 64 tiges de manioc présentant des symptômes des pourritures des racines et révèlent l'existence des sept champignons dont *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Pestalotia* sp., *Geotrichum* sp., *Trichoderma viride* et *Botryodiplodia theobromae*. Lors d'un séquençage HTS effectué par l'équipe de [11], des reads ont été aussi assignés aux microorganismes, parmi ceux-ci, les bactéries du genre *Xanthomonas* et les champignons du genre *Fusarium* faisaient partie des microorganismes qui ont été identifiés. Les travaux [23] et [11] viennent confirmer en partie nos résultats sur la présence soupçonnée des champignons du genre *Fusarium* et bactéries du genre *Xanthomonas* sur les échantillons portant les symptômes de maladie des nécroses racinaires de manioc. Malheureusement, aucun travail antérieur n'a pu mettre celui-ci en relation avec les nécroses racinaires observées chez le manioc.

5. Conclusion

L'objectif de cette étude était d'identifier les champignons responsables de la maladie des nécroses racinaires de manioc (CNRD) dans la province de la Tshopo en RD Congo. Pour ce faire, il fallait déterminer la sévérité de la CNRD dans les champs de collection de manioc de WAVE-IFA /Yangambi, de IITA et celui de l'INERA-Yangambi et en second lieu il fallait arriver à identifier les champignons responsables de cette maladie. Les résultats obtenus ont montré qu'au champ de collection de WAVE-IFA /Yangambi, la sévérité a été la plus élevée avec une valeur de 3, celui de l'INERA-Yangambi et de IITA ont une sévérité de 2 pour chacun d'entre eux. Le test de Kruskal-Wallis ($df = 2$, $p\text{-value} = 0.01074$) montre qu'il y a des différences hautement significatives entre les sévérités de la CNRD de ces différents champs de collection. Au total 90 échantillons ont été observés sur le PDA. La caractérisation morphologique (macroscopique et microscopique) des isolats ont donné un résultat de 20 isolats au genre *Fusarium* et 28 isolats au genre *Phytophthora* et 10 isolats au genre *Pythium* tandis que 32 isolats ont donné un résultat négatif.

Remerciements

Nous remercions le professeur Jeans Claude MONZENGA responsable de Laboratoire d'Entomologie Appliquée et Fonctionnelle (LENAF) pour son appui technique à la présente étude ainsi que l'Ingénieur Assistant Jérémie ANGAFHUNE et tous les chercheurs du Laboratoire de Phytopathologie et Biotechnologie végétale de l'Institut Facultaire des Sciences Agronomiques de Yangambi pour leurs diverses contributions.

Références

- [1] - P. VERNIER, B. N'ZUE and N. ZAKHIA-ROZIS, "Le manioc, entre culture alimentaire et filière agro-industrielle", Ed. Quae CTA Presses agronomiques de Gembloux, Paris, (2018) 203 p.
- [2] - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT statistical database. [Rome] : FAO, (2021), <https://www.faostat.org> consulté le 07 Octobre 2023
- [3] - Food and Agriculture Organization. Produire plus avec moins : le manioc, guide pour une intensification durable de la production, Rome, (2013) 128, <https://www.fao.org> consulté le 09 Octobre 2023
- [4] - J. H. COCK, "Cassava, New Potential for a Neglected Crop", West View Press, Inc., Boulder, CO, (1985) 191 p.
- [5] - Food and Agriculture Organization, Encouragement de la recherche relative au manioc et promotion de la production. In : Créer des partenariats pour parvenir à la sécurité alimentaire, (2000) 11 - 13 <https://www.fao.org> consulté le 12 Octobre 2023

- [6] - S. S. BERRY, "Socioeconomics aspects of cassava cultivation and use in Africa: Implication for the development of appropriate technology", COSCA Working Paper, Ibadan, 08 (1993) 173 - 191
- [7] - I. NZINGA, "Epidémiologie de la maladie de la mosaïque du manioc en République Centrafricaine, résistance variétale et assainissement par thérapie", Thèse unique, Université de La Reunion, Saint-Denis, (2012) 142 p.
- [8] - B. L. PATIL, J. P. LEGG, E. KANJU and C. M. FAUQUET, "Cassava brown streak disease : a threat to food security in Africa", *Journal of General Virology*, 96 (2015) 956 - 968
- [9] - N. M. MAHUNGU, M. BIDIKA, H. TATA, S. LUKOMBO and S. NLUTA, "Cassava brown streak disease-like symptoms in Democratic Republic of Congo", *Roots Newsletter*, 8 (2) (2003) 8 - 10
- [10] - Z. BAKELANA, "La maladie des nécroses racinaires du manioc (MNRM en sigle et dénommée anciennement maladie similaire à la striure brune du manioc) en République Démocratique du Congo et ses environs. Symptomatologie et essais de caractérisation de l'agent pathogène", Thèse unique, Université de Kinshasa, Kinshasa, (2022) 114 p.
- [11] - Z. BAKELANA, J. PITA, G. MONDE, N. M. MAHUNGU, L. MUNSEKI, T. KANANA and M. KALONJI, "Cassava Root Necrosis Disease (CRND): A New Crop Disease Spreading in Western Democratic Republic of Congo and in Some Central African Countries" *Journal of Agricultural Science*, 12 (3) (2020) 105
- [12] - Z. BAKELANA, L. BOYKIN, N.M. MAHUNGU, N. MAVILA, M. MATONDO, M. LUFUANKENDA, N. TEVO, G. MONDE, J. PITA, K. M. LEMA and K. TSHILENGE, "First report and preliminary evaluation of cassava root necrosis in Angola", *International Journal of Agriculture, Environment and BioResearch*, 4 (03) (2019b) 37 - 46
- [13] - Z. BAKELANA, J. PITA, L. BOYKIN, K. MWANGU, N. TEVO, K. MAYANZA, M. BETEZI, N. TUWIZANA, T. MUKENDI, N. TSHIAMALA, N.M. MAHUNGU, K. M. LEMA, G. MONDE, K. TSHILENGE AND M. KALONJI, "Assessing the Severity and the Incidence of Cassava Root Necrosis Disease in Western Democratic Republic of Congo", *International Journal of Agriculture, Environment and BioResearch*, 04 (6) (2019) 237 - 253
- [14] - R. J. HILLOCKS and J. M. THRESH, "Cassava mosaic and cassava brown streak virus diseases : A comparative guide to symptoms and aetiologies", *Roots*, 7 (2000) 1 - 8
- [15] - J. F. LESLIE and B. A. SUMMERELL, "The Fusarium laboratory manual", Blackwell Publishing, Ames USA, 01 (1) (2006) 88 - 369
- [16] - J. I. PITT and A. D. HOCKING, Springer London New York, 04 (2009) 89 - 122
- [17] - D. CHABASSE, J. P. BOUCHARA, L. DE GENTILE, S. BRUN, B. CIMON et P. PENN, "Les moisissures d'intérêt médical, cahier de formation en biologie médicale", *Bioforma*, Paris, 25 (2002) 157 p.
- [18] - C. V. SCIORTINO, "Atlas of clinically important fungi" Ed. John Wiley & Sons, New York, (2017) 195 - 216
- [19] - B. BOTTON, A. BRETON, M. FEVRE, P. GUY, J. P. LARPENT and P. VEAU, "Moisissures utiles et nuisibles", Ed. Dunod, Montpellier, (1990) 512 p.
- [20] - J. P. GUIRAUD, C. BRABET, A. FONTANA, S. GALINDO and D. MONTET, "Microbiologie alimentaire", Ed. Dunod, Montpellier, (1998) 652 p.
- [21] - P. TWUMASI, O. M. GODFRIED and M. EMMANUEL, "The rot fungus *Botryodiplodia theobromae* strains cross infect cocoa, mango, banana and yam with significant tissue damage and economic losses", *African Journal of Agricultural Research*, 9 (6) (2014) 613 - 619
- [22] - K. ATTRASSI, K. SELMAOUI, A. O. TOUHAMI, A. BADOE et A. DOUIRA, "Biologie et physiologie des principaux agents fongiques de la pourriture des pommes en conservation et lutte chimique par l'azoxystrobine", *Bull. Soc. Pharm.*, Bordeaux, 144 (2) (2005) 47 - 62
- [23] - B. M. AMURI, "Caractérisation morphologique et moléculaire des agents phytopathogènes fongiques potentiellement impliqués dans la maladie des nécroses racinaires de manioc à l'ouest de la République Démocratique du Congo", Université de Liège, *Gembloux Agro Bio Tech*, (2022) 77 p.
- [24] - N. A. I. C. NYAKA, D. P. KAMMEGNE, N. G. NTSOMBOH, M. MBENOUN, S. ZOK and D. FONTEM, "Isolation and identification of some pathogenic fungi associated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) root rot disease in Cameroon", *African Journal of Agricultural Research*, 10 (50) (2015) 4538 - 4542