



THÈSE DE DOCTORAT

FORMATION DOCTORALE

AGRICULTURE ET ENVIRONNEMENT TROPICAL

Mention : Ecologie, Biodiversité et Evolution

Spécialité : Génétique et Epidémiologie Moléculaire

THÈME :

Caractérisation morphologique et moléculaire d'une collection d'isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* et identification de marqueurs de résistance à la fusariose chez le cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) en Côte d'Ivoire

Prénoms : Abenan N'Guessan
Marie-France

NOM : KOUAME

JURY

- Président : M. KOFFI Béné Jean-Claude Professeur Titulaire,
Université Jean LOROUGNON GUEDE, Côte d'Ivoire,
- Directeur : M. KOFFI N'Goran Mathurin, Professeur Titulaire,
Université Jean LOROUGNON GUEDE, Côte d'Ivoire
- Co-Directeur : Mme AKANVOU Louise, Directeur de Recherche,
Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Côte d'Ivoire
- Rapporteur : M. DIARRASSOUBA Nafan, Professeur Titulaire,
Université Péléforo GON COULIBALY, Côte d'Ivoire
- Examineur : M. ALLOU Kouassi René, Directeur de Recherche,
Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Côte d'Ivoire
- Examineur : Mme YAH N'Guettia Marie, Maître de Conférences,
Université Jean LOROUGNON GUEDE, Côte d'Ivoire

Soutenue le 02/04/2026

TABLE DES MATIERES

DEDICACES	vi
AVANT-PROPOS	vii
REMERCIEMENTS	viii
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	xii
LISTE DES TABLEAUX	xvi
LISTE DES FIGURES	xviii
LISTE DES ANNEXES	xx
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES	5
1. 1. ORIGINE DU COTONNIER ET CULTURE	6
1.1.1. Origine et répartition géographique.....	6
1.1.2. Systématique.....	6
1.1.3. Description générale de la plante.....	7
1.1.3.1. Morphologie du cotonnier.....	7
1.1.3.2. Biologie et physiologie du cotonnier	11
1.1.4. Cycle de développement du cotonnier.....	11
1.1.5. Besoins nutritionnels du cotonnier	13
1.1.6. Écologie du cotonnier	13
1.1.7. Importance socio-économique.....	14
1.1.8. Utilisation des produits du cotonnier et système d'encadrement de la production	16
1.1.8.1. Utilisation des produits du cotonnier	16
1.1.8.2. Système d'encadrement de la production	17
1.1.9. Contraintes liées à la croissance de la production cotonnière en Côte d'Ivoire	18
1.1.9.1. Ravageurs du cotonnier.....	18
1.1.9.2. Maladies du cotonnier.....	20
1.1.9.2.1. Maladies virales.....	21
1.1.9.2.2. Maladies bactériennes	21
1.1.9.2.3 Maladies fongiques.....	21
1.2. FUSARIOSE DU COTONNIER	23
1.2.1. Spécificité de l'hôte	23
1.2.2. Taxonomie	26
1.2.3. Caractère macroscopique et microscopique de <i>Fusarium oxysporum</i>	27
1.2.4. Déterminisme génétique du pouvoir pathogène de <i>Fusarium oxysporum</i>	29

1.2.5. Symptômes de la fusariose du cotonnier	31
1.2.6. Cycle de développement du pathogène	32
1.2.7. Conditions de développement du pathogène	33
1.2.8. Interaction hôte-pathogène	34
1.2.9. Dissémination et dispersion.....	35
1.2.10. Capacité d'adaptation du pathogène.....	35
1.3. METHODE DE LUTTE CONTRE LA FUSARIOSE DU COTONNIER	35
1.3.1. Méthodes de lutte prophylactiques	35
1.3.2. Méthodes de lutte agronomiques	36
1.3.3. Méthodes de lutte chimiques	36
1.3.4. Méthodes de lutte biologiques	37
1.3.5. Méthodes de lutte variétales	37
1.4. CARACTERISATION MOLECULAIRE	38
1.4.1. Diversité moléculaire.....	38
1.4.1.1. Marqueurs moléculaire, avantages et inconvénients	38
1.4.1.2. Caractérisation moléculaire basée sur les microsatellites	41
1.4.2. Gènes de virulence chez <i>Fusarium oxysporum</i>	44
1.4.3. Gènes et mécanismes de résistance des plantes.....	45
1.4.3.1. Résistance des plantes aux agents pathogènes.....	46
1.4.3.1.1. Différents phénotypes de résistances	46
1.4.3.1.2. Mécanismes moléculaires de la résistance des plantes	47
1.4.3.1.3. Relation phénotype et mécanismes moléculaires	50
1.4.3.2. Etapes de déclenchement de défense de la plante.....	51
1.4.3.2.1. Reconnaissance de l'agent pathogène	51
1.4.3.2.2. Transduction du signal intracellulaire	51
1.4.3.2.3. Déclenchement de la résistance basale.....	52
1.4.3.2.4. Déclenchement immunitaire.....	53
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES	55
2.1. SITES DE COLLECTE D'ECHANTILLONS.....	56
2.2. MATERIEL.....	57
2.2.1. Matériel biologique.....	57
2.2.1.1. Matériel végétal	57
2.2.1.2. Matériel fongique.....	57
2.2.2. Matériel technique	57

2.2.2.1. Matériel de laboratoire	57
2.2.2.2. Matériel de terrain.....	59
2.3. METHODES	60
2.3.1. Caractérisation morphologique des souches de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	60
2.3.1.1. Prospection et collecte d'échantillons de plants	60
2.3.1.2. Isolement de l'agent fongique.....	60
2.3.1.3. Identification de <i>Fusarium oxysporum</i>	61
2.3.1.4 Caractérisation culturales des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	61
2.3.1.4.1. Isolement monospores	61
2.3.1.4.2. Evaluation de la croissance des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	62
2.3.2.1.3. Détermination de la concentration sporale des isolats	63
2.3.2. Caractérisation de la pathogénicité des isolats	64
2.3.2.1. Evaluation du pouvoir pathogène des isolats.....	64
2.3.2.1.1. Préparation de l'inoculum	64
2.3.2.1.2. Préparation des plants de cotonnier à inoculer	64
2.3.2.1.3. Inoculation des plants de cotonnier et évaluation du pouvoir pathogène des isolats.....	65
2.3.2.2. Détection des gènes de virulence	66
2.3.2.2.1. Extraction d'ADN des isolats fongiques	66
2.3.2.2.2. Préparation du gel d'agarose 1,5 %	67
2.3.2.2.3. Détermination de la quantité et de la qualité de l'ADN	68
2.3.2.2.4. Réalisation de la PCR.....	68
2.3.2.2.5. Electrophorèse et visualisation des produits d'amplification.....	69
2.3.2.3. Analyse de données sur la pathogénicité des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	69
2.3.3. Evaluation de la diversité génétique des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	70
2.3.3.1. Amplification de l'ADN par PCR.....	70
2.3.3.2. Electrophorèse des produits PCR.....	71
2.3.3.3. Révélation des fragments d'ADN amplifiés	72
2.3.3.4. Analyse des données pour l'étude de la diversité génétique des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	72

2.3.3.4.1. Diversité génétique intrapopulation	72
2.3.3.4.2. Diversité génétique interpopulation	76
2.3.3.4.3. Analyse moléculaire de variance.....	77
2.3.3.4.4. Structuration génétique de la population de <i>Fusarium oxysporum</i> étudiée ..	78
2.3.4. Identification de marqueurs génétique de résistance du cotonnier à la fusariose.....	78
2.3.4.1. Phénotypage de quelques variétés de coton.....	78
2.3.4.2. Génotypage d'un panel de variétés de cotonnier à l'aide des marqueurs moléculaires	78
2.3.4.2.1. Extraction et quantification d'ADN végétal.....	78
2.3.4.2.2. Marqueurs microsatellites utilisés	79
2.3.4.2.3. Migration sur séquenceur à capillaire	81
2.3.4.3. Analyse des données issues de l'identification de marqueurs associés à la résistance à la fusariose.....	82
2.3.4.3.1. Analyse de données de phénotypage du panel de variétés de coton	82
2.3.4.3.2. Analyse du génotypage des accessions de coton.....	82
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION.....	84
3. 1. RESULTATS	85
3.1.1. Caractéristiques morphologiques des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	85
3.1.1.1. Distribution géographique de la fusariose en Côte d'Ivoire	85
3.1.1.2. Caractères cultureux.....	86
3.1.1.3. Effet des milieux de culture sur la croissance radiale des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	90
3.1.1.4. Densité des spores des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> en fonction des milieux des milieux de culture	92
3.1.2. Caractéristiques de la pathogénicité des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	94
3.1.2.1. Pouvoir pathogène évalué des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	94
3.1.2.2. Corrélation entre les paramètres caractéristiques des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	97
3.1.2.3. Regroupement des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> selon leurs caractères morphologiques et leur pouvoir pathogène.....	98

DEDICACES

A :

- *Ma mère, CATHERINE Abenan ;*

Affable, honorable, aimable, noble, persévérante, tu représentes pour moi le symbole de la femme battante par excellence, la source de tendresse et du dévouement. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Tu as fait plus que ce qu'une mère puisse faire pour ses enfants, en me guidant sur le bon chemin dans ma vie. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

- *Mon père KOUMAN Atta Kouamé Noël ;*
- *Mes frères et sœurs ;*
- *Mes enfants KOUADIO Kobenan N'da Yowane Phillias et KOUMA Abenan Adepà Eliora Aélis*
- *Mon compagnon KOUMA Kouabenan Thian*

En reconnaissance à tous les sacrifices que vous avez consentis pour moi durant mes longues années d'études. Je vous remercie pour m'avoir donné le goût du travail, des études, à vivre dans la dignité et avec honneur.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et mon bien-être. Merci pour vos prières, votre patience, votre confiance et vos encouragements qui m'ont toujours donné de la force pour persévérer et continuer d'aller de l'avant. Je mets aujourd'hui entre vos mains le fruit de vos innombrables peines et sacrifices. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés à mon endroit.

La famille c'est là où la vie commence et où l'amour ne finit jamais.

AVANT-PROPOS

Cette étude, intitulée << Caractérisation morphologique et moléculaire d'une collection d'isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. et H. et identification de marqueurs de résistance à la fusariose chez le cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) en Côte d'Ivoire >> est le fruit d'une large collaboration impliquant quatre Institutions : le Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa (UJLoG), l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB), et le Centre de Coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement (Cirad) de Montpellier, en France.

Elle a été réalisée en partie dans le Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie végétale à l'INP-HB de Yamoussoukro et le Laboratoire de l'Unité de Recherche en Génétique et Epidémiologie Moléculaire (URGEM) à l'UJLoG de Daloa. Une autre partie a été réalisée sur les plateaux de mycologie et génotypage de l'Unité Mixte de Recherche (UMR) Agap Institut du Cirad de Montpellier, en collaboration avec le CNRA qui a suivi toutes les activités de cette thèse.

Ces travaux pionniers dans l'utilisation des marqueurs moléculaire microsatellites (SSR) pour l'étude de la diversité génétique de souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* ont connu de nombreuses difficultés de mise au point des techniques. Néanmoins, les résultats obtenus, sans être exhaustifs, demeurent significatifs et intéressants, répondant à des questions essentielles, posées dans le cadre d'une étude qui ébauche une problématique nouvelle de la fusariose vasculaire chez le cotonnier, en Côte d'Ivoire.

REMERCIEMENTS

Nous voudrions à travers cette lucarne, exprimer notre gratitude à toutes les personnes qui, d'une manière ou d'une autre, de près ou de loin, ont permis l'aboutissement de cette thèse.

Nos remerciements vont à l'endroit de :

- Professeure ADOHI Krou Viviane, Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé, pour sa contribution à l'amélioration de la formation des étudiants et à l'innovation de la recherche qu'elle apporte à cette institution ;

- Professeure TIDOU Abiba Sanogo, ex-Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé, pour avoir accepté mon inscription et ma formation au sein de cette institution qu'elle a dirigée ;

- Professeur SORO Dogniméton, Vice-Président de l'Université Jean Lorougnon Guédé, Chargé de la Pédagogie et de la Vie Universitaire, de la Recherche et de l'Innovation Technologique pour avoir été toujours attentif à nos préoccupations ;

- Professeur KONE Issiaka, Vice-Président de l'Université Jean Lorougnon Guédé, Chargé de la Programmation, de la Planification et des Relations Extérieures pour ses encouragements et l'intérêt qu'il a porté à ce travail ;

- Professeur KOUASSI Kouakou Lazard, Directeur de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) Environnement de l'Université Jean Lorougnon Guédé pour avoir accepté mon inscription au sein de son UFR me donnant ainsi l'opportunité de faire des études doctorales ;

- Professeur KOFFI Béné Jean-Claude, Directeur de Laboratoire de Biodiversité et Ecologie Tropicale de l'Université Jean Lorougnon Guédé, par ailleurs Président de Jury de cette thèse, pour m'avoir accueillie dans son Laboratoire. Sincères remerciements pour votre disponibilité et votre volonté de voir les jeunes s'investir dans la recherche qui nous ont particulièrement marqués.

- Professeur SANGARE Abdourahamane, Directeur Général du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), pour m'avoir accueillie dans sa structure de recherche ;

- Docteur AMANI Michel, Directeur Général Adjoint du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), pour ses conseils ;

- Docteur KOUASSI N'gouan Cyrille, Directeur de Recherche, Directeur Régional du CNRA de Bouaké, pour m'avoir reçue dans sa direction et pour la facilitation de mon stage auprès des responsables de la Station Cultures Vivrières de Bouaké.

.- Docteur N'GORAN Kouadio Emmanuel, Directeur de la Station Coton du CNRA de Bouaké pour sa disponibilité, chaque fois que j'ai eu à le solliciter pour des questions administratives ainsi que pour ses conseils et ses orientations ;

- Professeur KOFFI N’Goran Mathurin, Enseignant-Chercheur à l’Université Jean Lorougnon Guédé, UFR Environnement, Co-Directeur de cette thèse de Doctorat pour m’avoir recruté dans son unité de Recherche. Merci d’avoir accepté sans hésitation l’encadrement scientifique de ce travail, pour tous les moyens matériels mis à ma disposition pour l’aboutissement de ce travail, pour la confiance et la motivation exprimée à mon égard. Je vous suis reconnaissante pour votre disponibilité, vos conseils, et votre rigueur scientifique dont j’ai pu bénéficier ;
- Professeur AKANVOU Louise, Directeur de Recherche, Directeur de la Coopération et de l’Appui au Développement, Experte en Amélioration des plantes au Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Co-Directeur de cette thèse de Doctorat, pour votre encadrement et votre volonté de suivre mon projet de thèse, et cela, malgré votre emploi du temps extrêmement chargé ;
- Professeur DIARRASSOUBA Nafan, Enseignant-Chercheur à l’Université Peleforo Gon Coulibaly pour avoir accepté de participer au jury de cette thèse en tant que Rapporteur et pour votre pertinence dans les remarques visant son amélioration ;
- Professeurs ALLOU Kouassi René, Directeur de Recherche au Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) et YAH N’Guettia Marie, Maître de Conférences à l’Université Jean Lorougnon Guédé, pour avoir accepté de siéger en tant qu’examineurs au jury de cette thèse, et aussi pour leur contribution à l’avancée de la recherche en Côte d’Ivoire
- Docteur N’ZUE Boni, Coordonnateur Scientifique de la Direction Régionale du CNRA de Bouaké, qui a apporté également sa caution scientifique à ce travail ;
- Monsieur N’GUESSAN Esoi, Ex-Chef du Programme Coton du CNRA de Bouaké, qui m’a non seulement accueillie dans ce programme de recherche, mais aussi, a accepté de diriger les travaux de terrains de cette thèse. Vous avez guidé mes pas dans la recherche, merci CP pour votre disponibilité, vos conseils, vos critiques et votre expérience qui ont été très bénéfiques pour moi. Vous avez été un père pour moi durant ce stage à Bouaké, vous l’êtes et vous le resterez à jamais ;
- Professeur ABO Kouabenan, Ex-Responsable du Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie végétale de l’INP-HB de Yamoussoukro, pour m’avoir accompagnée avec beaucoup de patience et de pédagogie ; du champ au laboratoire, de l’échantillonnage de la première souche de *Fusarium* et de la préparation de mon premier milieu de culture à la concrétisation de ce mémoire. Merci pour tous les précieux conseils, vos encouragements, votre disponibilité et votre collaboration sans réserve ;
- Docteur GIBAND Marc, Généticien et Sélectionneur, Correspondant de la Filière Coton du Cirad. Merci «Boss» pour mon accueil au sein de votre équipe et pour la confiance que vous

m'avez toujours témoignée. Je n'oublierai jamais les encouragements et l'aide que vous m'avez apportés. Vous m'avez guidé avec grand cœur et générosité ;

- Docteur KOUAKOU Malanno, Chef du Programme Coton, pour votre soutien moral et vos conseils avisés ;

- Docteur AMANGOUA Nogbou Ferdinand, Généticien, Sélectionneur au Programme Coton du CNRA de Bouaké, un merci particulier pour m'avoir permis de travailler dans un environnement agréable après le départ à la retraite du CP N'GUESSAN Essoi. Merci pour toutes les subjections et votre rigueur. Je tiens à vous témoigner toute ma gratitude et tout mon respect ;

- Docteur GNAPI Diane Estelle, Généticienne, Sélectionneur au Programme Coton du CNRA de Bouaké pour votre soutien sans faille;

- Tous les chercheurs de la direction du CNRA de Bouaké, remerciements particuliers aux Docteurs KOUAKOU Brou Julien, KOFFI Kobenan Christophe, EHOUMOU Emmanuel, YAO Guy Fernand, COULIBALY Noupé et à mon « grand frère » M. BINI Kra Norbert

- Toute l'équipe de l'URGEM ; remerciements particuliers aux Drs AHOUTY Bernardin, N'DJETCHI Kassi Martial, ABE Allepo Innocent et YAO Blé Gbacla Flora Dominique. Merci à vous chers aînés pour votre attachement à ce travail, vos conseils avisés et votre appui à la rédaction de cette thèse ;

- Docteur KOUADIO Kouakou Théodore, Docteur KOUADIA Adjoua Marie-Joséphine, au Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Végétale de l'INP-HB pour leurs aides et conseils ;

- Monsieur Alexandre VAILLANT, responsable du Plateau de Mycologie de l'UMR Agap Institut du Cirad de Montpellier, Dr Laetizia CAMUS, chercheur en phytopathologie moléculaire et M. Ronan RIVALLAN, ingénieur du Plateau de Génotypage de l'UMR Agap Institut ; tous du Cirad de Montpellier pour votre encadrement et votre volonté de suivre mon projet tout au long de mes séjours effectués au Cirad en France. Merci pour cette formation et pour ces échanges enrichissants qui m'ont éclairée.

- Toute ma gratitude à toutes ces personnes qui m'ont accordé « un bon coup de mains » pour la réalisation de ces travaux. Je pense notamment à AMOAKON Alexandre, KONE Yaya, YAO Akissi Sandrine, DAGNOGO Massiata, N'GUESSAN Ahou Emilie, DOSSO Goué Mominé, SETCHI Fiacre, BEAVOGUI Syvilie, FOFANA Jeanne, MIKOU Camara, trouvez ici l'expression de ma reconnaissance, pour votre fraternité et assistance au cours de ce travail.

- Je remercie M. KONAN Thomas et M. YAO Koffi Mathurin, Techniciens biologistes du Laboratoire de l'URGEM de l'UJLoG pour leur disponibilité et leur contribution à l'aboutissement de cette thèse.

Aussi, je ne saurais oublier tous les membres de ma famille qui ont toujours été à mon écoute et dont l'amour, le soutien, la confiance et les prières ne m'ont jamais fait défaut. Je pense particulièrement à :

- mes oncles, nanan OBENG Kouakou Ignace, Chef du canton Aduana Ahinifié et nanan ADOU Bibi II, Chef du Province Pinango ;

- mon grand frère DAKON Dakon Césaire, mes sœurs DAKON Akoubla Estelle, KOUAME Akua Christelle, BENE Yaa Somia Nadia ;

- Père TAN Kobenan Nestor, Père ADOU Kouadio Hubert, TANOH Jean- Jacques, ADAMS Apollinaire;

- A mes tuteurs TANOH Koffi Jean-Louis, AFFI Bertin, MAFOU Koffi Combo, merci pour le soutien et les conseils.

- J'associe bien volontairement à ces remerciements mes compagnons Docteurs YEO Katiénapariga Tayourou, ATSE Marie-Paule Aboueh, KOUAME Adou Raymond sans oublier les Doctorants dont MLAN Kouadio François d'Assise, KOUAME Ama Brognan Aimée pour être de très bons amis et pour avoir été là à chaque fois que j'avais besoin de vous. Remerciements particuliers pour votre franche collaboration.

Que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation du présent document par leur soutien matériel, moral, financier et leurs prières, et qui n'ont pas été cités, trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude à leur endroit.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

A : Adénine (Base azotée)

ACP : Analyse en Composantes Principales

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFLP : Polymorphismes de longueur de fragments amplifiés (*Amplified Fragment Length Polymorphism*)

ANOVA : Analyse de Variance (*Analysis of Variance*)

ARN : Acide ribonucléique

AVR : protéine d'avirulence

BET : Bromure d'Ethydium

BLAST : Basic Local Alignment Search Tool (Outil d'alignement des séquences)

C : Cytosine (Base azotée)

CDA : Czapeck-Dox-Agar

CFA : Communauté Financière Africaine

CIDT : Compagnie Ivoirienne pour le Développement des Textiles

Cirad : Centre de coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement

CM : Croissance mycélienne

CNRA : Centre National de Recherche Agronomique

COIC : Compagnie Ivoirienne de Coton

CP : Classe de Pathogénicité

CS : Concentration sporale

DAMP: Motif Moléculaire Associé aux Dommages (*Damage Associated Molecular Patten*)

dATP : Désoxyadénosine Triphosphate

dCTP : Désoxycytidine Triphosphate

dTTP : Désoxythymine Triphosphate

dGTP : Désoxyguanine Triphosphate

ddATP : Didésoxyadénosine Triphosphate

ddCTP : Didésoxycytosine Triphosphate

ddGTP : Didésoxyguanidine Triphosphate
ddNTP : Didésoxyribonucléotide Triphosphate
ddTTP : Didésoxythymidine Triphosphate
dGTP : Désoxyguanidine Triphosphate
dNTP : Désoxyribonucléotide Triphosphate
EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétracétique
EHW : Equilibre de Hardy- Weinberg
ESTs : Balises de sequence exprimées (*Expressed Sequence Tags*)
ETI : Immunité Déclenchée par l'effecteur (*Effector Triggered Immunity*)
ETS : Susceptibilité Déclenchée par l'effecteur (*Effector Triggered Susceptibility*)
f. sp : forme spéciale
Foe : *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*
Fov : *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*
G : Guanine (Base azotée)
GenBank : base de données des séquences génétiques (*Genetic Sequence Database*)
IC : Ivoire Coton
ICAC : Comité Consultatif International du Coton (*International Cotton Advisory Committee*)
IDESSA : Institut des Savanes
IF : Indice de Flétrissement
IGS : Espaceur intergénique (*Inter Genic Spacer*)
INP-HB : Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny
INPN : Inventaire National du Patrimoine Naturel
INTERCOTON : Association Interprofessionnelle de la filière coton
IPGRI : Institut International des Ressources Phytogénétiques (*International Plant Genetic Resources Institute*)
IR : Indice de Rabougrissement
ITIS : Système d'Information Taxonomique Intégré (*Integrated Taxonomic Information System*)
ITS : Espaceur Transcript Interne (*Internal Transcribed Spacer*)
LAR : Résistance Locale Acquisée (*Local Acquired Resistance*)

mL: Millilitre

MP: Milieu paysan

NCBI: Centre National d'Information sur la Biotechnologie (*National Center for Biotechnology Information*)

OPA: Organisation Professionnelle Agricole

P O: Poste d'Observation

PAMP: Motif moléculaire associé à un pathogène (*Pathogen Associated Molecular Pattern*)

Pb : Paire de bases

PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne (*Polymerase Chain Reaction*)

PCRe : PCR électronique

PDA : Pomme de terre Dextrose Agar (*Potato Dextrose Agar*)

PDL : Pomme de terre Dextrose Liquide

pH: Potentiel d'Hydrogène

PIB : Produit Intérieur Brut

PIC : Contenu informationnel polymorphe (*Polymorphic Information Content*)

PM : Poids Moléculaire

PR-PICA : Programme Regional de Production Intégrée du Coton en Afrique

PRR : Récepteur de Reconnaissance Patten (*Patten Recognition Receptor*)

PTI : Immunité déclenchée par le PAMP (*PAMP Triggered Immunity*)

QTL : Locus à Caractère Quantitatif (*Quantitative Trait Locus*)

RAPD : ADN Polymorphe amplifié de manière aléatoire (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*)

RFLP : Polymorphismes de Longueur des Fragments de Restriction (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*)

RH : Réaction Hypersensible

ROS : Formes réactives d'oxygènes

SAM : Sélection Assistée par Marqueurs

SAR : Résistance Systémique Acquisée (*Systemic Acquired Resistance*)

SCAR : Séquence Caractérisée de Régions Amplifiée (*Sequence Characterized Amplified Region*)

SECO : Société d'Exploitation Cotonnière Olam

SIX : Protéine Sécrétés dans le Xylème (*Secreted in Xylem*)

SNP : Polymorphisme Nucléotidique Unique (*Single Nucleotide Polymorphism*)

SSR : Séquence Simple Répétée (*Simple Sequence Repeat*)

ST : Séquence type

T : Thymine (Base azotée)

TA : Taille d'allèle

TAE : Tris-Acétate EDTA

TF : Facteurs de Transcription

UJLoG : Université Jean Lorougnon Guédé

URGEM : Unité de Recherches en Génétique et Epidémiologie Moléculaire

UV : Ultra-violet

VCG : Groupes de Compatibilité végétative (*Végétative Compatibility Groups*)

WI : Indice de Flétrissement (*Wilt Index*)

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Productions comparées dans les grands bassins cotonniers africains	14
Tableau II : Quelques exemples de <i>Fusarium oxysporum</i> spp. et leurs plantes hôtes	25
Tableau III: Morphotypes chez <i>F. oxysporum</i>	28
Tableau IV: Espèces de cotonnier utilisables pour le transfert de gènes de résistance à la fusariose	38
Tableau V: Interaction entre la résistance et les défenses induites.	51
Tableau VI: Echelle de notation des symptômes foliaires de la fusariose	66
Tableau VII : Séquences des amorces utilisées pour le diagnostic racial des isolats de Fov... ..	68
Tableau VIII : Séquences des amorces utilisées pour le génotypage des isolats de Fov collectés	71
Tableau IX: Liste des marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage du cotonnier	80
Tableau X : Caractéristiques couleur et aspect des différents isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	89
Tableau XI: Croissance radiale (mm) des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> sur des différents milieux après 10 jours d'incubation	91
Tableau XII: Concentration en spores des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> sur différents milieux de culture après 10 jours d'incubation.....	93
Tableau XIII: Indice de flétrissement et de rabougrissement des différents isolats.....	95
Tableau XIV: Matrice de corrélations entre les paramètres mesurés des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	97
Tableau XV : Nombre, taille et fréquence des allèles détectés chez les isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> dans le bassin cotonnier ivoirien.....	105
Tableau XVI: Paramètres de la diversité génétique intrapopulation des isolats étudiés.....	108
Tableau XVII: Différenciation génétique entre les isolats du sud et du nord du bassin cotonnier.....	109
Tableau XVIII: Extrait de la matrice de dissimilarité génétique des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> collectés	112
Tableau XIX : Indice de rabougrissement moyen sur les variétés de cotonnier après inoculation avec deux isolats.....	114
Tableau XX: Indice de flétrissement moyen sur les variétés de cotonnier après inoculation avec deux isolats.....	116
Tableau XXI: Nombre d'allèles et fréquences alléliques obtenues dans les différentes populations pour les marqueurs SSR utilisés	118

Tableau XXII: Valeur des Paramètres de diversité intra-population	120
Tableau XXIII: Paramètres de diversité interpopulation estimés chez le cotonnier	121
Tableau XXIV : Matrice de dissimilarité génétique des variétés de cotonnier génotypées...	124
Tableau XXV: Résultats de génotypage avec les 10 marqueurs polymorphes sur les 7 variétés de cotonnier criblées.....	126

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Plants de cotonnier présentant une tige, des branches, des feuilles et des fleurs.....	8
Figure 2: Schéma d'un plant de cotonnier	9
Figure 3: Jeune fleur du cotonnier.....	10
Figure 4: Fruits du cotonnier.....	11
Figure 5: Cycle de développement du cotonnier.....	12
Figure 6: Carte des zones de sociétés cotonnières en Côte d'Ivoire	18
Figure 7: Principaux ravageurs du cotonnier	20
Figure 8: Structure microscopique montrant les différents types de spores de <i>Fusarium oxysporum</i>	29
Figure 9: Plants de cotonnier présentant le dessèchement et le flétrissement des feuilles.....	32
Figure 10 : Modèle en « Zig-Zag » du fonctionnement du système immunitaire d'une plante.	50
Figure 11: Etapes de signalisation intracellulaire chez les plantes	52
Figure 12: Zone de prospection et de collectes d'échantillons	56
Figure 13: Matériels de laboratoire utilisés.....	58
Figure 14: Schéma de mesure du diamètre d'une colonie mycélienne des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	63
Figure 15: Souche de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> isolée des plants de cotonnier.	85
Figure 16: Proportions des isolats en fonction des sociétés cotonnières.....	86
Figure 17: Repartition des différents isolats en fonction de la coloration des colonies.....	87
Figure 18 : Croissance des isolats sur les milieux de culture au cours des temps d'incubation	90
Figure 19 : Vue microscopique des spores au grossissement G×40 de l'isolat AM 47 sur les 3 milieux de cultures :	92
Figure 20 : Concentration moyenne des isolats en spores sur les différents milieux de culture	94
Figure 21: Dendrogramme présentant les classes de pathogénicité des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> :	96
Figure 22: Projection des variables sur le plan factoriel	99
Figure 23 : Projection dans le plan factoriel des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> suivant leurs caractères morphologiques.....	99

Figure 24 : Profils électrophorétiques des gènes SIX détectés chez les isolats <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	100
Figure 25: Distribution des gènes SIX1 et SIX9 dans le génome des isolats de Fov	102
Figure 26 : Occurrence des gènes de virulence détectés chez des échantillons de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	103
Figure 27: Profils électrophorétiques des isolats observés à partir du marqueur SSR.....	107
Figure 28 : Distribution de la diversité génétique des isolats collectés dans tout le bassin cotonnier de la Côte d'Ivoire.....	109
Figure 29: Structure des populations de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	110
Figure 30: Phylographe selon la méthode Neighbour Joining montrant la relation génétique des isolats de Fov dans le bassin cotonnier ivoirien.....	113
Figure 31: Flétrissement moyen de sept variétés de cotonnier observé 14 jours après inoculation avec les isolats AM 16 et AM 47	115
Figure 32: Evolution de l'indice de flétrissement sur les variétés de cotonnier après inoculation.....	116
Figure 33: Distribution de la diversité génétique chez les variétés de coton	122
Figure 34: Structure des populations de cotonnier dans le plan factoriel de la PCoA.....	123
Figure 35: Dendrogramme selon la méthode Neighbour Joining montrant la structure génétique des variétés de coton étudiées	125

LISTE DES ANNEXES

Annexe1 : Composition des milieux de culture

Annexe 2 : Composition des réactifs et solutions mères pour l'extraction d'ADN fongique

INTRODUCTION

Le cotonnier, plante tropicale appartenant à la famille des Malvaceae et au genre *Gossypium*, est cultivé à la fois pour ses fibres et ses graines qui constituent des matières premières indispensables pour les industries textiles et agro-alimentaires (Sunilkumar *et al.*, 2006). Dans les pays d'Afrique francophones de l'Ouest et du Centre, les superficies cotonnières représentent environ 3 % des surfaces cultivées. D'après les statistiques du Comité Consultatif International du Coton (*International Cotton Advisory Committee*), ces pays, avec plus de 2,5 millions de tonnes de coton graine et plus d'un million de tonnes de fibres obtenus au cours de la saison 2017/2018, placent l'Afrique au 6^{ème} rang mondial pour la production de coton graine (ICAC, 2018).

La culture cotonnière est une culture de grande valeur et d'une importance économique considérable à l'échelle mondiale. La fibre du coton est largement utilisée dans l'industrie textile comme matière première, ce qui en fait l'un des matériaux les plus populaires pour les vêtements et autres produits textiles (Majumdar *et al.*, 2019). La culture du coton joue un rôle primordial dans l'épanouissement socio-économique des populations des zones de production. En effet, de par sa modernisation, elle permet le développement de l'agriculture dans les zones cotonnières (Basset, 2002). Elle contribue également à l'amélioration du cadre de vie des communautés rurales, à l'organisation des mouvements coopératifs et à l'expansion industriel (Aiwa, 2015 ; Rathore *et al.*, 2015).

Depuis son introduction en Côte d'Ivoire en 1902 (Cavana, 2002; Dugue *et al.*, 2004), la culture cotonnière constitue une source majeure de revenus pour les communautés agricoles du Nord et du Centre où elle couvre plus de 444 870 ha et occupe plus de 132 419 petits producteurs, pour une production estimée à 539 623 tonnes durant la campagne 2021/2022 (ICAC, 2022). La culture du coton représente 7 % des recettes d'exportation de la Côte d'Ivoire. Le coton se classe au quatrième rang des exportations après le cacao, le café, la noix de cajou et contribue pour 1,7 % au PIB (ICAC, 2021). La Côte d'Ivoire exporte plus de 90 % de sa production de coton fibre. Elle a occupé la 2^e place des pays producteurs africains au sud du Sahara au cours de la campagne 2020/2021 après le Bénin (PR-PICA, 2021).

Cependant, malgré leur contribution dans les économies ivoiriennes, les productions cotonnières sont confrontées à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques. Les principales contraintes abiotiques, tels que la sécheresse, la chaleur, le froid, la salinité et les inondations, peuvent avoir un impact significatif sur le rendement du coton. Ces facteurs environnementaux non vivants peuvent entraver la croissance et le développement de la plante, entraînant des pertes de récolte potentielles.

Les stress biotiques du cotonnier sont les effets néfastes causés par des organismes nuisibles tels que les ravageurs et les mauvaises herbes ainsi que les maladies, qui affectent négativement la croissance et le rendement de la culture du cotonnier. En effet, les cultures subissent une forte pression des insectes ravageurs (lépidoptères, piqueurs-suceurs et émergence de nouveaux nuisibles) et des maladies infectieuses. Les pathogènes qui causent des maladies du cotonnier comprennent des champignons, des bactéries et des virus (Abo, 2005). Au rang des maladies, la phyllodie ou virescence, due à un mycoplasme transmis par *Orosius cellulosus*, la fonte des semis causée par des champignons du sol tels que *Rhizoctonia* et *Pythium*, la trachéomyose ou wilt ou encore fusariose vasculaire, causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* sont les plus notifiées en Côte d'Ivoire. Parmi les maladies du cotonnier, la fusariose vasculaire est potentiellement la plus importante (N'Goran *et al.*, 2016). Elle a été initialement identifiée aux Etats-Unis en 1892 (Armstrong *et al.*, 1942) et depuis cette maladie a été fréquemment rapportée dans diverses zones des Etats-Unis et semble être présente dans toutes les zones de productions de coton (Cauquil, 1986).

En Afrique de l'Ouest, notamment en Côte d'Ivoire, la fusariose du cotonnier constitue l'une des principales raisons de pertes de rendement, estimées entre 15 et 25 % (Sayegh, 2009). Lors des années défavorables, une infection non ou mal maîtrisée peut provoquer des pertes de rendement dépassant 50 % et parfois la quasi-destruction du potentiel productif (Sayegh, 2009). Les dégâts peuvent être plus importants, particulièrement lorsque les conditions climatiques et édaphiques sont favorables au développement de la fusariose. Ces effets varient selon les facteurs environnementaux, la capacité de résistance des variétés cultivées, le potentiel d'inoculum dans le sol, la prolifération de nématodes phytoparasites, l'utilisation des engrais chimiques et l'application de traitements phytosanitaires. En raison de la fusariose, les surfaces cultivées peuvent être réduites, notamment lorsque les terrains sont contaminés. Par ailleurs, le champignon persiste longtemps dans le sol, même après plusieurs années de jachère, ce qui oblige souvent les agriculteurs à abandonner ou déplacer leurs plantations sur des terrains non infectés pour limiter les dégâts (CNRA, 2025). Par conséquent, les pertes agricoles les plus considérables sont constatées dans les zones où les méthodes culturales et les dispositifs de contrôle sont déficients (Zerbo *et al.*, 2024). Plusieurs moyens de lutte contre la fusariose sont déjà connus et exploités. Il s'agit de la lutte chimique qui est la plus couramment utilisée. Cette méthode consiste en l'application de fongicides pour limiter le développement du champignon.

Cependant, elle est souvent coûteuse, son efficacité curative reste limitée et de plus en plus pris en compte pour des problématiques de toxicité, de pollution environnementale, de santé et même de dégradation de la biodiversité (Faurie *et al.*, 2009). La lutte variétale, qui est considérée comme le moyen le plus efficace et pratiquement le seul viable pour lutter contre la fusariose du cotonnier. Cette méthode consiste à utiliser des variétés de cotonnier résistantes ou tolérantes à la maladie, ce qui permet de limiter les dégâts importants de la trachéomycose (Khan, 2023). Ce pendant, la durabilité de la résistance génétique des variétés dépend de la variabilité morphologique, génétique et du pouvoir pathogène du champignon (Singh & Sharma, 2022). Dans ce contexte, il apparaît nécessaire de connaître la structure et les relations génétiques des populations de pathogènes en utilisant de nouveaux outils moléculaires d'étude. En effet, les méthodes moléculaires permettent d'explorer la variabilité naturelle existante au niveau de l'ADN. Les marqueurs qu'elles génèrent, étant indépendants de la sélection de l'hôte, elles permettent une étude de la biodiversité à partir de leurs caractéristiques génétiques. En outre, les marqueurs moléculaires peuvent aider à identifier des gènes ou des régions du génome des plantes, responsables de leur résistance aux pathogènes. Les résultats de telles études pourraient être utiles dans les programmes d'amélioration génétique du cotonnier à travers la sélection assistée par marqueurs pour développer des variétés résistantes stables pour une agriculture durable.

Les travaux de cette thèse rentrent dans le cadre des activités de recherche conduites par le programme coton du CNRA. Ces travaux ont pour objectif général de contribuer à améliorer la productivité du cotonnier par l'identification de génotypes résistants dits de contournement des souches virulentes du *F.oxysporum* f.sp. *Vasinfectum*.

Il s'agissait de façon spécifique de :

- caractériser la morphologie des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* ;
- caractériser la pathogénicité des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* ;
- évaluer la diversité génétique des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* ;
- identifier des marqueurs génétiques de résistance à *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*.

Le présent mémoire est articulé autour de trois parties : la première est consacrée à une revue bibliographique relative aux généralités sur le cotonnier et les fusarioses. La seconde partie décrit l'approche méthodologique en donnant un aperçu du matériel et des méthodes utilisés pour réaliser le travail. Les résultats obtenus sont ensuite présentés et discutés dans la troisième partie, suivie de la conclusion et des perspectives.

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

1. 1. ORIGINE DU COTONNIER ET CULTURE

1.1.1. Origine et répartition géographique

Le genre *Gossypium* proviendrait d'un *phylum* ancestral désormais éteint, qui se serait différencié il y a plus de cent millions d'années en divers groupes génomiques, sous l'effet d'une pression de sélection liée à la dérive continentale (Wendel & Cronn, 2003).

Le cotonnier est une dicotylédone arbustive appartenant à la famille des Malvacées, cultivée depuis des millénaires dans plusieurs régions du monde. Il est originaire de l'Inde où il avait été domestiqué depuis de longues dates et où il demeure aujourd'hui très largement cultivé (CNRA, 2006).

Le cotonnier est répandu dans les zones tropicales (Afrique, Amérique du Sud et Centrale, Asie du Sud-Est), les zones désertiques (Asie Centrale, Moyen Orient) où la culture peut être irriguée et dans les pays tempérés (Chine, Europe, Etats-Unis) (Bouchaud, 2020). A l'état sauvage, on note une vingtaine d'espèces du genre *Gossypium*. A partir de ces espèces, de nombreuses variétés cultivées ont été créées par hybridation et par mutation (Konan & Mergeai, 2007). Les premières cultures de cotonnier en Afrique datent du XVII^e siècle, époque à laquelle l'espèce *Gossypium barbadense* L a été introduite (Elsa & Magdalena, 2019). Cette espèce a été introduite en Côte d'Ivoire à la fin du XVIII^e siècle (Mahdavi, 1997) et a longtemps été la plus cultivée. L'introduction de la variété *Allen* et des techniques culturales qui lui sont associées a marqué le démarrage d'une agriculture moderne et productive qui a été à la base, à partir de 1960, du développement économique des zones de savanes de la Côte d'Ivoire (Hau, 1988).

1.1.2. Systématique

Le cotonnier comprend quatre sous-genres, *Gossypium subg. Gossypium*, *Gossypium subg. Houzingenia*, *Gossypium subg. Karpas* et *Gossypium subg. Sturtia*. Le genre *Gossypium* comprend 45 espèces diploïdes ($2n = 2x = 26$) et sept espèces tétraploïdes ($2n = 4x = 52$) (Viot & Wendel, 2023).

Le nombre de chromosomes dans la cellule reproductrice du cotonnier (*Gossypium* L.) est $n = 13$. Parmi ces espèces, seules quatre (*Gossypium herbaceum*, *Gossypium arboreum*, *Gossypium hirsutum* et *Gossypium barbadense*) ont été domestiquées et sont cultivées pour leurs fibres (Parry, 1982) :

- Les espèces diploïdes, *G. herbaceum* et *G. arboreum* sont désignées comme les cotonniers de l'ancien monde, et sont généralement reconnues comme ayant des fibres de qualité inférieure (fibres plus courtes et épaisses) que les espèces tétraploïdes cultivées.
- Les espèces tétraploïdes, *G. barbadense* et *G. hirsutum*, sont appelées "cotonniers du nouveau monde" (Chen *et al.*, 2007 ; Zhang *et al.* , 2008 ; Jabran *et al.*, 2019 ; Saleem *et al.*, 2020).

La position systématique du cotonnier selon l'Inventaire National du Patrimoine Naturel (INPN, 2018) et le Système d'Information Taxonomique Intégré (ITIS, 2019) est la suivante:

Règne	: Plantae
Embranchement	: Tracheophyta
Sous-embranchement	: Angiospermes
Classe	: Equisetopsida
Sous classe	: Dialypétales
Ordre	: Malvales
Famille	: Malvaceae
Tribu	: Gossypieae
Genre	: <i>Gossypium</i>
Espèces	: <i>G.hirsutum</i> , <i>G.arboreum</i> , <i>G.barbadense</i> ...

1.1.3. Description générale de la plante

1.1.3.1. Morphologie du cotonnier

Le cotonnier (Figure 1) est une plante avec une morphologie complexe, cultivée annuellement, en raison de la nature indéfinie de sa croissance (Mauney, 1984). Cette morphologie se distingue par une forte variation (polymorphe), non seulement entre les différentes espèces, mais également au sein d'une même espèce sous l'effet des conditions climatiques (Dakouo, 1994).



Figure 1: Plants de cotonnier présentant une tige, des branches, des feuilles et des fleurs

Une description de la morphologie du cotonnier prend en compte les différentes parties qui la composent (Figure 2)

*** Système racinaire**

La radicule évolue en racine pivotante, de taille variable, pouvant atteindre jusqu'à 3 m de profondeur dans le sol. Les ramifications latérales constituées des racines secondaires, qui partent du pivot, et de racines tertiaires, se terminant par une zone pilifère, constituée de poils absorbants, zone d'entrée des éléments nutritifs.

*** Port et ramifications**

La tige principale est dressée. Sa croissance est apicale et persistante. En général, les ramifications végétatives partent de la base. Les ramifications porteuses de fruits se situent plus haut.

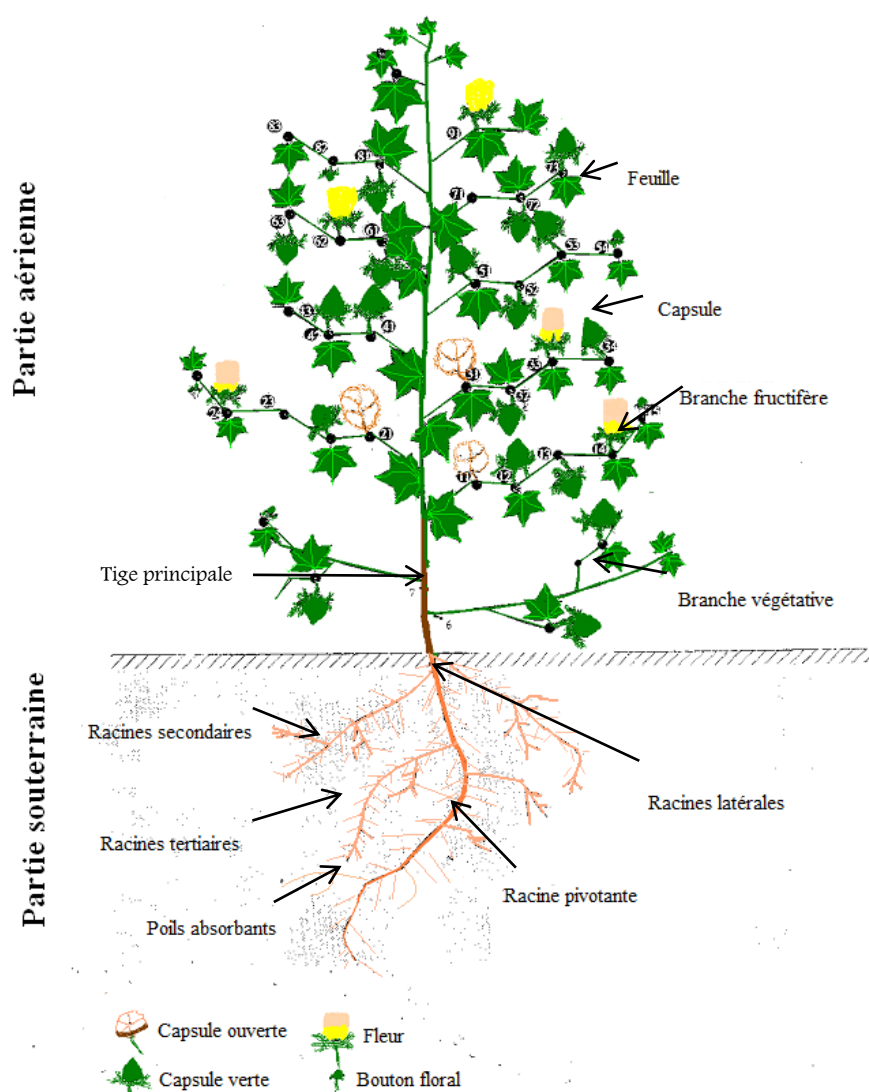


Figure 2: Schéma d'un plant de cotonnier (Dakouo, 2012)

* Structure foliaire

Plusieurs types de feuilles sont observés chez le cotonnier :

- les feuilles cotylédonaires comprennent une lame foliaire de forme irrégulièrement réniforme accompagnée d'un pétiole ;
- les deux feuilles inférieures ont un limbe généralement entier ou légèrement denté, lancéolé ;
- les feuilles supérieures montrent un polymorphisme assez marqué au sein d'une même plante ; elles sont palmément lobées et se développent sur des rameaux portés par la tige principale suivant une spirale régulière.

A l'aisselle de la feuille, l'on trouve deux bourgeons axillaires, dont un se développe en formant une branche, tandis que l'autre restant en réserve en cas d'avortement du premier.

* Structure florale

Le bourgeon floral se forme sur les ramifications sympodiales sous forme de petites structures pyramidales vertes appelées "square". A maturité, la fleur comprend (Figure 3):

- d'un pédoncule, parfois long, attaché à une branche fructifère (branche fertile) ;
- de trois bractées présentant des bords plus ou moins dentées ;
- d'un calice gamosépale pentasépale (cinq sépales soudés) ;
- d'une corolle dialypétale formée de cinq pétales indépendants, dont la coloration variant suivant les espèces;
- d'un androcée, monadelphé, composé d'au-moins dix étamines à anthère uniloculaire avec du pollen de couleur jaune, de forme sphérique et orné de petites épines (échinulé) ;
- d'un gynécée à ovaire supère formé de 3 à 5 carpelles, chacun contenant 6 à 12 ovules.

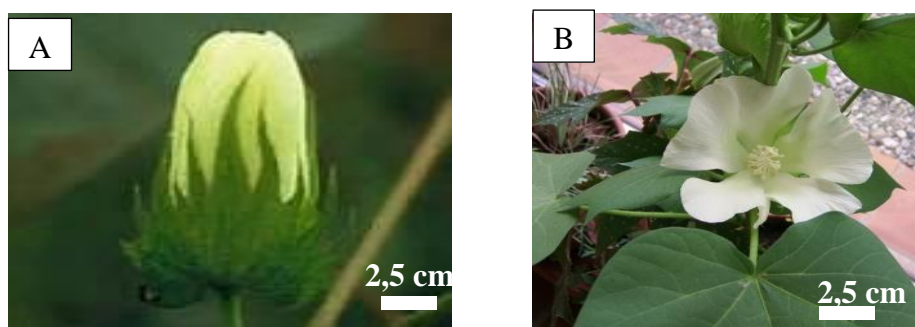


Figure 3: Jeune fleur du cotonnier

A : Bouton floral ; B): Fleur ouverte

* Fruits

Les fruits du cotonnier sont des capsules (Figure 4). La forme et la grosseur de ces capsules différencient chaque variété. A l'intérieur, se développent les graines, au nombre de 6 à 12 par loge, recouvertes de fibres. Elles ont une forme ovoïde ou en forme de poire et recouvertes de poils appelés soies ou lint. Elles possèdent également des poils plus courts appelés duvet, fuzz ou linter. Ce duvet peut être de couleur blanche, grise, verte, brune, etc.

La coque de la graine est noire. Selon Bourely (1991), la graine contient, à l'ouverture de la capsule, des substances de réserves. Elle est composée principalement de protéines (30 à 40 %), huiles (30 à 40 %), glucides (1,9 à 2,1 %).

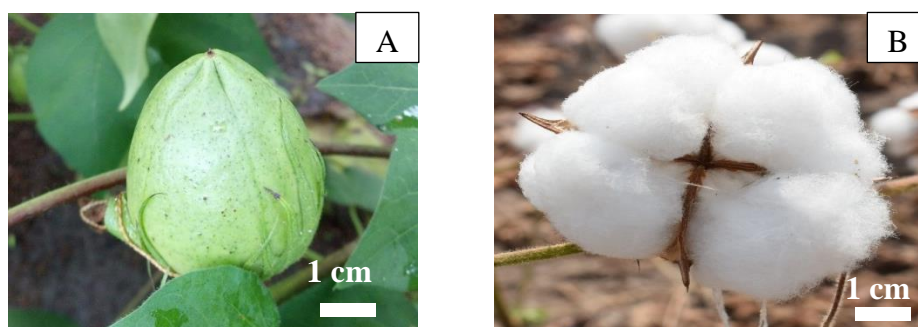


Figure 4: Fruits du cotonnier

A : Capsule verte; B : Capsule montrant la fibre de coton

1.1.3.2. Biologie et physiologie du cotonnier

Le cotonnier est une plante à cycle annuel avec une croissance continue, nécessitant adaptation aux exigences d'une culture annuelle. Ce type de culture convient pour répondre à plusieurs contraintes. Ces exigences découlent de la nécessité de d'interrompre les cycles parasites, à introduire la culture dans une rotation des cultures et son déploiement dans des zones où le cotonnier ne tolérerait pas les conditions hivernales ou la sécheresse saisonnière (Ducène, 2019). Le cotonnier répond dans sa généralité à celle de nombreuses plantes dicotylédones, avec quelques particularités originales. Il est une plante monoïque hermaphrodite, c'est-à-dire que l'on retrouve sur la même fleur à la fois l'appareil reproducteur mâle (l'androcée) et femelle (le gynécée). Son mode de reproduction est préférentiellement autogame, mais avec des taux d'allogamie pouvant atteindre 50 % dans certaines régions selon la densité des insectes pollinisateurs (Lawson, 2008). La floraison chez le cotonnier progresse du bas vers le haut et de l'intérieur vers l'extérieur de la plante. La vitesse de floraison augmente avec un climat sec et chaud et reste généralement uniforme pour une condition climatique donnée. La perte prématurée des fleurs est un phénomène important chez le cotonnier, qui peut être d'origine parasite ou physiologique (Sekloka *et al.*, 2016).

1.1.4. Cycle de développement du cotonnier

La plante est naturellement autogame, mais selon la densité des cultures et des insectes pollinisateurs, le taux d'allogamie peut varier de 0 à 50 %. Le cotonnier est donc considéré comme étant semi-autogame (CNRA, 2024). En général, le cycle de développement du cotonnier, du semis à la récolte, varie de 150 à 175 jours selon les variétés de cotonnier, les zones agro-écologiques et les dates de semis (CNRA, 2006). L'on distingue trois stades de développement, dont les durées dépendent des conditions climatiques (Figure 5) :

- la levée de semis : elle survient environ cinq jours après le semis et est suivie de l'étalement des cotylédons, qui dure environ dix jours;
- le stade végétatif : il correspond au développement du plant depuis l'apparition des premières feuilles jusqu'à l'ouverture de la première fleur (une cinquantaine de jours après le semis) ;
- le stade fructifère : il comprend la floraison, la formation et la maturation des capsules. La floraison commence au premier nœud de la première branche fructifère et se poursuit en progressant sur la branche immédiatement supérieure et d'un nœud à l'autre, le long des branches. Les fleurs fécondées donnent des capsules qui mettent trois à quatre semaines pour atteindre leur taille définitive ; puis deux à trois semaines pour dessécher et s'ouvrir en laissant apparaître le coton graine (Soro, 2022).

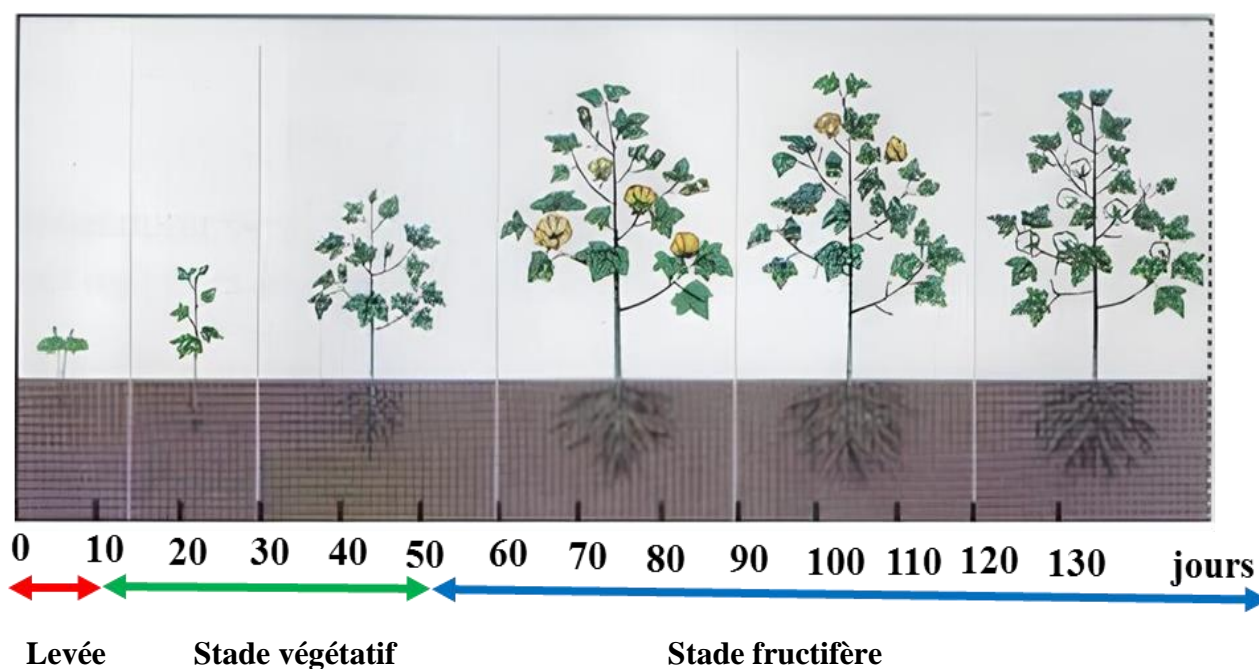


Figure 5: Cycle de développement du cotonnier (Kouadio, 2025)

Le cycle du cotonnier s'articule aussi en cinq phases clairement différenciées :

- la phase de la levée qui peut durer de 6 à 10 jours, est celle qui va de la germination à l'étalement des cotylédons ;
- la phase plantule qui peut durer de 20 à 25 jours, est celle qui part de l'étalement des cotylédons au stade 3 - 4 feuilles ;
- la phase de préfloraison qui peut durer de 30 à 35 jours, est celle qui part du stade 3 - 4 feuilles au début de la floraison ;

- la phase de floraison qui peut durer de 50 à 70 jours;
- la phase de maturation des capsules qui peut durer de 50 à 80 jours.

En somme, la durée moyenne du cycle est de 166 jours dans les conditions optimales et de 205 jours dans un environnement moins favorable. La durée du cycle fluctue également en fonction des variétés.

1.1.5. Besoins nutritionnels du cotonnier

La croissance du cotonnier dépend de son approvisionnement en carbone, en éléments minéraux et en eau (Kouyaté *et al.*, 2023).

L'apport en carbone est issu de la photosynthèse. La nutrition minérale est garantie par l'apport de nombreux éléments minéraux. Six éléments majeurs (N, P, K, S, Ca et Mg) et plusieurs microéléments (Bo, Cl, Zn, Fe, Mn, Mo, et Cu) attirent l'attention de l'agronome ; tous indispensables au fonctionnement spécifique dans la physiologie des plantes.

Les exigences hydriques changent selon le stade de croissance de la plante et des paramètres climatiques, principalement la luminosité et l'humidité atmosphérique propres à chaque phase de son cycle de développement. Du point de vue théorique, 400 à 500 mm d'eau devraient suffire pour permettre au cotonnier de réaliser son cycle ; mais en pratique, en raison des différentes pertes, cette quantité peut éventuellement être estimée à 700 mm (Kouyaté *et al.*, 2023).

1.1.6. Écologie du cotonnier

Le cotonnier est une plante héliophile qui exige beaucoup de lumière et de chaleur, en fonction des différentes phases de son cycle. Sa croissance est possible entre 14 et 38 °C. Il se développe mieux sur les sols profonds, perméables et assez homogènes (Soumaré *et al.*, 2020). Les sols fertiles et bien drainés favorisent sa croissance. C'est pourquoi, les sols limono-argilo sableux ou limono-sablo argileux sont les plus indiqués pour sa culture. Il tolère les sols acides et alcalins mais se développe mieux sur les sols dont le pH est compris entre 6 et 7. Les sols engorgés d'eau lui sont défavorables. Les besoins en eau du plant durant le cycle végétatif sont compris entre 600 et 800 mm d'eau bien repartis sur le cycle cultural (Soumaré *et al.*, 2020).

1.1.7. Importance socio-économique

La production cotonnière africaine se structure autour de trois principaux bassins de productions (Tableau I). Cependant, en termes de volumes et d'importance économique, ce sont surtout les bassins d'Afrique de l'Ouest et du Centre qui dominent la scène continentale (Mamy *et al.*, 2020). Le bassin ouest-africain est le plus important, avec 60 % de la production cotonnière du continent. La zone CFA, qui regroupe plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest, est aussi citée comme un des principaux exportateurs mondiaux de coton, avec une production qui a connu des fluctuations mais reste dominante en Afrique (Ilhem *et al.*, 2004 ; Mamy *et al.*, 2020). La culture cotonnière exerce une influence déterminante sur le développement socio-économique des régions de productions, d'autant plus qu'elle fut la première culture de rente adoptée et qu'elle constitue encore aujourd'hui la principale, voir l'unique culture commerciale, aux côtés de productions vivrières essentiellement orientées à l'autosuffisance. Le coton est désormais identifié comme le principal moteur du développement des savanes d'Afrique subsaharienne, en raison des profondes transformations qu'il a provoquées dans le monde rural, notamment à travers l'organisation des producteurs, le commerce, l'emploi, le transport, l'éducation et la santé (Mamy *et al.*, 2020).

Tableau I : Productions comparées dans les grands bassins cotonniers africains (Mamy *et al.*, 2020)

	Pays	Production annuelle (2022-2024)	Rendement moyen (Kg/ha)
Bassin cotonnier d'Afrique de l'Ouest	Bénin, Mali, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Togo, Sénégal	390 000-600 000 t/pays	800 à 1000 Kg/ha
Bassin cotonnier d'Afrique Centrale	Cameroun, Tchad, République centrafricaine	300 000-350 000 t/pays	1500
Bassin cotonnier d'Afrique de l'Est	Egypte, soudan	<200 000 t/pays	Variable
AFRIQUE TOTAL		1 020 000	

La culture du coton revêt une grande importance pour de nombreux pays en raison de ses répercussions sociales et économiques, aussi bien dans les secteurs agricoles qu'industriels. Le cotonnier fournit la fibre textile naturelle la plus utilisée au monde.

Cependant, ses avantages vont bien au-delà de la seule production textile. Le coton représente une valeur économique et sociale majeure pour les pays africains producteurs, notamment ceux de la zone du franc CFA (Berti *et al.*, 2006).

Initialement considéré comme une culture de « case » en Côte d'Ivoire, le cotonnier a connu un intérêt spéculatif à partir de 1959, avec l'amélioration des techniques culturales, la protection des cultures et l'introduction de variétés plus productives. Les effets conjugués de l'augmentation des superficies et des rendements en coton-graine ont porté la production nationale de 69 tonnes en 1960 à un niveau record de 402 367 tonnes de coton-graine en 1999, avant de chuter à 167 800 tonnes en 2009, du fait de la crise militaro-politique (Doffou, 2013). Pour la campagne 2020-2021, la production de coton-graine dans le pays a atteint 527 000 tonnes (ICAC, 2020). En fonction des années, le coton constitue entre 5 et 10 % des exportations du pays et génère annuellement un chiffre d'affaires de l'ordre de 120 milliards de francs CFA, dont 70 à 80 % en devises (ICAC, 2020). La culture du coton constitue la principale source de revenus des agriculteurs des zones de savane en Côte d'Ivoire (Ochou *et al.*, 2001). Des acteurs agro-industriels et commerciaux, réunis au sein de l'interprofession de la filière coton et incluant des Organisations Professionnelles Agricoles (OPA) affiliées à des faïtières (Ivoire coton, COIC, SECO, CIDT, etc.), ont créé des emplois, contribuant ainsi à l'amélioration des conditions de vie et au développement d'infrastructures sociales et communautaires (pistes, centres de santé, écoles) dans les régions nord de la Côte d'Ivoire. La culture du coton a également favorisé les premiers développements industriels dans les régions des savanes avec des usines d'égrenage (Bouaké, Mankono, Séguéla, Boundiali, Dianra, Ferkessédougou...), de filatures et d'huileries de graine (Bouaké, Korhogo, Dimbokro Agboville et Ouangolodougou).

L'exploitation du cotonnier ne se réduit plus uniquement à la production de fibres, puisque la graine est devenue une source importante de matières premières alimentaires pour l'homme et le bétail. L'huile extraite des graines de coton est utilisée aujourd'hui comme de l'huile alimentaire notamment en Afrique et en Asie centrale, mais aussi dans de nombreux domaines non alimentaires comme les produits de beauté ou l'apprêt des cuirs. Elle est aussi employée comme matière première dans l'industrie de la savonnerie, ou pour le fonctionnement de certains types de moteurs, comme cela a été expérimenté au Mali et au Tchad (Texier, 1996). Tandis que les tiges trouvent une application dans l'industrie papetière, ce qui en fait une plante polyvalente (Munir *et al.*, 2020). De plus, les tourteaux de coton représentent une source protéique de qualité (teneur en protéines environ 50 %), pour l'alimentation animale, constituant ainsi un élément clé pour la modernisation de l'élevage.

1.1.8. Utilisation des produits du cotonnier et système d'encadrement de la production

1.1.8.1. Utilisation des produits du cotonnier

Chaque composant de la graine de coton trouve une utilité, que ce soit dans l'industrie ou l'alimentation.

Le duvet recouvrant les graines, composé de courtes fibres cellulosiques, est utilisé pour la fabrication de feutres, de garnitures en literie, ainsi que d'ameublement et d'automobile, de compresses, de gazes, de coton hydrophile, de mèches, de fils pour tapis.

La fibre est une source de cellulose utilisée pour la fabrication des billets de banque qui sont faits à 100 % de fibre de coton. L'on extrait aussi des dérivés alimentaires (fibres diététiques, épaississants, excipients...). En raison de ses multiples usages, le linter est également présent sur le marché international.

La coque de la graine peut être brûlée pour générer l'énergie requise par les huileries. Elle sert également d'aliment pour le bétail ou pour la fabrication de produits synthétiques destinés à l'industrie chimique.

L'amande de la graine contient un pigment toxique, le gossypol, qui est éliminé, par des méthodes traditionnelles ou industrielles mais très riche en huile et en protéines. L'huile de coton est la sixième huile végétale la plus consommée dans le monde mais, elle supporte moins bien la chaleur que les autres huiles couramment utilisées. Dans certains pays producteurs de coton (Mali, Tchad, Burkina Faso, Togo...), l'huile extraite du coton constitue la principale source de consommation d'huile alimentaire.

La pulpe résiduelle après extraction de l'huile est convertie en tourteaux destinés à nourrir les ruminants (bœufs et moutons, seuls animaux capables de détoxifier le gossypol au cours de leur digestion). Leur teneur en protéines est élevée (jusqu'à 49 % de la matière sèche) : de 3 à 6 fois supérieure à celle des céréales et jusqu'à 20 fois plus que certains fourrages. C'est également la source végétale la plus concentrée en phosphore. Les tourteaux sont aussi employés dans d'autres usages agricoles, notamment comme fertilisants ou substrats pour la culture des champignons. Les tourteaux font objet d'un commerce international.

1.1.8.2. Système d'encadrement de la production

La zone de culture du cotonnier s'étend sur environ 25 Départements situés au Centre et au Nord de la Côte d'Ivoire, caractérisés principalement par une végétation de savane et un système agricole traditionnel, parfois amélioré par l'emploi d'équipement plus ou moins moderne (traction animale, matériel motorisé).

De nombreuses variétés cotonnières développées par le CNRA sont diffusées par les sociétés cotonnières, qui fournissent les semences aux producteurs. L'innovation agronomique et la protection phytosanitaire se manifestent par des essais multi-sites sur les postes d'observation (PO) et en conditions réelles. Cette opération est conduite par le département de recherche et développement des sociétés cotonnières ainsi que par le CNRA. Elle a pour cadre des postes d'observation et des localités de tests en milieu paysan (Découla *et al.*, 2018).

La production de coton, en Côte d'Ivoire, est le fait de petits producteurs qui opèrent sur des surfaces réduites de 3 à 20 ha. La culture du coton est à la base des systèmes de cultures pratiquées. Il représente en moyenne 40 % des assolements, tandis que 60 % sont consacrés aux cultures vivrières. La production de coton-graine a connu une progression significative, augmentant de 30.000 tonnes, en 1971 à 261.000 tonnes à la campagne 1991, avant d'atteindre des niveaux record en 2000 et 2003 avec plus de 400.000 tonnes. Le nombre de planteurs est passé de 50.000 en 1970 à plus de 200.000 en 2005. La population, directement ou indirectement, concernée par cette activité est estimée à 3,5 millions de personnes (Aiwa, 2015).

La compagnie Ivoirienne pour le Développement des Textiles (CIDT) était chargée de l'encadrement de la production cotonnière en Côte d'Ivoire, depuis sa création, en 1974 jusqu'à 1998, année de sa privatisation (Découla *et al.*, 2018). De nos jours, l'encadrement de la production de coton-graine et sa commercialisation sont assurés par sept sociétés : CIDT résiduelle, Ivoire Coton, COIC, SECO, Global Cotton, SICOSA. Elles ont des champs d'action qui s'étendent sur une zone de développement d'environ 201 693 km² (Découla *et al.*, 2018). La répartition des zones de culture par société cotonnière est illustrée par la figure 6.

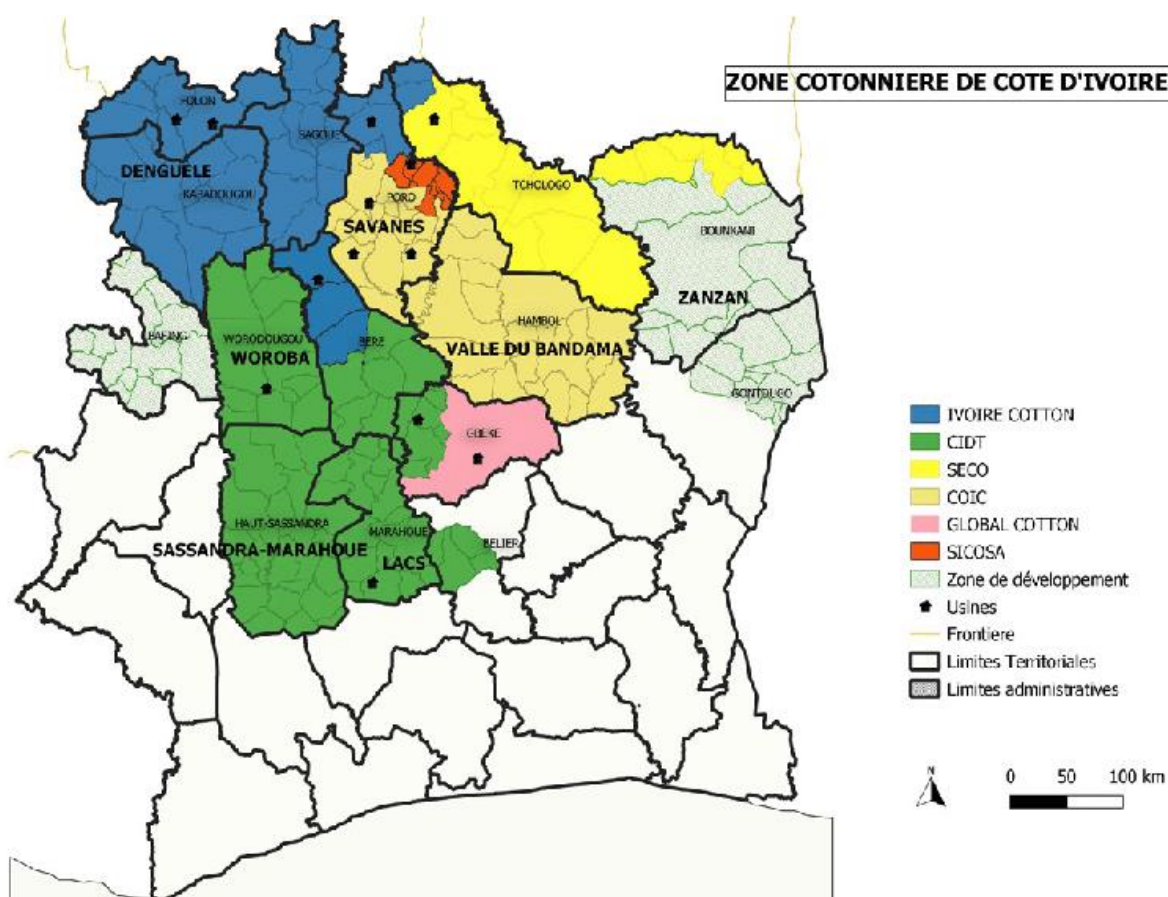


Figure 6: Carte des zones de sociétés cotonnières en Côte d'Ivoire (Découla *et al.*, 2018)

1.1.9. Contraintes liées à la croissance de la production cotonnière en Côte d'Ivoire

1.1.9.1. Ravageurs du cotonnier

En Afrique de l'Ouest, une des principales contraintes à l'amélioration du rendement en culture cotonnière est la présence d'insectes ravageurs (Brévault *et al.*, 2019). Au moins 200 espèces de ravageurs ont été recensées, sur lesquelles seulement quelques-unes nuisent réellement au coton (Brévault *et al.*, 2019).

En absence de protection, les pertes de récoltes se situent entre 50 et 90 % de la production potentielle (PR-PICA, 2018).

En Afrique de l'Ouest, le coton bénéficie d'un suivi parasitaire intégré sous régional, dans le cadre du Programme Régional de Protection Intégré du Coton en Afrique (PR-PICA) qui se réunit annuellement en colloque scientifique. Ainsi lors de chacune de ces sessions, différentes communications sont faites sur l'efficacité des programmes de lutte antiparasitaires vulgarisés dans les pays membres (Bénin, Burkina Faso, Mali, Sénégal, Côte d'Ivoire et Togo) (PR-PICA, 2019).

Les ravageurs rencontrés sont essentiellement :

- Les lépidoptères phyllophages, Figure 7A (*Anomis flava* Fabricius) ; ce sont des chenilles défoliatrices qui attaquent les organes florifères et fructifères du cotonnier ;
- Les lépidoptères carpophages endocarpiques, Figure 7B (*Pectinophora gossypiella* Saunders) ; ils pénètrent dans l'organe fructifère dès son éclosion et détruisent plusieurs loges de la capsule attaquée;
- Les lépidoptères carpophages exocarpiques, Figure 7C (*Helicoverpa armigera* Hübner) ; c'est le groupe le plus dangereux, ils s'attaquent aux boutons floraux, aux fleurs et aux capsules.
- Les aleurodes piqueur-suceurs, Figure 7D (*Bemisia tabaci* Gennadius) ; ces insectes sont des vecteurs de maladies du cotonnier
- Les acariens piqueur-suceurs, Figure 7E (*Polyphagotarsonemus latus* Banks) ; c'est l'espèce la plus courante. Elle provoque habituellement une déformation des organes ;
- Les jassides piqueur-suceurs, Figure 7F (*Jacobiella* spp) ; elles s'attaquent aux feuilles, provoquant ainsi le jaunissement des bordures des feuilles
- Les pucerons piqueur-suceurs, Figure 7G (*Aphis gossypii* Glover); ces insectes sont des vecteurs de maladies du cotonnier et provoquent aussi des dégâts directs par la ponction de la sève élaborée
- Les punaises piqueur-suceurs, Figure 7H (*Dysdercus völkerei* Schmidt); elles endommagent les feuilles, rameaux, tiges et capsules, entraînant l'apparition de chancres bruns ou noirs. (PR-PICA, 2019).

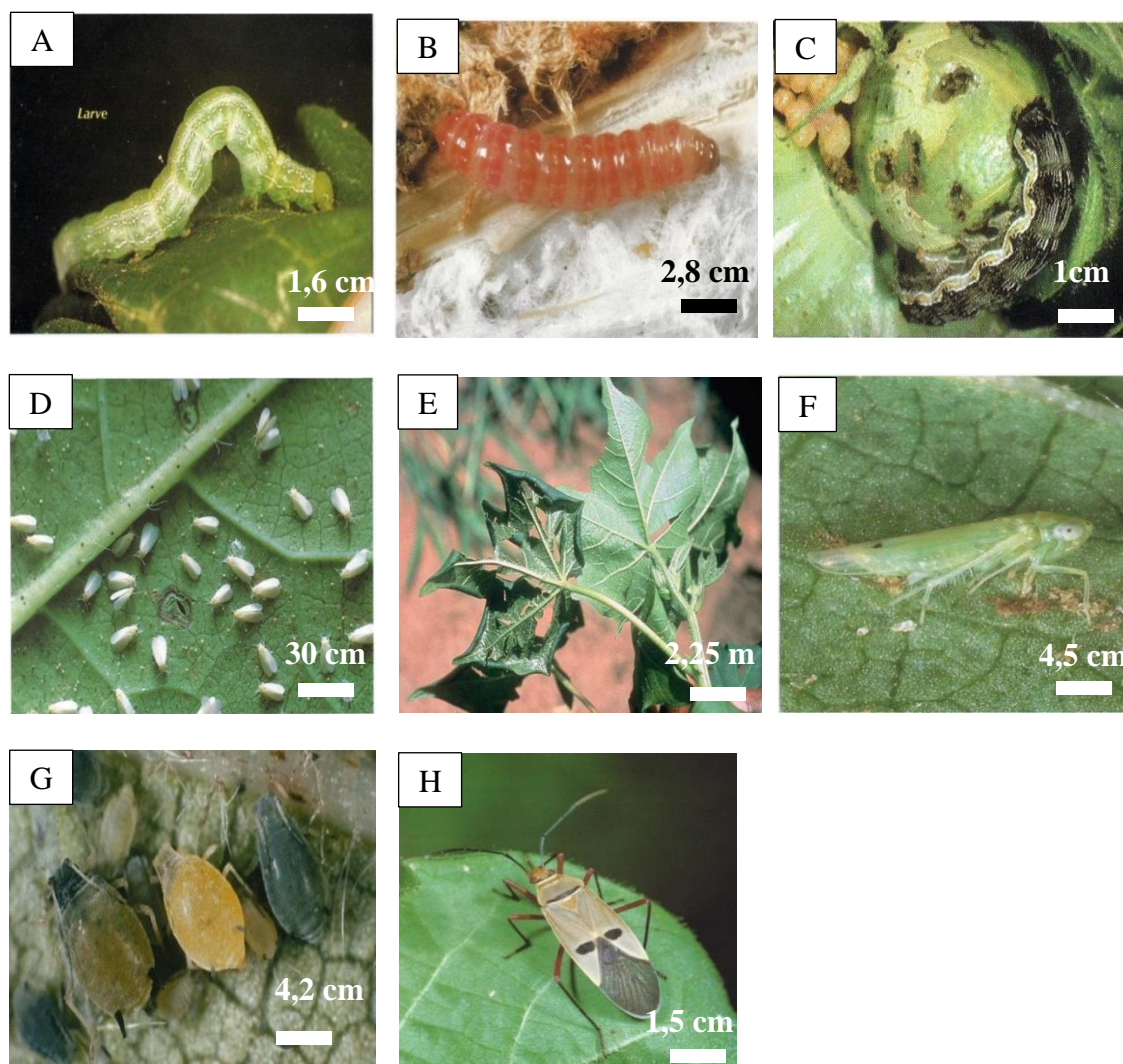


Figure 7: Principaux ravageurs du cotonnier (Koné *et al.*, 2019)

A: *Anomis flava*; **B:** *Pectinophora gossypiella*; **C:** *Helicoverpa armigera*; **D:** *Bemisia tabaci*; **E:** *Polyphagotarsonemus latus*; **F:** *Jacobiella fascialis*; **G:** *Aphis gossypii* Glover; **H:** *Dysdercus voelkeri*.

1.1.9.2. Maladies du cotonnier

Les organismes pathogènes à l'origine des maladies du cotonnier incluent des champignons, des bactéries, des virus et des mycoplasmes (Davis *et al.*, 2006).

Le virus du cotonnier regroupe plusieurs virus transmis principalement par des insectes vecteurs comme le puceron *Aphis gossypii* et les aleurodes, provoquant des symptômes variés (enroulement, déformation, chutes des feuilles et fleurs) et des pertes importantes de rendement. Le puceron du cotonnier (*Aphis gossypii*) est un vecteur important de nombreux virus dont ceux responsable des maladies virales (Zerbo *et al.*, 2024).

1.1.9.2.1. Maladies virales

- La maladie bleue du cotonnier

Elle provoque des symptômes variés sur les feuilles et réduit la quantité et la qualité du coton. Cette maladie est répandue en Afrique, notamment en Centrafrique.

- Le virus du Bunchy Top du cotonnier.

Il entraîne des feuilles plus petites, des entre-nœuds, des racines poilues avec des nœuds. Il est transmis par le puceron *Aphis gossypii*.

- Le virus de la frisolée du cotonnier (Cotton Leaf Curl Virus-CLCuV).

Ce virus provoque l'enroulement des feuilles vers le haut, l'épaississement des nervures, la chute des fleurs. Il est transmis principalement par les aleurodes. Ce virus persiste dans les champs via des hôtes alternatifs comme le tabac et la tomate.

1.1.9.2.2. Maladies bactériennes

En ce qui concerne les maladies bactériennes du cotonnier, elles sont principalement représentées par la bactériose causée par *Xanthomonas axonopodis* pv. *Malvacearum*. Cette bactérie est responsable de la maladie appelée brûlure bactérienne ou bactériose du cotonnier, qui affecte toutes les parties aériennes de la plante : feuilles, tiges, capsules et graines. Elle se manifeste par des taches foliaires anguleuses et gorgées d'eau, avec des bords rouges à bruns. Ces taches peuvent s'étendre le long des nervures des feuilles. Les tiges peuvent présenter des chancres noirs qui ceignent les tissus vasculaires. Les capsules infectées pourrissent, avec des lésions rondes qui deviennent brun foncé à noir (Zerbo *et al.*, 2024).

1.1.9.2.3 Maladies fongiques

- La fonte des semis.

La fonte de semis est une maladie causée par *Rhizoctonia solani* Kuehn. Elle apparaît généralement peu de temps après la levée. Les jeunes plants infectés se flétrissent et présentent au niveau du collet, une zone nécrotique brunâtre qui tend à encercler la tige. Les fontes de semis et autres maladies des racines et du collet sont fréquentes chez le cotonnier et sont attribuées à divers champignons du genre : *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Colletotrichum*, *Armillaria*.

- La nécrose de la tige

Cette maladie est causée par *Sclerotium rolfsii* Sac. Les cotonniers touchés par cette maladie changent.

La partie inférieure de la tige, souvent enfouie, est nécrosée tout autour. A la surface des tissus malades, l'on trouve un feutrage blanchâtre qui porte des sclérotés du champignon parasite (Semal, 2009).

➤ Les macules foliaires

Cette maladie est causée par *Alternaria* sp. Les macules foliaires sont souvent de petites tâches grisâtres, entourées d'auréole violacée. Les dommages sont très faibles et ne nécessitent aucune intervention spéciale.

➤ La pourriture des capsules

Cette maladie causée par des champignons du type levuriforme *Nematospora gossypii* Ash. & Now et *Nematospora coryli* Peg. Ces organismes sont introduits dans les fruits du cotonnier par des piqûres de certains insectes tels que *Dysdercus* spp. D'autres pourritures des capsules sont causées par *Diplodia gossypina* Cke. Les capsules atteintes par ce champignon prennent une coloration brun-noir. Par conséquent, les capsules s'ouvrent prématurément et les fibres qu'elles contiennent s'altèrent et deviennent grisâtres.

➤ Les lésions d'anthracnose

Les lésions sur les capsules sont dues à *Colletotrichum* spp. Les attaques de ce champignon se manifestent par l'apparition de lésions chancreuses de couleur brun noirâtre. Le centre des lésions peut, en milieu humide, devenir rosé (développement des fructifications du champignon). A ces lésions externes correspond une pourriture interne qui peut entraîner la perte totale de la capsule.

➤ La fusariose vasculaire ou flétrissement du cotonnier

La fusariose vasculaire ou flétrissement du cotonnier est causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. & H. La fusariose est une maladie fongique rencontrée principalement dans les climats chauds (température moyenne supérieure à 23°C et humidité ambiante supérieure à 85 %) et qui affecte les plantes ayant déjà subi une attaque parasitaire de type nématodes par exemple. Elle se manifeste par le flétrissement des feuilles, la chlorose, la nécrose foliaire, le brunissement des vaisseaux de la tige, puis la mort des plants. Elle est considérée comme la maladie la plus dommageable pour le cotonnier, avec des pertes de production pouvant atteindre 15 à 25 %, voire plus de 50 % lorsque les conditions sont défavorables et le parasitisme mal contrôlé (N'Goran *et al.*, 2016). De ce fait, cette maladie fait l'objet de cette thèse car elle mérite d'être bien étudiée pour une meilleure connaissance.

L'on rencontre la fusariose dans différentes zones de la Côte d'Ivoire comme : Bouaké, Marabadjassa, Tomono, Mankono, Niakaradougou, Napié, Tiéningboué, etc.

1.2. FUSARIOSE DU COTONNIER

1.2.1. Spécificité de l'hôte

Les espèces de *Fusarium* sont des champignons filamenteux cosmopolites, comprenant des pathogènes opportunistes infectant les plantes du monde entier. Elles peuvent également se développer en tant que saprophytes dans diverses zones climatiques (Stepien *et al.*, 2019). La diversité d'hôtes de *Fusarium oxysporum* (Fo) varie selon la spéculation ; par exemple, chez les légumes tels que la courge et la tomate, les plantes d'ornementales (tulipes et œillets), le coton, le pois chiches aux cultures de plantation (bananes, dattes et palmiers) (Pietro *et al.*, 2003 ; Rana *et al.*, 2017 ; Edel-Hermann & Lecomte, 2019). Bien qu'elles présentent une large diversité d'hôtes, les souches de Fo sont spécifiques à l'hôte et sont génétiquement et morphologiquement distinctes (Tableau II). Environ 150 formes ont été documentées jusqu'à présent (Mandeel *et al.*, 2005 ; Palmero *et al.*, 2009 ; Edel-Hermann & Lecomte, 2019). L'on distingue 40 espèces largement répandues dans la nature. Certaines sont phytopathogènes et capables de produire de dangereuses toxines contaminant les denrées alimentaires et provoquant ainsi des maladies graves chez les animaux et parfois chez l'homme (Chabasse *et al.*, 2002 ; Stepien *et al.*, 2019). Elles sont aussi largement répandues dans le sol en particulier le sol cultivé, et sont actives dans la composition de matières végétales cellulosiques. Elles sont une des principales causes des pourritures des fruits et des légumes. *F. oxysporum* envahit généralement les céréales et les légumineuses avant la récolte (Pitt *et al.*, 2009 ; Stepien *et al.* 2019). Quelques exemples sont montrés dans le tableau II.

F. oxysporum est un champignon Ascomycète dont la forme sexuée (téléomorphe) n'a jamais été identifiée (Leslie & Summerell, 2006). Cette espèce a été isolée de sols provenant de différentes régions du monde (cultivés ou non) couvrant tous les types de climats (arctique, tropical, désertique) (Burgess, 1981 ; Kommedhal *et al.*, 1988; Mandeel *et al.*, 1995). Bien qu'elle soit principalement présente dans les sols, elle a également été retrouvée dans des environnements plus inhabituels : circuit d'eau d'hôpitaux, eau de mer, eau de rivière, eau du robinet, lave-vaisselle (eau, produits détergents), lentilles de contact ou nourriture (Hageskal *et al.*, 2006 ; Imamura *et al.*, 2008 ; Palmero *et al.*, 2009 ; Sautour *et al.*, 2012 ; Bevilacqua *et al.*, 2013 ; Babic *et al.*, 2015). *F. oxysporum* est capable de se développer dans le sol et y persister pendant plusieurs années sous forme de structures de conservation appelées chlamydospores (Park, 1959). Lorsque le champignon se développe, il génère deux types de conidies responsables de sa dispersion.

Les microconidies, de petite taille (8-10 μm), ovoïdes et non septées, sont généralement abondantes et rassemblées en « fausse-tête » sur des phialides, elles-mêmes portées par le mycélium. Les macroconidies sont plus grandes (jusqu'à 45 μm), en forme de fusiforme et à plusieurs cloisons, disposées en groupe sur les phialides terminales qui se trouvent sur des conidiophores (Burgess, 1981). Ces caractéristiques permettent l'identification de *F. oxysporum* au microscope (Leslie & Summerell, 2006).

L'espèce comprend une large diversité de souches, allant de simples saprophytes à des pathogènes opportunistes infectant l'homme ou les animaux ainsi qu'à des souches pathogènes aux plantes (Ortoneda *et al.*, 2004). Les souches qualifiées de « non pathogènes » sont des souches pour lesquelles aucune plante hôte n'a été identifiée. Ces souches se distinguent par leur forte capacité compétitrice (Couteaudier, 1990). Certaines d'entre elles sont reconnues pour leur antagonismes vis-à-vis d'autres souches pathogènes de *F. oxysporum* ainsi que contre divers microorganismes phytopathogènes tels que *Pythium ultimum*, *Phytophthora erythroseptica* et *Sclerotinia sclerotiorum* ou encore contre d'autres ravageurs des plantes (Benhamou *et al.*, 2002 ; Rodríguez *et al.*, 2006 ; Dababat & Sikora, 2007). Cette souche s'est révélée particulièrement efficace comme agent de lutte biologique contre les fusarioses affectant le lin, le melon, et la tomate (Alabouvette *et al.*, 1993). Par ailleurs, certaines souches non pathogènes de *F. oxysporum* peuvent également se comporter comme des endophytes (Demers *et al.*, 2015). La grande diversité génétique et la flexibilité écologique de cette espèce suscitent l'intérêt des chercheurs depuis de nombreuses années. Les plantes hôtes des *Fusarium* sont très nombreuses, et au sein d'une même espèce végétale, on trouve une grande diversité d'hôtes spécifiques. En 1981, Armstrong a proposé une classification regroupant plus de 120 formes spécifiques et races de *Fusarium*, basée sur les espèces végétales et les cultivars susceptibles d'être infectés (Fravel *et al.*, 2003). Ces champignons pathogènes affectent de nombreuses cultures destinées à la consommation, notamment les céréales comme le blé, le maïs, l'orge et le riz, ainsi que des légumes et fruits tels que l'asperge, la banane, la datte, la tomate, le melon et la salade. Certaines plantes ornementales sont également sensibles à ces pathogènes (Summerell *et al.*, 2003). Une espèce de *Fusarium* n'est pas forcément limitée à un seul hôte spécifique : par exemple, *F. verticillioides* est principalement associé au maïs (Stepien *et al.*, 2011), tandis que *F. proliferatum* peut infecter plusieurs plantes dont le maïs, le riz, l'asperge, la datte et des plantes ornementales.

Par ailleurs, certaines plantes hôtes peuvent héberger *Fusarium* sans présenter de symptômes, jouant ainsi un rôle de « réservoir » pour ces pathogènes (Stankovic *et al.*, 2007). Cette diversité constitue un avantage important pour le pathogène. La présence possible de plantes hôtes, qu'elles soient sauvages ou cultivées, à proximité de la parcelle à risque favorise sa propagation sur les cultures et assure son maintien.

Tableau II : Quelques exemples de *Fusarium oxysporum* spp. et leurs plantes hôtes

PATHOGENE	PLANTE HOTE
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	Tomate
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>elaeidis</i>	Palmier
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i>	Concombre
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>betae</i>	Betterave
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lentis</i>	Lentille
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i>	Pois
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cicero</i>	Pois chiche
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>melonis</i>	Melon
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i>	Haricot
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i>	Banane
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>coffea</i>	Café
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>asparagi</i>	Asperge
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>	Palmier dattier
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	Oignon
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>niveum</i>	Pastèque
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>batatas</i>	Patate douce
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lini</i>	Lin
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>citri</i>	Citron
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>conglutinans</i>	Chou
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>dianthi</i>	Oeillet
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>gladioli</i>	Glaieul
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>tulipae</i>	Tulipe
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>nicotianae</i>	Tabac
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	Cotonnier (hôte principal), gombo (<i>Abelmoschus esculentus</i>) hôte secondaire.

1.2.2. Taxonomie

Le genre *Fusarium* a été initialement décrit par Link en 1809. Il appartenait au phylum des Deutéromycètes (champignons imparfaits, Fungi imperfecti), car la plupart des espèces étaient d'abord décrites sur la base de caractères morphologiques. Ces formes imparfaits (anamorphes) sont caractérisées par un mycélium septé et la production de conidies hyalines généralement unicellulaire sur des conidiophores libres ; elles sont classées dans le groupe des Moniliales (Lepoivre, 2003). De plus, *Fusarium* produit des macroconidies composées de 2 à plusieurs cellules. Leur forme recourbée typique avec une cellule apicale plus ou moins pointue est un des critères d'identification des représentants du genre ; dans beaucoup d'espèces on observe une cellule basale en forme de pied (Seifert, 2001). La production de métabolites secondaires et notamment de toxines (mycotoxines et phytotoxines) est courante parmi les *Fusarium*, et le profil de ces composés peut être utilisé pour la classification des espèces (Thrane, 2001). Des formes sexuées (téléomorphes) ont désormais été identifiées pour certaines espèces de *Fusarium*. Ces formes appartiennent aux Ascomycètes, plus précisément à la famille des *Nectriaceae*, notamment aux genres *Gibberella* et *Nectria* (Seifert, 2001). Par conséquent, *F. oxysporum* est considéré comme un ascomycète, bien que son stade sexuel reste à découvrir. Il est suggéré d'être plutôt proche du groupe téléomorphique *Gibberella* et *Nectria* (Di Pietro *et al.*, 2003 ; Michielse & Rep, 2009). L'espèce *Fusarium oxysporum* existe sous de nombreuses formes spéciales. Cette espèce posséderait 77 formes parasites attaquant aussi bien des plantes annuelles (cotonnier, tomate, pois, melon), que des plantes pérennes comme le bananier et le palmier à huile (Booth, 1971).

La position taxonomique du *Fusarium* est la suivante :

Domaine	: Eucaryotes
Règne	: champignons
Phylum	: Ascomycètes
Classe	: Hordariomycetes
Sous-classe	: Hypocreomycetidae
Ordre	: Hypocreales
Famille	: Nectriaceae
Genre	: <i>Fusarium</i>
Espèce	: <i>Fusarium oxysporum</i>

1.2.3. Caractère macroscopique et microscopique de *Fusarium oxysporum*

Dans un milieu de culture solide, comme le milieu Potato Dextrose Agar (PDA), les différentes formes spéciales de *F. oxysporum* peuvent varier d'apparence (Tableau III). Généralement, au début de la croissance, le mycélium est d'abord de couleur blanchâtre. Il peut ensuite changer vers une grande variété de couleurs (du violet jusqu'au pourpre foncé) selon la souche (ou forme spéciale). Si les sporodochiums (amas de conidiophores provenant d'un stroma ou masse d'hyphes) sont abondants, la culture apparaîtra couleur crème ou orange (Smith *et al.*, 2010). Le champignon produit trois types de spores asexuées : microconidies, macroconidies et chlamydo-spores.

Les microconidies sont uni- ou bicellulaires fusiformes à réniformes, présentant de 0 à 2 septa, agglomérés en fausses têtes produites par de petits phialides et sont produites abondamment et fréquemment par le champignon sous tout type de conditions (Figure 8). C'est aussi le type de spore qui est observé plus fréquemment à l'intérieur des vaisseaux des plantes infectées. Les microconidies de *F. oxysporum* ont souvent la forme d'une virgule ou sont ellipsoïdales (Agrios, 2005), les microconidies constituent la plus grande partie de la population de *F. oxysporum*, certaines d'entre elles acquièrent une paroi épaisse et se transforment en microchlamydo-spores (Tello-Marquina *et al.*, 1985).

Les macroconidies sont composées de trois jusqu'à cinq cellules, légèrement arquées, présentant de 2 à 4 septa (Figure 8). La cellule basale pédicellée et celle apicale en crochet sont produites par des phialides sur des conidiophores ramifiés ou en sporodochie (27- 46*3-4,5µm). Elles sont pointues et courbées. Ces spores peuvent être observées dans des sporodochiums à la surface des plantes qui ont été tuées par le pathogène (Agrios, 2005).

Les chlamydo-spores sont des spores rondes d'une ou deux cellules (Figure 8). Elles sont observées au milieu des hyphes ou en position terminale, souvent en forme de paires, quelques fois en triplets et rarement en forme rassemblée (Agrios, 2005). Les chlamydo-spores sont des structures de conservation formées par l'accumulation de réserves dans une partie du mycélium ou conidie, qui se dilate légèrement et finit par se couvrir d'une membrane épaisse généralement de couleur foncée. Après trois semaines de cultures, de nombreuses chlamydo-spores intercalaires apparaissent sur le mycélium (Ben Freha *et al.*, 2010).

Tableau III: Morphotypes chez *F. oxysporum* d'après Booth (1971) et Nelson *et al.* (1983)

Morphotypes	Caractéristiques
Type sporodochial	Présence de macrosporodochie massives, dispersées en plus ou moins grand nombre dans un mycélium aérien assez court, mais dense et d'aspect duveteux
Type sclérotial	Présente le même aspect que le type précédent, mais les sporodochies sont remplacées par des scléroties plus ou moins volumineux de couleur beige violacé à rosâtre
Type pionnotal	Présente un aspect luisant et humide ou crémeux, sans mycélium aérien ; la couche superficielle est constituée de nombreuses macroconidies qui sont formées en nappe sur des phialides non ramifiées
Type duveteux	Présente un mycélium aérien assez court, mais dense, portant de nombreuses microconidies ; les macroconidies sont abondantes et les chlamydospores se forment tardivement
Type cotonneux	Présente un mycélium aérien très abondant, épais et dense, très peu sporifère
Type ras muqueux	Ne présente pas de mycélium aérien ; les microconidies sont abondantes ; les macroconidies sont rares et les chlamydospores abondantes, mais tardives
Type ras senescent	Il est caractérisé par un mycélium aérien extrêmement ras, clairsemé, peu visqueux et par une vitesse de croissance lente

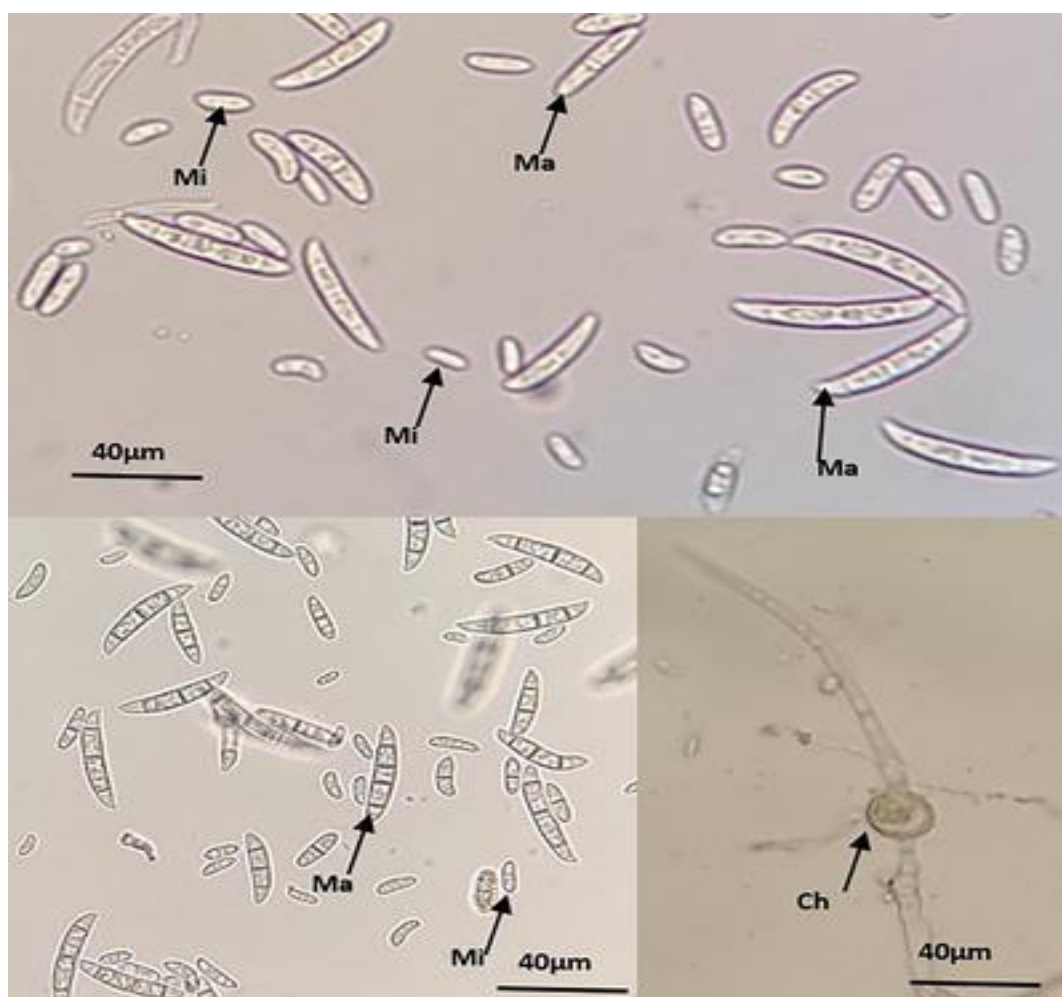


Figure 8: Structure microscopique montrant les différents types de spores de *Fusarium oxysporum* (Balagouda *et al.*, 2023)

Mi : microconidies ; *Ma* : macroconidies ; *Ch* : chlamidospores

1.2.4. Déterminisme génétique du pouvoir pathogène de *Fusarium oxysporum*

Peu d'informations existent sur le déterminisme génétique du pouvoir pathogène des formes spéciales de *F. oxysporum*. En 2005, une protéine sécrétée dans le xylème (SIX) par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* chez la tomate a été identifiée. Cette étude a également démontré son implication dans le pouvoir pathogène de cette forme spéciale (Rep, 2005). Par ailleurs, d'autres gènes codants pour des enzymes (chitine synthase, β 1,3glucanosyltransferase, endopolygalacturonase), des facteurs de transcription ou des protéines impliquées dans la transduction de signaux (protéine G, kinase) ont été décrits comme des déterminants du pouvoir pathogène de *F. oxysporum* (Di Pietro *et al.*, 2001 ; Jain *et al.*, 2002 ; Caracuel *et al.*, 2005 ; Martín-Urdíroz *et al.*, 2008 ; Michielse *et al.*, 2009).

L'analyse génomique de différentes souches de *F. oxysporum* vise à mieux cerner les facteurs responsables de la pathogénicité de cette espèce. En 2010, une étude comparative a été réalisée sur les génomes de *F. verticillioides*, *F. graminearum*, ainsi que d'une souche de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Les résultats ont révélé que le génome de *F. oxysporum* s'étend sur 60 Mb répartis en 15 chromosomes. L'information la plus étonnante et intrigante demeure la découverte d'un «core genome » (ensemble de gènes présents dans presque toutes les souches d'une même espèce), commun aux trois espèces, et d'un « accessory genome » (ensemble des gènes présents uniquement chez certains individus d'une espèce) spécifique à *F. oxysporum*, représentant 40 % de son génome. Ce dernier comprend des chromosomes riches en éléments transposables et des gènes dits effecteurs, impliqués dans la pathogénicité (Ma *et al.*, 2010). Ces chromosomes surnuméraires, acquis par transfert horizontal, détermineraient la spécificité d'hôte des souches pathogènes de *F. oxysporum* (Ma *et al.*, 2013 ; Ma, 2014). Par la suite, le Broad Institute a séquencé le génome de 10 autres souches de *F. oxysporum*, couvrant plusieurs formes spéciales ainsi qu'une souche antagoniste et une souche pathogène pour l'homme. Ces recherches, toujours en cours, visent à identifier les différences entre souche pathogène et non pathogène pour pouvoir développer des outils de détection adaptés (Ma, 2014).

Dans certains cas, des outils de détection ont été conçus à partir des gènes reconnus comme liés à la pathogénicité. Par exemple, un couple d'amorces a été élaboré à partir du gène SIX1, permettant de détecter spécifiquement les races 1, 2 et 3 de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Rep *et al.*, 2004). De la même manière, les séquences des gènes codant pour une endopolygalacturonase et une exopolygalacturonase ont servi à définir deux couples d'amorces spécifiques aux races 2 et 3 de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, ainsi qu'à la forme spéciale *radicis-lycopersici* respectivement (Hirano & Arie, 2006). Une autre approche repose sur l'amplification par PCR de séquences d'éléments transposables. Par exemple, des amorces pour détecter les formes spéciales *albedinis* et *chysanthemi* ont été développées en se basant sur les régions flanquantes du transposon *Fot1* (Pasquali *et al.*, 2004). Toutefois, les méthodes principales employées pour concevoir un outil de détection spécifique reposent sur la mise en évidence aléatoire de différences génétiques entre souches (Chiocchetti *et al.*, 2001). Par exemple, la technique de RAPD amplifie l'ADN par PCR à l'aide de courtes amorces, générant un profil multi-bandes qui met en lumière un polymorphisme entre souches. En raison du manque de reproductibilité de cette méthode, on y remédie souvent en définissant des amorces spécifiques à partir du fragment d'ADN identifié (sequenced characterized amplified region, SCAR).

L'association des techniques RAPD et SCAR conduit à une détection plus simple et fiable de la cible (Lievens *et al.*, 2008). Ces approches ont ainsi permis de développer des outils de détection pour plusieurs formes spéciales telles que les formes spéciales *cucumerinum* et *radicis-cucumerinum* (Najafiniya & Sharma, 2011). Pour ce faire, 115 oligonucléotides ont été employés et les profils d'amplification ont été examinés. Les fragments d'ADN d'intérêt, c'est-à-dire présents uniquement pour le pathogène ciblé, ont été séquencés, permettant ainsi de définir un couple d'amorces pour chacune des deux formes spécifiques. Les marqueurs moléculaires ainsi obtenus offrent la possibilité de détecter le pathogène dans diverses matrices, telles que l'eau ou la plante (Lievens *et al.*, 2007 ; Najafiniya & Sharma, 2011 ; Luongo *et al.*, 2012).

En 2005, une étude sur la diversité génétique de Fov en Côte d'Ivoire a été réalisée. Les 17 souches analysées ont été réparties dans 4 groupes de compatibilité végétative (VCG) (Abo *et al.*, 2005). Parmi ces isolats ivoiriens, 5 se sont révélés auto-incompatibles (H.S.I. = Heterokaryon Self Incompatible) ce qui signifie que les mutants *nits* d'un même isolat ne peuvent pas s'anastomoser ni se compléter. Les 12 autres isolats, FOV1, FOV3, FOV6, FOV8, FOV9, FOV10, FOV11, FOV13, FOV14, FOV15, FOV16 et FOV17, ont quant à eux été rattachés à des VCG. La confrontation des isolats ivoiriens avec les souches témoins de la collection internationale a permis de les assigner à des VCG déjà connus : VCG 01110, 0112, 0115 et 0116. Par ailleurs, une autre étude menée en Argentine a identifié 5 VCG parmi les 64 souches de Focv isolées, sans toutefois inclure dans l'analyse des représentants des 4 VCG décrits dans l'étude précédente (Lori *et al.*, 2012). Cependant, aucun marqueur moléculaire spécifique de Focv n'a, à ce jour, été identifié.

1.2.5. Symptômes de la fusariose du cotonnier

La fusariose peut atteindre les plantules, les jeunes plants, ou les cotonniers plus âgés. Les plants parasités meurent rapidement peu après la levée. En examinant des cotonniers fusariés après le stade plantule (Figure 9), l'on note le jaunissement des feuilles et le brunissement des vaisseaux ligneux. Le limbe prend une forme convexe, les nervures jaunissent et s'éclaircissent ou deviennent rouges, puis le limbe jaunit. Le jaunissement et la nécrose avancent entre les nervures et par la suite, les feuilles tombent. Le phénomène débute par les feuilles basses, les plus âgées (N'Goran *et al.*, 2014).

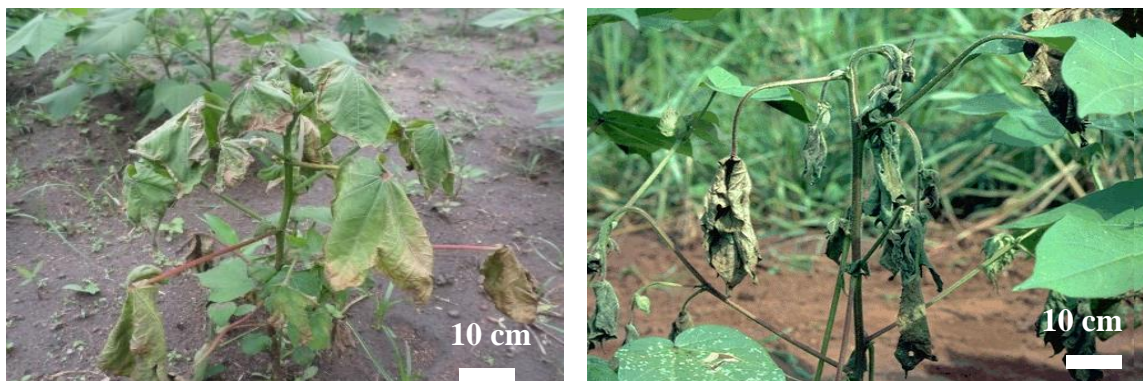


Figure 9: Plants de cotonnier présentant le dessèchement et le flétrissement des feuilles

1.2.6. Cycle de développement du pathogène

Le cycle de vie des *Fusarium* est peu maîtrisé. Lorsque les conditions climatiques deviennent favorables, les structures de conservation présentes dans le sol, telles que les conidiophores et périthèces, libèrent les spores qui sont ensuite transportées par le vent pour infecter de nouvelles plantes, constituant ainsi l'inoculum primaire. En contact avec leur hôte, ces spores germent et les mycéliums envahissent le système vasculaire de la plante, provoquant la mort des tissus. Le champignon se développe ensuite en produisant diverses spores, notamment les chlamydospores, macroconidies et microconidies. En fin de cycle, il forme de nouveau des structures de conservation. *Fusarium* peut se reproduire de deux manières : la reproduction asexuée, commune à tout le genre avec des conidiophores et la reproduction sexuée, observée chez certaines espèces comme *F. proliferatum* et *F. graminearum*. Cette dernière est particulièrement efficace pour assurer la survie de l'espèce car ses structures sexuées peuvent persister plusieurs années en attendant des conditions favorables à leur développement. De plus, elles sont capables de résister aux fluctuations des conditions climatiques telles que le gel, le dégel, la sécheresse) (Beyer *et al.*, 2004 ; Trail, 2009).

F. vasinfectum est un parasite tellurique qui initie son cycle de développement en affectant les racines du cotonnier, avant de se propager de manière systémique dans les tissus conducteurs. Les modalités et intensités de réaction de l'hôte sont variables selon les variétés. Généralement, dans le cas d'une résistance marquée on observe une rapide mise en place des réactions de défense qui se traduisent par un blocage de la colonisation systémique des vaisseaux du xylème.

1.2.7. Conditions de développement du pathogène

Le genre *Fusarium* recouvre de très nombreuses espèces et les conditions optimales de développement le sont tout autant.

Certaines tendances apparaissent néanmoins en conditions de laboratoire. Des températures chaudes, comprises entre 20 °C et 30 °C, une humidité élevée (activité de l'eau entre 70 °C et 80 °C) ainsi qu'un pH plutôt neutre favorisent la croissance optimale du micro-organisme. En revanche, à des températures extrêmes (au-delà de 40 °C et en dessous de 5 °C) et avec une humidité relative inférieure à 53 %, le développement des champignons, notamment la germination des spores, est fortement limité voire interrompu (Beyer *et al.*, 2004 ; Summerell *et al.*, 2010). Des différences entre espèces sont également observées : *F. proliferatum* se développe plus aisément en culture *in vitro* à un pH de 5,5 et à une température de 25 °C. tandis que *F. verticillioides*, préfère un pH de 7 et des températures proches de 30 °C (Summerell *et al.*, 2010).

Aucune forme sexuée de *F. oxysporum* n'a encore été observée, ni en conditions naturelles ni au laboratoire (Abo, 2006). Il s'agirait donc d'une unité taxonomique et biologique qui est dominée par une reproduction asexuée (Songmao *et al.*, 2024). Les tests de compatibilité végétative ont été largement employés pour caractériser de nombreuses formes spéciales (Lori *et al.*, 2004; Abo *et al.*, 2005), et une nomenclature des groupes VCG a été établie (Katan, 1999). Le nombre de VCG par forme spéciale varie, allant de 1, comme pour la forme spéciale *albedinis*, à 24 pour la forme spéciale *cubense* (Katan, 1999). Il reste toutefois difficile d'établir un lien clair entre forme spéciale, race et VCG. En effet, certaines races correspondent à un seul VCG, comme *F. oxysporum* f. sp. *raphani*, tandis que d'autres regroupent plusieurs VCG, à l'image de la race 1 de la forme spéciale *niveum* (Jacobson & Gordon, 1988; Correll, 1991).

Les VCG sont particulièrement utiles pour évaluer la proximité génétique entre souches à un niveau clonal, mais ne permettent pas d'explorer les relations génétiques entre VCG (Kistler, 1997). De plus, cette méthode est fastidieuse et très consommatrice de temps. Bien qu'elle ait longtemps constitué les populations pathogènes de *F. oxysporum*, son utilisation est aujourd'hui moins fréquente.

1.2.8. Interaction hôte-pathogène

La fusariose est une maladie transmise par le sol qui se caractérise par des plantes flétries aux feuilles jaunes et une réduction marquée du rendement des cultures. L'agent pathogène prospère dans les climats chauds et les sols secs. Par conséquent, les symptômes sont sévères à 25-30°C (Joshi, 2018). *Fusarium*, étant un champignon anamorphique, produit des spores asexuées, à savoir des microconidies, des macroconidies et des chlamydo-spores (propagules dormantes) (Gordon, 2017). La germination de ces spores est déclenchée par la sécrétion d'exsudats provenant des racines de la plante hôte et des sites d'émergence ou de blessure des racines latérales. Lors de la germination, le développement d'un hyphe d'infection est initié et pénètre dans l'épiderme de la racine à son extrémité (Bishop & Cooper, 1983). Par la suite, l'hyphe progresse de manière intercellulaire via les cellules corticales des racines jusqu'à pénétrer dans le tissu du xylème. En atteignant le tissu vasculaire, le champignon se ramifie abondamment et produit des microconidies et des macroconidies qui sont transportées de manière acropète par la transpiration du système végétal (Bishop & Cooper, 1983). Les microconidies germent et les hyphes se propagent de manière systémique dans tout l'hôte. Cependant, des résultats contrastés ont été obtenus dans une étude menée par Michielse et Rep (2009). Dans cette étude, ni les conidiophores ni les microconidies n'ont été observés dans les vaisseaux du xylème des plants de tomates infectés. Ces résultats ne correspondent pas à l'idée conventionnelle selon laquelle les microconidies jouent un rôle important dans la colonisation.

Généralement, pour empêcher la propagation du champignon, les plantes résistantes produisent des composés antifongiques et obstruent la lumière du vaisseau du xylème par des tyloses (Zhang *et al.*, 1993). Cette réponse chez les hôtes sensibles est généralement retardée jusqu'aux stades ultérieurs de l'infection. Le blocage des vaisseaux du xylème entraîne finalement un brunissement du tissu vasculaire, un symptôme important de la flétrissure fusarienne. La progression de la maladie au fil du temps entraîne la courbure des feuilles, la chlorose, le flétrissement et finalement la mort de l'hôte. A ce stade, le champignon sporule abondamment à la surface des tissus végétaux morts. La maladie se propage à d'autres hôtes via des parties de plantes infectées, des greffes ou des graines et un sol contaminé (Michielse & Rep, 2009 ; Gordon, 2017 ; Joshi, 2013).

1.2.9. Dissémination et dispersion

Le moyen de dissémination le plus efficace de Fov est réalisé au travers de matériels de plantations infectés. Le champignon peut également se disperser par l'eau, notamment lors de la phase de drainage et de ruissellement importants, ou plus de manière encore plus efficace via les systèmes d'irrigation utilisés sur de vastes surfaces. Un transport mécanique, par des particules de terre contaminée véhiculées par des machines agricoles ou des interventions humaines, est aussi possible. Lorsque Fov est introduit ponctuellement dans une zone jusque-là indemne, sa progression dans la parcelle se fait lentement, de plante en plante. Cependant, si certaines conditions sont réunies (réservoir d'irrigation), sa progression devient très rapide (Authier *et al.*, 2018).

1.2.10. Capacité d'adaptation du pathogène

Lorsque la maladie atteint son stade final et que la plante est entièrement sénescente après un flétrissement généralisé, le champignon colonise les tissus vaisseaux. Son mycélium se développe ensuite hors de l'hôte, au contact direct des tissus nécrosés, pour entamer son développement saprophytique dans le sol. Il produit alors des chlamydo-spores de survie très efficaces qui lui permettent de résister à des conditions environnementales défavorables telles que la dessiccation ou l'absence d'hôtes. Ces chlamydo-spores peuvent persister dans le sol en saprophyte, se nourrissant de débris divers de végétaux, et parfois même en tant que parasites d'hôtes alternatifs divers (Mourichon, 2003). Le stade sexué de *F. oxysporum* n'ayant jamais été observé, ce champignon pathogène semble se reproduire uniquement par voie asexuée. Par conséquent, les modifications génétiques chez Fov résultent ainsi des mutations conservées lors des différentes phases de multiplication végétative (Mourichon, 2003).

1.3. METHODE DE LUTTE CONTRE LA FUSARIOSE DU COTONNIER

1.3.1. Méthodes de lutte prophylactiques

La méthode de lutte prophylaxie rassemble les différentes mesures permettant de prévenir l'apparition ou la propagation d'une maladie ou d'un ravageur, ou le développement des adventices. Elles consistent en l'utilisation de semences saines, exemptes de *Fusarium*, ou traiter les semences avec des fongicides, la destruction des débris de récolte par brulis et la mise en quarantaine des semences importées.

Des mesures peuvent être prises pour perturber le cycle du parasite (environnement moins favorable ou hostile à son développement). Selon la cible, elle peut reposer sur la rotation, le choix de la parcelle, la conduite de la culture, les mesures d'hygiène sur les équipements etc. Il faut aussi éviter l'introduction de matériel végétal et de terre provenant des zones contaminées. Chez le palmier dattier, le parasite a pu être isolé à partir d'une palme sèche qui date de plus de dix ans (Mahdi, 2011).

1.3.2. Méthodes de lutte agronomiques

Elles consistent en une jachère de longue durée, en la réalisation d'un labour profond ou un enfouissement des résidus de culture pour réduire la présence du champignon dans le sol, en l'élimination des plantes infectées dès les premiers signes de la maladie pour limiter la propagation. Cependant, l'éradication de la fusariose à travers une rotation culturale avec des cultures non hôtes ne paraît pas toujours efficace, car *F. oxysporum*, même en absence de cotonnier, peut survivre à l'état saprophytique dans les débris végétaux et dans la rhizosphère des plantes non-hôtes.

1.3.3. Méthodes de lutte chimiques

La lutte chimique demeure, en Afrique de l'Ouest le principal moyen de contrôle des ravageurs du cotonnier. La première étape cruciale de la protection du cotonnier consiste à traiter les semences afin d'améliorer la levée et la santé des plantules (Traoré, 2008). Pour cela, les semences sont désinfectées à l'aide d'associations fongicides de contact et insecticides, afin de lutter contre les champignons microscopiques, les ravageurs du sol et ceux affectant les jeunes plantes (Badiane, 2015). Cette pratique s'avère cependant trop onéreuse (cout élevé, dépense importante) pour nombreux pays producteurs de coton. Elle peut même être polluante pour l'environnement lorsqu'elle est basée sur l'utilisation de fumigeant tels que le bromure de méthyle et le plus souvent ces produits ne sont pas toujours efficaces. Par exemple, injectés à la surface du sol, leur efficacité est réduite sur les parasites localisés en profondeur.

Une autre alternative consiste à l'utilisation de produits cryptogamiques à action endotherapique ou systémique (des produits à action systémique : substances pouvant circuler dans les vaisseaux des plantes et inhiber le parasite déjà présent sont souvent recommandées).

Cependant, le traitement de la fusariose à l'aide de fongicides induit souvent l'apparition de nouvelles souches de parasites résistantes (Tramier *et al.*, 1977).

1.3.4. Méthodes de lutte biologiques

Elles reposent, d'une part, sur l'utilisation de micro-organismes antagonistes révélés efficaces pour lutter contre *F. oxysporum* et *F. vasinfectum* et d'autre part, sur l'utilisation de micro-organismes non pathogènes ou doués d'une hypovirulence de nature à susciter une réaction de défense chez certains cultivars de cotonniers (Freeman *et al.*, 2002). En effet, très tôt, l'imprégnation des graines par des germes antagonistes du parasite a donné des résultats satisfaisants chez le palmier à huile (Param & Mehpotra, 1980). Il faut noter aussi le rôle indispensable de *F. oxysporum* et *F. solani* non pathogènes dans les mécanismes de résistances des sols (Rouxel *et al.*, 1979). Ils démontrent que ces souches antagonistes de la souche virulente de « *Fusarium oxysporum* » empêchent cette dernière d'infecter la plante par leur grande compétitivité dans le sol. Cependant ce type de pratique présente la difficulté de maintenir un auxiliaire dans un sol qui ne lui convient pas toujours. Cette méthode de lutte est donc très loin d'être appliquée à grande échelle.

1.3.5. Méthodes de lutte variétales

La lutte variétale consiste en l'utilisation de variétés résistantes ou tolérantes à la fusariose, à des ravageurs ou à certaines autres maladies. Parmi tous les leviers agronomiques disponibles pour limiter le besoin de protection contre les maladies ou les ravageurs, la résistance ou la tolérance variétale est un des moyens les plus efficaces pour limiter les pertes liées aux bio agresseurs, sans impact économique négatif dès lors que la sélection est dynamique. Le tableau IV présente un réservoir d'espèces sauvages possédant le caractère « résistance à la fusariose ».

A côté de ces espèces de cotonnier utilisables pour le transfert de la résistance à la fusariose, il y a des variétés de l'espèce cultivée *Gossypium hirsutum* qui possède cette même caractéristique, c'est-à-dire le caractère résistance à la fusariose. Ce sont :

la variété Mac Nair 1032 : variété tolérante à la fusariose. Malgré l'attaque de la maladie, cette variété parvient à maintenir ses capsules jusqu'à la maturité ;

la variété Reba B 50 : variété résistante à la fusariose. Elle ne permet pas au mycélium du champignon de pénétrer dans les tissus.

Tableau IV: Espèces de cotonnier utilisables pour le transfert de gènes de résistance à la fusariose (Follin, 1988)

ESPECES SAUVAGES	GENOMES	CARACTERES D'INTERETS AGRONOMIQUES
<i>Gossypium herbaceum</i>	A1	Tolérance à l'araignée rouge, au nématode à la bactériose, à la rouille, à la fusariose (<i>Fusarium oxysporum</i>) et à la sécheresse
<i>Gossypium arboreum</i>	A2	Tolérance au jasside (<i>Empoasca facialis</i>), à la mouche blanche, au ver rose, à la chenille enrouleuse, au nématode, à la bactériose, à la rouille, à la fusariose, à la chaleur et à la sécheresse
<i>Gossypium australe</i>	G	Tolérance au puceron vert, à la sécheresse et à la fusariose. Apport du rendement en fibres, de la maturité de la fibre et des gènes « gland-less » des graines

1.4. CARACTERISATION MOLECULAIRE

1.4.1. Diversité moléculaire

Dans cette partie nous parlerons des marqueurs moléculaires comme éléments de base de la diversité génétique, des avantages et des inconvénients de ces marqueurs. Nous présenterons aussi la caractérisation moléculaire basée sur les microsatellites et des applications potentielles des microsatellites chez *F. oxysporum* f.sp *vasinfectum*.

1.4.1.1. Marqueurs moléculaire, avantages et inconvénients

Les marqueurs moléculaires sont des types de marqueurs génétiques constitués de fragments d'ADN utilisés comme repères pour suivre la transmission d'un segment chromosomique d'une génération à l'autre.

Ils permettent de détecter directement les variations du patrimoine génétique, qu'elles se traduisent ou non par un changement phénotypique. Ces marqueurs, généralement neutres, sont des indicateurs de la variabilité génétique et facilitent l'identification du polymorphisme entre famille, genres, espèces, variétés, populations, voire entre individus (Grandbastien, 2004).

Par conséquent, ils représentent des outils précieux pour la génétique des populations et la phylogénie moléculaire, car ils permettent d'établir des relations de parenté entre individus. Utilisables tout au long des expérimentations, ces marqueurs sont observables à n'importe quel stade de développement de la plante et sur n'importe quel organe puisque l'information génétique est contenue intégralement dans toutes les cellules (Gupta & Varshney, 2004). Ils permettent de suivre et de vérifier la présence d'un gène d'intérêt chez un individu sans recourir à l'observation du caractère phénotypique. Une simple feuille suffit pour extraire l'ADN nécessaire pour établir le profil génétique d'une plante. Ces marqueurs, localisés à des endroits précis du génome, servent à identifier un gène particulier ou à confirmer l'héritage d'un caractère spécifique d'un parent. Ils sont ainsi identifiables, situés à des loci spécifiques, et liés à la transmission d'un gène ou d'une caractéristique donnée.

Une nouvelle génération de marqueurs est apparue pendant les deux dernières décennies, qui ont révolutionné le domaine de la génétique moléculaire. Depuis leur développement, ils ont été constamment modifiés pour augmenter leur utilité et pour permettre l'automatisation de l'analyse du génome (Mardis, 2008). Les marqueurs moléculaires basés sur l'ADN sont des outils versatiles dans divers champs comme la taxonomie, la physiologie, l'embryologie, la génétique, etc. La plupart des méthodes de marquage moléculaire permettent de détecter soit des mutations ponctuelles dans la séquence d'ADN (comme par exemple les techniques : AFLP, RFLP, SNP, RAPD ou les macrosatellites), soit des variations du nombre de copies de courtes séquences répétées appelées microsatellites.

- AFLP (Amplified fragment length polymorphism) : technique basée sur la PCR permet de détecter des polymorphismes de l'ADN à l'échelle du génome sans nécessiter de connaissance préalable de la séquence. Elle repose sur trois étapes principales, à savoir la digestion de l'ADN, la ligation d'adaptateurs et l'amplification sélective. Cette méthode est rapide, sensible, puissante et polyvalente pour l'analyse génétique, particulièrement adaptée à des organismes non modélisés, mais elle requiert des conditions techniques strictes et une analyse complexe des données (Ajmal, 2023)

- RFLP (Restriction fragment length polymorphism): technique qui exploite les variations dans la longueur des fragments d'ADN générés par la digestion avec des enzymes de restriction. Ces variations proviennent de mutations modifiant les sites de restriction. Après digestion, les fragments sont séparés par électrophorèse, transférés sur membrane, puis détectés par hybridation avec une sonde spécifique.
RFLP est une méthode co-dominante permettant de distinguer les génotypes homozygotes et hétérozygotes. Mais elle est limitée par sa dépendance aux sites de restriction et peut être coûteuse et complexe à optimiser dans certains cas (Hayder *et al.*, 2019).
- SNP (Single nucleotide polymorphism) : ce sont des variations naturelles d'un seul nucléotide dans une séquence d'ADN. Les SNP sont très nombreux et répartis de manière homogène dans le génome, ce qui permet la création de cartes génétiques à haute densité. La détection se fait souvent par hybridation avec une sonde fluorescente spécifique, suivie d'une amplification PCR et d'une lecture de fluorescence, permettant un marquage précis et automatisable à haut débit. Néanmoins, le polymorphisme des SNP est limité (deux allèles possible) et demande des ressources informatiques importantes, en termes de mémoire et temps de calcul (Levy, 2014).
- RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) : Technique basée sur la PCR utilisant des amorces courtes (8 à 12 nucléotides) de séquence arbitraire qui s'hybrident à des sites non spécifiques du génome. L'amplification aléatoire produit des fragments d'ADN polymorphes visualisés par électrophorèse. Cette méthode rapide et simple ne nécessite pas de connaissance préalable de la séquence et est utilisée pour étudier les relations phylogénétiques. Une des limites de la RAPD est qu'elle doit être utilisée sur des fragments d'ADN génomique intacts, les résultats obtenus avec des fragments d'ADN dégradés ne seront pas exploitables. Cette technique est jugée moins efficace que l'utilisation de méthodes de comparaison axées sur les ADN spécifiques aux espèces (Hagger *et al.*, 2005).
- Macrosatellites : ce sont de grandes séquences d'ADN répétées en tandem, distinctes des microsatellites par leur taille et leur fonction, contribuant à la dynamique et à la régulation du génome (Balaesque, 2007). Leur polymorphisme élevé permet d'étudier la diversité génétique, la parenté, la variabilité intra et inter-population.

Mais sont sujettes à une instabilité génomique, pouvant entraîner des mutations qui compliquent l'interprétation des données.

- **Microsatellites** : ce sont des séquences d'ADN composées de motifs courts répétés de manière consécutive. Ces motifs répétitifs sont dispersés dans le génome des eucaryotes, souvent dans des régions non codantes, mais aussi parfois dans des introns ou exons (Huaming *et al.*, 2024).

Les plus courants sont (A)_n, (TC)_n, (TAT)_n, (GATA)_n, etc. La valeur de "n" peut aller de quelques unités à plusieurs dizaines. Un microsatellite donné peut être présent en des milliers d'exemplaires dans le génome d'une espèce. Chez les végétaux supérieurs, on estime qu'il y aurait en moyenne un microsatellite di-nucléotidique tous les 30 à 100 kb. Les microsatellites sont parmi les marqueurs moléculaires les plus efficaces pour détecter le polymorphisme et sont donc de plus en plus utilisés dans de nombreuses recherches, telles que l'identification d'individus, les analyses phylogénétiques, la cartographie des QTL et l'étude des flux génétique. Ils sont particulièrement appréciés en raison de leur répartition uniforme dans le génome, de leur spécificité de locus, de leur codominance et de leur polymorphisme élevé. De plus, une fois développés, ces marqueurs sont faciles à utiliser grâce à des protocoles partiellement automatisés reposant sur la PCR. Nécessitant ainsi, seulement de petites quantités d'ADN (Mburu & Hanotte, 2005). De même les microsatellites se retrouvent en abondance relative (Zane *et al.*, 2002). Toutefois, Vigouroux *et al.*, (2002, 2005) ont montré que certains SSR, en particulier ceux situés dans les régions codante, ne sont pas forcément neutre, car ils peuvent être soumis à la sélection artificielle s'ils sont liés à des gènes d'intérêt. Cela pourrait fausser l'interprétation des études phylogénétiques. Néanmoins, ces marqueurs restent relativement économiques et faciles à utiliser par rapport à d'autres types de marqueurs.

1.4.1.2. Caractérisation moléculaire basée sur les microsatellites

Les avancées des techniques moléculaires ont favorisé une meilleure caractérisation de la diversité génétique de *F. oxysporum*. De nombreux marqueurs moléculaires, issus de régions codantes ou non codantes du génome, sont disponibles et permettent différents niveaux de discrimination. Aujourd'hui, ces marqueurs sont principalement exploités en comparant les séquences des fragments amplifiés par PCR (polymerase chain reaction).

Par exemple, l'espaceur interne transcrit (internal transcribed spacer, ITS) de l'ADN ribosomique (ADNr), souvent utilisé comme code-barres pour des champignons, permet généralement de distinguer les espèces fongiques (Schoch *et al.*, 2012). Cependant, chez *Fusarium*, la région ITS ne suffit pas à différencier certaines espèces proches ni à réaliser des analyses phylogénétique (Laurence *et al.*, 2014).

En revanche, des études récentes ont démontré que certains gènes, tels que ceux codant pour la plus grande (*RPB1*) et la deuxième plus grande sous-unité (*RPB2*) de l'ARN polymérase II, apportent davantage d'informations sur l'évolution des champignons en général et de *Fusarium* en particulier (O'Donnell *et al.*, 2013).

L'utilisation de ces marqueurs a notamment révélé que *F. oxysporum*, jusqu'alors considéré comme une seule espèce morphologique, constitue en réalité un complexe d'espèces (O'Donnell *et al.*, 2013). Par ailleurs, d'autres marqueurs moléculaires permettent d'obtenir un niveau de polymorphisme plus fin, mettant en lumière la diversité intraspécifique de *F. oxysporum* (Mbofung *et al.*, 2007; Sasaki *et al.*, 2015). Ces marqueurs peuvent être des gènes codant des protéines connues pour leur implication dans le pouvoir pathogène (xylanase, polygalacturonase), des gènes dits de « ménage » (facteur d'élongation de la traduction 1-a (*EF-1a*), β -tubuline), des régions d'ADN non codant comme l'espaceur intergénique (IGS, intergenic spacer) de l'ADNr (Jiménez-Gasco *et al.*, 2002 ; Hirano & Arie, 2009 ; Holmes *et al.*, 2009 ; Demers *et al.*, 2014). L'analyse de la région *EF-1a* a permis d'identifier 46 groupes génétiquement distincts parmi une collection de 205 souches de *F. oxysporum* provenant de 26 sols non cultivés en Australie (Laurence *et al.*, 2012). L'utilisation combinée de plusieurs marqueurs moléculaires via le typage multilocus des séquences d'ADN offre une discrimination génétique encore plus poussée, regroupant les souches en génotypes ou type de séquence (ST) (Demers *et al.*, 2014). Ainsi chez *F. oxysporum*, de nombreuses recherches ont associé les marqueurs *EF-1a* et IGS (Poli *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2014). Par ailleurs, des techniques d'amplification aléatoire telles que RAPD (random amplified polymorphic DNA) ou AFLP (amplified fragment length polymorphism) ont également été utilisées pour étudier de la diversité génétique de nombreuses formes spéciales de *F. oxysporum* (Benslimane, 2016). L'étude conjointe des marqueurs moléculaires et de la technique des groupes de compatibilité végétative (VCG) a confirmé que cette méthode permet d'obtenir une discrimination au niveau clonal (Steinberg *et al.*, 1997; Baayen *et al.*, 1998). Ces outils ont ainsi facilité l'analyse de la diversité au sein des populations pathogènes et saprophytes de *F. oxysporum*.

De nombreuses recherches sur les souches pathogènes de *F. oxysporum* ont montré que certaines formes spéciales seraient monophylétiques c'est-à-dire issues d'une seule origine évolutive unique, tandis que d'autres sont polyphylétiques, présentant plusieurs origines évolutives (Baayen *et al.*, 2000). Pour les formes spéciales polyphylétiques, la capacité pathogène aurait été acquise à plusieurs reprises au cours de l'évolution, soit indépendamment au sein des populations non pathogènes de *F. oxysporum*, soit *via* le transfert horizontal de gènes (Ma *et al.*, 2010).

Par exemple, les formes spéciales *cubense*, *gladioli* et *vasinfectum* sont polyphylétiques alors que *spinaciae*, *radicis-cucumerinum* et *tulipae* sont monophylétiques (Baayen *et al.*, 2000 ; Skovgaard *et al.*, 2001). Concernant Focv, seules deux études ont été menées : la première portait sur une collection de 53 souches issues de 7 pays et la deuxième, a analysé 64 souches exclusivement argentines. La première étude suggère que la forme spéciale *cyclaminis* serait polyphylétique (Lori *et al.*, 2012).

Les analyses s'intéressant non seulement à une forme spécifique, mais plus globalement aux populations de *F. oxysporum* dans des environnements complexes mettent en évidence une diversité intraspécifique particulièrement élevée (Lori *et al.*, 2004 ; Edel-Hermann *et al.*, 2015).

Une étude portant sur 151 souches de *F. oxysporum* associées à l'œillet montre que les 129 souches non pathogènes de cette plante se répartissent en 97 VCG, tandis que les 22 souches de *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* forment un unique VCG (Lori *et al.*, 2004). Plus récemment, une étude a examiné la diversité génétique des populations de *F. oxysporum* dans des champs de tomate (Demers *et al.*, 2015). L'analyse du gène *EF-1a* a révélé une grande diversité génétique tant dans les sols que dans les plants de tomate, avec une moyenne de 4,2 génotypes endophytes par plante. Certaines souches pathogènes de *F. oxysporum* sont génétiquement plus proches de souches non pathogènes de *F. oxysporum*, ou appartenant à une autre forme spéciale, que de souches de leur propre forme spéciale (O'Donnell *et al.*, 2013). Il est important de noter que les isolats d'une forme spéciale repose uniquement sur leur capacité à infecter une plante hôte spécifique. La diversité génétique des formes spéciales polyphylétiques rend leur identification à l'aide d'outils moléculaires particulièrement complexe. Par conséquent, l'analyse de cette diversité génétique constitue une étape essentielle avant de pouvoir identifier des marqueurs moléculaires spécifiques, fiables et pérennes. Le génome de *F. oxysporum* contient de nombreux éléments transposables, actifs pour certains, mais non fonctionnels pour d'autres.

Au moins 6 familles différentes de transposons ou de retrotransposons ont été identifiés dans cette espèce dont plusieurs peuvent coexister dans la même souche (Spanu *et al.*, 2018). Les transposons sont nombreux dans certaines souches de *F. oxysporum* ou ils peuvent constituer jusqu'à 5% du génome (Spanu *et al.*, 2018). Le génome de *F. oxysporum* contient également de nombreuses séquences répétées dont la fonction reste inconnue.

1.4.2. Gènes de virulence chez *Fusarium oxysporum*

F. oxysporum est un pathogène tellurique qui colonise une grande variété de plantes cultivées telles que le coton, le melon, la banane et la tomate. L'interaction entre *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici* et la tomate a été utilisée comme modèle pour étudier la virulence des pathogènes telluriques (Roncero *et al.*, 2003). Des progrès ont été réalisés dans la compréhension de certains des processus clés de l'infection et de la pathogénicité de ce champignon. Des progrès considérables ont été réalisés dans l'analyse des facteurs de pathogénicité et de virulence de *F. oxysporum* à l'aide d'études d'inactivation et de complémentation géniques. Ce domaine de travail est dépendant de la disponibilité d'un système de transformation efficace basé sur *Agrobacterium* (Khang *et al.*, 2005 ; Mullins *et al.*, 2001). Plusieurs gènes contribuant à la pathogénicité de *F. oxysporum* ont été décrits, notamment *FMK1*, codant pour une protéine kinase activée par les mitogènes (MAP) (Di Pietro *et al.*, 2001); *ARG1*, un gène codant pour une arginosuccinate lyase (Namiki *et al.*, 2001); *FOW1*, qui code pour une protéine de transport mitochondriale (Inoue *et al.*, 2002), les gènes des protéines G Fga1, Fga2 et Fgb1 (Jain *et al.*, 2002, 2003, 2005); *pacC*, un gène codant pour un facteur de transcription sensible au pH environnemental (Caracuel *et al.*, 2003); *CHSV*, un gène codant pour une chitinase de classe V (Madrid *et al.*, 2003); *SNF1*, un gène qui réduit l'expression des gènes des enzymes dégradant la paroi cellulaire (Ospina-Giraldo *et al.*, 2003); *SIX*, un gène qui code pour une petite protéine sécrétée trouvée dans le xylème (Rep *et al.*, 2004, 2005); et *FRP1*, qui code pour une protéine à boîte F (Duyvesteijn *et al.*, 2005).

Les facteurs de virulence peuvent être comparés à des armes utilisées par les agents pathogènes. Ils sont essentiels pour provoquer une maladie, sans toutefois affecter leur capacité à survivre. Il en existe plusieurs types, intervenant à différents moments de l'infection. Certains facilitent l'adhésion ou la pénétration des agents infectieux dans les tissus animaux ; d'autres leur permettent d'échapper ou de combattre les défenses intracellulaires de l'hôte. D'autres encore favorisent leur diffusion au sein d'un organe ou dans l'ensemble de l'organisme (Lessa & Sievert, 2023).

L'agent pathogène sécrète de petites protéines effectrices dans le xylème, appelées Six, qui contribuent à sa virulence. La plupart de ces protéines contiennent des résidus cystéine en nombre pair. L'analyse pangénomique menée sur *Fo* a révélé une organisation du génome à deux vitesses ; séparer les régions génomiques nécessaires au développement normal de l'agent pathogène des régions à évolution relativement rapide nécessaires à la pathogénèse (Dong *et al.*, 2015 ; Fokkens *et al.*, 2018). La diversité d'hôtes et la spécificité de *Fo* sont dictées par des gènes situés dans des régions génomiques associées à la pathogénicité (Williams *et al.*, 2016).

Ces gènes associés à la pathogénicité codent pour des protéines effectrices, des facteurs de transcription (TF), des enzymes sécrétées et des protéines impliquées dans le métabolisme secondaire et la transduction du signal (Schmidt *et al.*, 2013). Les protéines effectrices effectuent une réponse compatible (virulence) ou, lors de l'interaction avec leurs gènes de résistance (R) correspondants, entraînent une réaction incompatible (avirulence) (Jones & Dangl., 2006)

Le transfert horizontal de gènes de spécificité d'hôte vers des lignées génétiquement distinctes entraîne l'émergence rapide de nouvelles lignées pathogènes avec une diversité d'hôtes plus large (Ma *et al.*, 2010). Les souches non pathogènes de *Fo* peuvent coloniser des plantes asymptomatiques en tant qu'endophytes (Kuldau & Yates, 2000), le potentiel de ces souches à évoluer vers de nouvelles lignées virulentes est un sujet de préoccupation majeur (Recorbet *et al.*, 2003 ; Michielse & Rep, 2009).

1.4.3. Gènes et mécanismes de résistance des plantes

Les gènes de résistance jouent un rôle primordial dans la résistance des plantes aux maladies. La majorité de ces gènes sont dominants. Les gènes de résistance assurent une protection totale ou partielle contre un ou plusieurs pathogènes (Sayegh, 2009). Un gène de résistance (R) est tout gène qui détermine une différence dans la sensibilité à un pathogène (Michelmore *et al.*, 2013). Au cours de leur évolution, toutes les plantes ont développé un véritable « système immunitaire » capable de détecter les menaces, qu'elles soient d'origine biotique (microorganisme pathogène, insecte nuisibles) ou abiotique (pluie, grêle, gel, vent). En absence des lymphocytes et anticorps présents dans le système immunitaire humain, le système « phytoimmunitaire » se caractérise par la diversité des molécules de défense qu'il génère en réponse au stress.

Cette réponse défensive, déclenchée par l'attaque, entraîne d'importants changements dans l'activité métabolique des cellules végétales, initiant une cascade d'événements visant à freiner la progression des agents pathogènes et à limiter les dégâts causés par des blessures (Benhamou & Rey, 2012). L'on retrouve chez les plantes deux types de résistance. La première, appelée résistance passive, consiste en des barrières préexistantes ou constitutives que la plante a développées à travers une adaptation au climat. La deuxième, dite résistance active, fait référence à des barrières qui se forment de manière nouvelle en réaction à un stress.

1.4.3.1. Résistance des plantes aux agents pathogènes

Les différents phénotypes de résistances ou de sensibilité de la plante résultent de mécanismes moléculaires sous-jacents.

1.4.3.1.1. Différents phénotypes de résistances

- **Résistance non-hôte**

La résistance non-hôte est la capacité d'une plante à résister à un pathogène qui ne peut pas infecter cette espèce végétale. Cette résistance est souvent considérée comme barrière générale, non spécifique, qui empêche la croissance ou la pénétration du pathogène sur ou dans la plante (Luciano *et al.*, 2019). La résistance non-hôte est la forme la plus répandue et durable de résistance chez les plantes. Elle protège contre la majorité des micro-organismes potentiellement pathogènes. Dans ce type de résistance, pour une combinaison donnée «espèce végétale/ agent pathogène » tous les génotypes de la plante sont résistants à toutes les souches de l'agent pathogène (Mysore & Ryu, 2004), ce qui en fait une résistance non spécifique. On distingue deux types de résistance non-hôte : le type I et le type II.

La résistance non-hôte de type I, la plus fréquente, se caractérise par l'absence totale de symptômes (Mysore & Ryu, 2004). Elle correspond à l'incapacité de l'agent pathogène à franchir les barrières préexistantes de la plante (telles que la cuticule ou les métabolites secondaire) ou à son arrêt rapide lors de la pénétration et de la multiplication dans les tissus végétaux, grâce à l'activation de défenses inductives.

La résistance non-hôte de type II est toujours accompagnée d'une réaction hypersensible (HR), une réponse rapide et localisée, caractérisée par la mort cellulaire au niveau du site d'infection (Mysore & Ryu, 2004).

- **Résistance hôte**

Pour ce qui est de la résistance hôte, dans le cadre d'un couple espèce végétale/agent pathogène donné, certaines souches de l'agent pathogène peuvent infecter tout ou une partie des variétés de cette espèce végétale (Mysore & Ryu, 2004). Contrairement à la résistance non-hôte, la résistance hôte est donc spécifique. Sur un génotype donné, son existence dépend de la souche de l'agent pathogène en présence (Heath, 2000). L'on parle d'interaction incompatible entre un agent pathogène et une plante lorsque le phénotype manifeste une résistance complète, dite qualitative, souvent associée à réaction hypersensible (HR) (Greenberg & Yao, 2004).

A l'inverse, une interaction compatible correspond à un phénotype de sensibilité ou de résistance partielle, qualifiée de quantifiable. Le phénotype sensible se traduit par l'absence de résistance efficace et la présence de symptômes de maladie ; tandis que la résistance partielle ralentit la progression de l'agent pathogène sans l'arrêter totalement, avec également l'apparition de symptômes.

1.4.3.1.2. Mécanismes moléculaires de la résistance des plantes

- **Défenses préformées**

Les défenses préformées constituent la première ligne de protection contre les agents pathogènes. Elles reposent sur des mécanismes physiques et chimiques. Les barrières physiques incluent principalement les parois cellulaires végétales comme les épines sur la surface des feuilles, les poils durs portant des substances toxiques qui inhibent la ponte des œufs par les insectes. Le rôle du cytosquelette dans la diminution de l'invasion par l'agent pathogène peut également être mentionné. La cuticule épaisse des feuilles couvertes de substances hydrophobes (cire et cutine) et des tiges couvertes de subérine protège les parties aériennes de la plante (Heath, 2000). La fermeture des stomates dans les feuilles et les lenticelles des tiges permet d'éviter la pénétration des spores fongiques, des bactéries ou des nématodes. La lignine également trouvée dans les parois des vaisseaux du xylème et des stomates protège la plante contre les herbivores en raison de sa rigidité et sa difficulté à être digérée.

Ces défenses préformées comprennent également des mécanismes chimiques tels que les métabolites secondaires (phytoanticipine, saponine, ...) qui exercent principalement une action antimicrobienne, sans s'y limiter. Les plantes peuvent produire accumuler ces composés non seulement dans le cadre de leur croissance et de leur développement, mais aussi pour se protéger contre les phytophages en les rendant impropres à la consommation (Heath, 2000 ; Mysore & Ryu, 2004). Ces défenses préformées sont actives de manière constitutive, sans qu'un stimulus particulier ne soit nécessaire pour leur mise en place.

- **Défenses induites**

Les défenses induites représentent le second niveau de protection rencontré par les agents pathogènes lors de l'infection d'une plante. De façon simplifiée, ce type de défense s'articule en trois phases : d'abord, la plante reconnaît la présence de l'agent pathogène, puis un signal est transmis à l'intérieur des cellules, ce qui conduit à l'activation des gènes de défense.

Certaines défenses induites participent à la fois à la résistance spécifique de l'hôte et à la résistance non spécifique, ce qui suggère qu'elles peuvent être déclenchées par des signaux propres ou non aux pathogènes concernés. Ces signaux peuvent provenir directement des agents pathogènes ou bien résulter de la dégradation des cellules hôte (Jourdan *et al.*, 2008).

Jones et Dangl (2006) ont proposé un modèle en « Zig-Zag » en cinq phases pour décrire le système immunitaire des plantes (Figure 10). Lorsque l'agent pathogène parvient à franchir les défenses préformées, les cellules végétales détectent des molécules à leur surface, nommées PAMPs (*Pathogen Associated Molecular Pattern*). Un PAMP est une molécule indicative, servant de signature à la présence d'un agent pathogène appartenant à une classe donnée. Par exemple, l'on trouve la flagelline des bactéries, les lipopolysaccharides des membranes externes des bactéries à Gram négatif, ou encore la chitine, un composant structurel des parois fongiques (Boller & Felix, 2009). Par ailleurs, la plante peut percevoir une attaque via la reconnaissance de composés dérivés de la dégradation de ses propres constituants par l'agent pathogène, appelés DAMPs (*Damage Associated Molecular Pattern*) ou éliciteurs endogènes. Ces PAMPs/DAMPs sont détectés par l'hôte grâce aux récepteurs de reconnaissance des motifs moléculaires (PRRs pour *Pattern Recognition Receptor*) situés dans la membrane plasmique et caractérisés par un unique domaine transmembranaire (Henry *et al.*, 2012). Cette reconnaissance déclenche une résistance appelée PTI (*PAMP-Triggered Immunity*). Il s'agit du premier niveau de résistance non spécifique induite par les éliciteurs des pathogènes qui activent les PRRs. La progression de l'agent pathogène peut être ralentie voire arrêtée lors de la première phase du modèle Zig-Zag (Figure 10).

Dans la deuxième phase, les agents pathogènes qui ont réussi à franchir cette étape libèrent des effecteurs à l'intérieur des cellules végétales. Ces effecteurs inhibent la PTI (Immunité déclenchée par les PAMP) en perturbant soit la reconnaissance des signaux, soit la transduction du signal, ce qui conduit à une vulnérabilité accrue de la plante, appelée ETS (Susceptibilité déclenchée par les effecteurs).

La troisième phase correspond à la détection spécifique de ces effecteurs par des récepteurs internes à la plante, initiant alors une réponse immunitaire plus ciblée. Ces récepteurs sont notamment des gènes de résistance (gènes R). On parle alors de réponse immunitaire spécifique (ETI : *Effector-Triggered Immunity*). L'immunité déclenchée par l'effecteur (ETI) repose sur le mécanisme dit gène-pour-gène, un modèle élaboré avant le concept d'ETI. Selon ce modèle, développé par Flor (1971), si l'agent pathogène porte un effecteur spécifique reconnu par un gène de résistance (gène R) de la plante, l'agent avirulent et la plante présente une résistance complète. En absence de ce gène R chez l'hôte, l'agent pathogène devient virulent et la plante sensible.

Les phases 4 et 5 du modèle illustrent la coévolution entre la plante et l'agent pathogène, où l'agent modifie ses effecteurs avirulents pour échapper à l'ETI. Cela engendre une nouvelle phase de sensibilité (ETS) chez la plante, suivie de l'évolution des gènes R capables de reconnaître ces nouveaux effecteurs.

Pour affiner ce modèle, Jones et Dangl (2006) ont défini la résistance basale comme étant la défense activée contre un agent pathogène virulent dans une plante sensible, correspondant à la PTI sans ETS et une ETI faible.

En phase 1, la plante détecte les PAMPs (en rouge) via les récepteurs PRRs pour déclencher la PTI.

En phase 2, les pathogènes libèrent des effecteurs qui suppriment la PTI, permettant l'ETS.

En phase 3, un effecteur (en rouge) est reconnu par un gène R, activant ainsi l'ETI.

En phase 4, l'agent pathogène fait évoluer ses facteurs d'avirulence en facteurs de virulence (en bleu) pour contourner l'ETI. Ces derniers ne sont donc plus reconnus, ce qui permet à l'agent pathogène de supprimer l'ETI et d'induire une nouvelle ETS.

En phase 5, l'évolution de la plante engendre l'apparition de nouveaux gènes R capables d'identifier les nouveaux facteurs de virulence, lesquels redeviennent alors des facteurs d'avirulence, permettant ainsi à nouveau l'ETI.

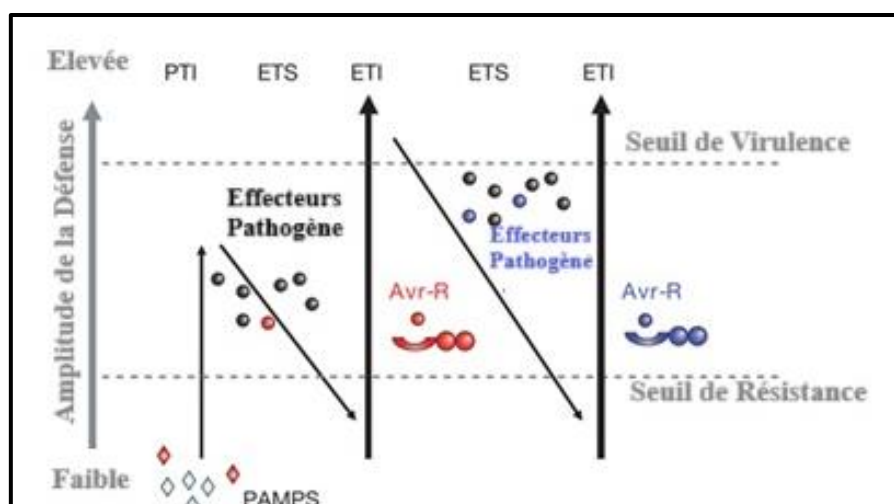


Figure 10 : Modèle en « Zig-Zag » du fonctionnement du système immunitaire d'une plante (Jones & Dangl, 2006).

PTI : PAMP-Triggered Immunity; *ETS* : Effector-Triggered Susceptibility; *ETI* : Effector-Triggered Immunity; *PAMPS* : Pathogen Associated Molecular Pattern; *HR* : haute résistance. Les numéros de 1 à 5 indiquent les différentes phases du modèle

1.4.3.1.3. Relation phénotype et mécanismes moléculaires

La résistance non-hôte est principalement attribuée aux défenses préformées (Health, 2000). Néanmoins, il est également reconnu que cette résistance peut faire intervenir des mécanismes de défense induits, tels que la résistance basale ou la résistance gène-pour-gène (Jones & Dangl, 2006). Ces processus, conduisent à l'activation des réponses défensives de la plante, notamment la réaction d'hypersensibilité (HR) (Uma *et al.*, 2011). En ce qui concerne, la résistance hôte, elle peut mobiliser tous les types de défenses. Ainsi, la résistance complète, résultant d'une interaction incompatible, correspond à la combinaison des défenses préformées, basales et gène-pour gène, ces dernières jouant un rôle central (Vergne, 2007). Ce mode de résistance empêche le développement des maladies. Par ailleurs, dans le cas d'une interaction compatible, la résistance partielle résulte aussi de l'ensemble des défenses préformées, des défenses basales et des défenses issues de la résistance gène-pour gène, mais avec un manque d'efficacité de ces dernières (Tableau V) (Vergne, 2007). Les gènes R ont alors une capacité réduite de reconnaissance des facteurs d'avirulence, aboutissant à une faible activation molécules de défenses. La résistance partielle entraîne néanmoins une diminution de l'infection par l'agent pathogène. En revanche, lorsqu'il y a sensibilité, la résistance basée sur les gènes de type gène-pour-gène est absente ou insuffisante, et les

défenses préformées et basales ne suffisent pas à conférer un phénotype résistant (Schimid-Hempel, 2011). Dans ce cas, l'infection se produit sans nuire à l'agent pathogène.

Tableau V: Interaction entre la résistance et les défenses induites (Vergne, 2007).

		Défenses induites				
		Défenses préformées	Défenses basales	Défense gène-pour-gène		
Phénotypes de résistance	Résistance non-hôte	Type I		+++		
		Type II		+++ ou ++ ou +	+++ ou ++ ou +	+++
	Résistance hôte	Interaction incompatible	Résistance complète	+++ ou ++ ou +	+++ ou ++ ou +	+++
		Interaction compatible	Résistance partielle	+++ ou ++ ou +	+++ ou ++	+
		Sensibilité	++ ou +	++ ou +	Absent	

+++ : Désigne une implication forte des défenses ; ++ : définit une implication moyenne ; + : désigne une implication faible

1.4.3.2. Etapes de déclenchement de défense de la plante

1.4.3.2.1. Reconnaissance de l'agent pathogène

La reconnaissance de l'agent pathogène implique la perception du signal éliciteur. Cette reconnaissance et une réponse rapide de l'hôte peuvent restreindre ou stopper l'invasion, permettant ainsi aux étapes ultérieures de défense de se déclencher. La reconnaissance chez la plante est coordonnée par des récepteurs spécialisés appelés PRRs, qui sont situés dans la membrane plasmique (Henry *et al.*, 2012) et qui déclenchent les réponses de défense de l'hôte après la détection de l'agent pathogène. Les récepteurs PRRs jouent un rôle essentiel dans le système immunitaire des plantes. Leur stratégie consiste à identifier, grâce à un petit nombre restreint de PRRs, une grande diversité d'agents pathogènes (Antolin-Liovera *et al.*, 2012). Les éliciteurs sont des protéines produites directement ou indirectement par le pathogène lui-même, ce qui enclenche une signalisation, et une réaction de défense de la plante contre son agresseur.

1.4.3.2.2. Transduction du signal intracellulaire

En aval de la perception de l'agent pathogène ou de l'éliciteur *via* un récepteur potentiel, se mettent en place des étapes de signalisation intracellulaire extrêmement complexes (Figure

11). Cette cascade de transduction du signal conduisant à la RH est associée à des modifications biochimiques, cellulaires et moléculaires, et fait intervenir, entre-autres, des protéines G (GTP binding protein), des flux ioniques, des cascades de phosphorylation / déphosphorylation, des formes réactives d'oxygène (ROS) et le monoxyde d'azote (NO).

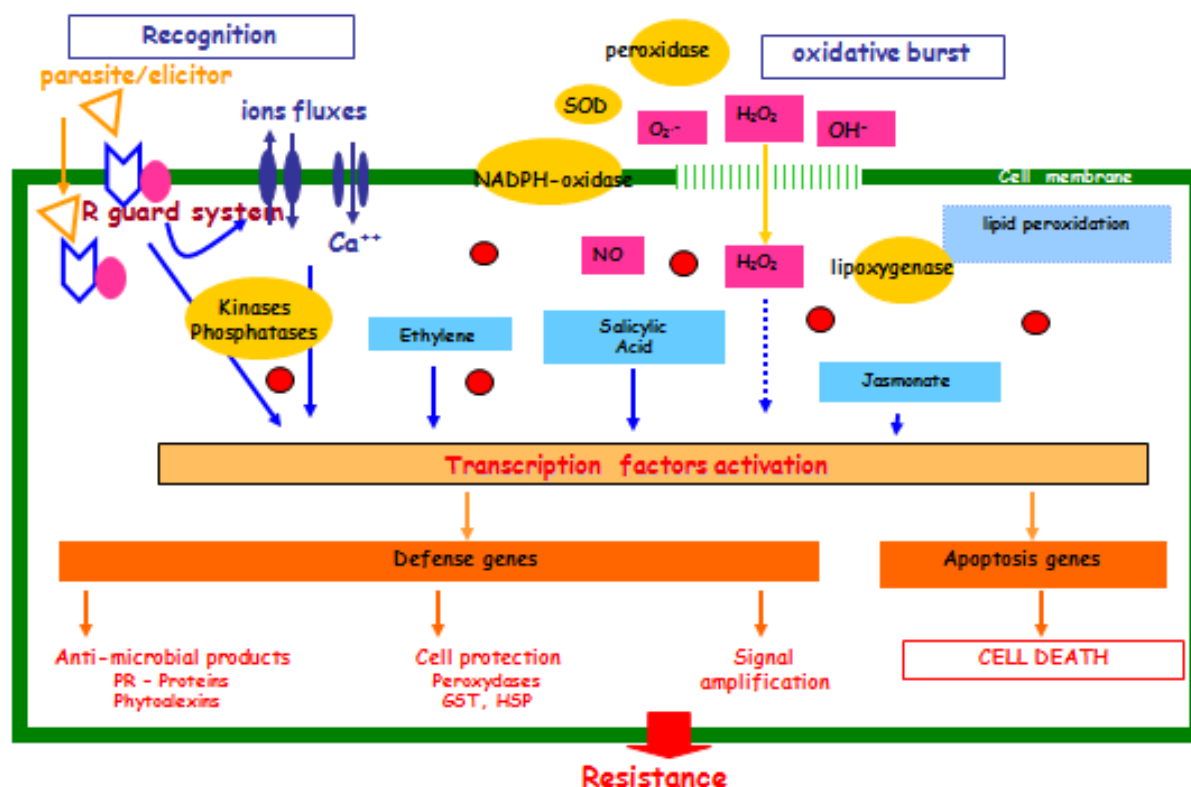


Figure 11: Etapes de signalisation intracellulaire chez les plantes (Antolin-Liovera *et al.*, 2012)

1.4.3.2.3. Déclenchement de la résistance basale

La résistance basale est déclenchée par des récepteurs (protéines ou protéines sentinelles) capables de reconnaître des signaux moléculaires associés aux éliciteurs.

La reconnaissance de ces motifs par la plante peut déclencher une réponse immunitaire primaire visant à limiter l'invasion et retarder l'avancée de l'agent pathogène.

Entre autres mécanismes, il a été observé:

- Le changement dans la paroi cellulaire ; qui se manifeste par l'écoulement et le cumul du cytoplasme dans l'ouverture créée par l'agent pathogène pour le combler.

La cellule initie la réparation de l'ouverture ou de la zone infectée en déposant du callose + protéine + lignine + subérine.

- La modification des flux ioniques ; qui s'explique par le changement de la perméabilité membranaire et le changement de la composition ionique du cytosol qui est l'une des premières réponses enregistrées lors d'une attaque par un agent pathogène.

Ces changements se traduisent par une entrée importante des ions calcium (Ca^{2+}) et des ions hydrogènes (H^+) (alcalinisation du milieu extérieur) et une sortie massive des ions potassium (K^+), chlore (Cl^-) et sodium (Na^+) (acidification du cytoplasme ou milieu intérieur).

- La sécrétion de Gomme, pour la fermeture des plaies et des espaces entre les cellules saines et infectées empêchant donc la pénétration de l'agent pathogène. La gomme contient également des substances nocives pour les agents pathogènes.

- Le renforcement des parois ou la formation des cellules de liège (lignines + tannins) : la plante forme une couche de liège pour faire une barrière entre les tissus sains et les tissus malades ou endommagés.

Cette couche de liège est imperméable à l'eau, aux sels et aux gaz ce qui prévient le développement de l'agent pathogène et provoque donc sa mort. Elle peut être aussi une couche de séparation entre la zone saine et la zone infectée ce qui provoque par la suite la séparation et la chute de cette dernière.

- La formation des tyloses : les tyloses sont des excroissances sur les cellules parenchymateuses des vaisseaux du xylème. Lorsque la plante est infectée, les tyloses ferment les vaisseaux du xylème pour empêcher le développement de l'agent pathogène.

1.4.3.2.4. Déclenchement immunitaire

Pour contourner la défense basale, les agents pathogènes ont développé des protéines effectrices de virulences ou protéine d'avirulence AVR qui sont délivrées dans les cellules hôtes. Ces protéines effectrices de virulences servent à masquer leur présence en interférant avec les voies de défense de la plante. Les plantes ont mis au point des mécanismes leur permettant d'identifier les protéines effectrices et de réagir rapidement et efficacement à l'attaque grâce à un système de défense solide.

Ce deuxième front de défense est appelé l'immunité déclenchée par des protéines effectrices de virulence et régulé par les protéines de défense PR codées par les gènes de résistance (gènes R).

Ces protéines de défense mènent à :

- l'inhibition directe du phytopathogène ou de son confinement au site d'infection.
- la production et l'accumulation du monoxyde d'azote (NO) et des formes réactives de l'oxygène ROS (O_2 , OH et H_2O_2) qui induisent la mort cellulaire et participent à la transmission du signal intercellulaire.
- une mort cellulaire programmée localisée au niveau des tissus infectés.
- la libération des phytohormones comme l'acide salicylique, l'acide jasmonique, l'éthylène aux cellules adjacentes aux sites d'infections conditionnant ainsi une immunisation et une augmentation de la résistance de ces derniers (LAR Local Acquired Resistance) et une immunisation de la plante entière (SAR Systemic Acquired Resistance).

La résistance induite par ce phénomène est durable et sur de nombreuses plantes contre une large gamme de pathogènes, notamment les virus, bactéries, champignons et nématodes. Toutefois, si les défenses activées sont inadéquates, si la plante réagit trop lentement, ou si les voies de défenses sont inactivées, alors l'interaction entre la plante et le micro-organisme devient compatible, permettant la prolifération du pathogène.

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

2.1. SITES DE COLLECTE D'ÉCHANTILLONS

Des prospections ont été réalisées dans 14 chefs-lieux de départements afin d'évaluer le niveau des infestations de la fusariose vasculaire en Côte d'Ivoire, d'août à décembre 2021 dans le bassin cotonnier (Figure 12). Le bassin cotonnier est subdivisé en zones exclusives d'activités des sociétés cotonnières ivoiriennes. Ce sont les zones CIDT, SECO, COIC et Ivoire Coton.

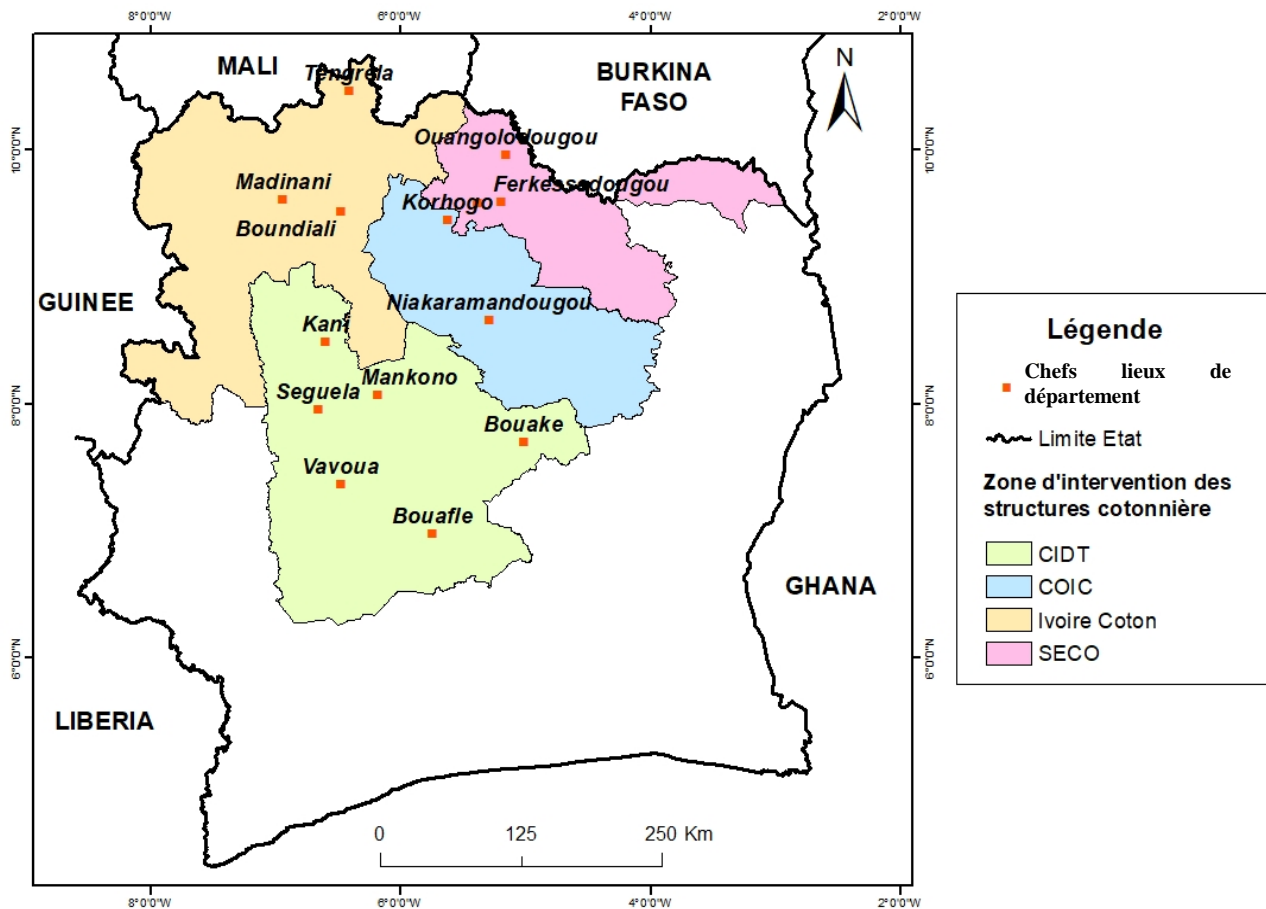


Figure 12: Zone de prospection et de collectes d'échantillons

2.2. MATERIEL

La conduite de cette étude a nécessité l'utilisation de matériels subdivisés en deux catégories : matériel biologique et technique.

2.2.1. Matériel biologique

2.2.1.1. Matériel végétal

Seize (16) variétés de coton ont été utilisées dans cette étude pour réaliser des tests d'inoculations et de génotypage dans le but de les caractériser.

Il s'agit de cinq (5) variétés de coton (CI-123, CI-128, W766 A, Y331 BLT, ISA 205) développées par le Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) appartenant à l'espèce *Gossypium hirsutum* et de onze (11) variétés étrangères : REBA B50 (Burkina Faso), MAC-NAIR 1032 (Etats-Unis), MCU 5 (Inde), PIMA S6 (Etats-Unis) , GIZA 69 (Egypte), ICA 17 (Colombie), ACALA SJ2 (Etats-Unis), ACALA SJ5 (Etats-Unis) , COKER 100 WILT (Cameroun), DIXIE KING III(Etats-Unis) , P279 (Etats-Unis). Ces variétés sont fournies par le Laboratoire de Génétique de la Station de recherche sur le Coton du CNRA de Bouaké sous forme de graines délintées.

2.2.1.2. Matériel fongique

Des isolats de l'agent pathogène, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* ont été utilisés dans les différentes études de caractérisation. Au nombre de 91, ils ont été isolés à partir de plants de cotonniers de différentes parcelles du bassin cotonnier en Côte d'Ivoire, et classés sur la base des caractères morphologiques (Morphotypes), révélés sur milieux de culture.

2.2.2. Matériel technique

2.2.2.1. Matériel de laboratoire

➤ Milieux de culture

Les milieux de cultures sont des substrats classiques d'isolement comme l'Extrait de Malt, Potato Dextrose Agar (PDA) et des milieux de croissance comme le milieu Czapek Dextrose Agar (CDA). Les compositions de ces milieux sont indiquées en **annexe I**.

➤ Produits et matériel d'analyse moléculaire

Le matériel utilisé pour l'extraction de l'ADN fongique est composé d'un mortier en porcelaine qui a servi au broyage des champignons et de divers produits comme : des solutions d'isopropanol, d'éthanol et de tampons.

D'autres matériels spécifiques sont à noter. Il s'agit de micro-centrifugeuse, de micro-tubes de type Eppendorf, de bain-marie (Fisher Scientific Polytests 12) pour l'incubation des produits, de cuves à électrophorèse muni de générateurs, de spectrophotomètre, de fluorimètre, de speed vac, d'équipements de photographie de type BioPrint, etc.

Les laboratoires étaient équipés d'une hotte chimique pour la manipulation des produits volatiles, toxiques et cancérigènes ; d'un congélateur de -20°C et d'un réfrigérateur de 4°C pour la conservation des échantillons et de certains produits.

L'extraction d'ADN végétal a été faite sur billes magnétique Macherey-Nagel, à l'aide du robot KingFisher Duo Prime. Pour les réactions de PCR, un thermocycleur (BioRad T100TM, SINGAPOUR) a été utilisé pour l'amplification de l'ADN; une micro-onde a servi à la préparation du gel d'agarose; une cuve à électrophorèse (Consort EV 245) pour la migration de l'ADN; un transilluminateur à lumière ultra-violet (Clever Scientific Ltd Microdoc) pour la visualisation de l'ADN génomique et les produits PCR après leur migration sur gel d'agarose.

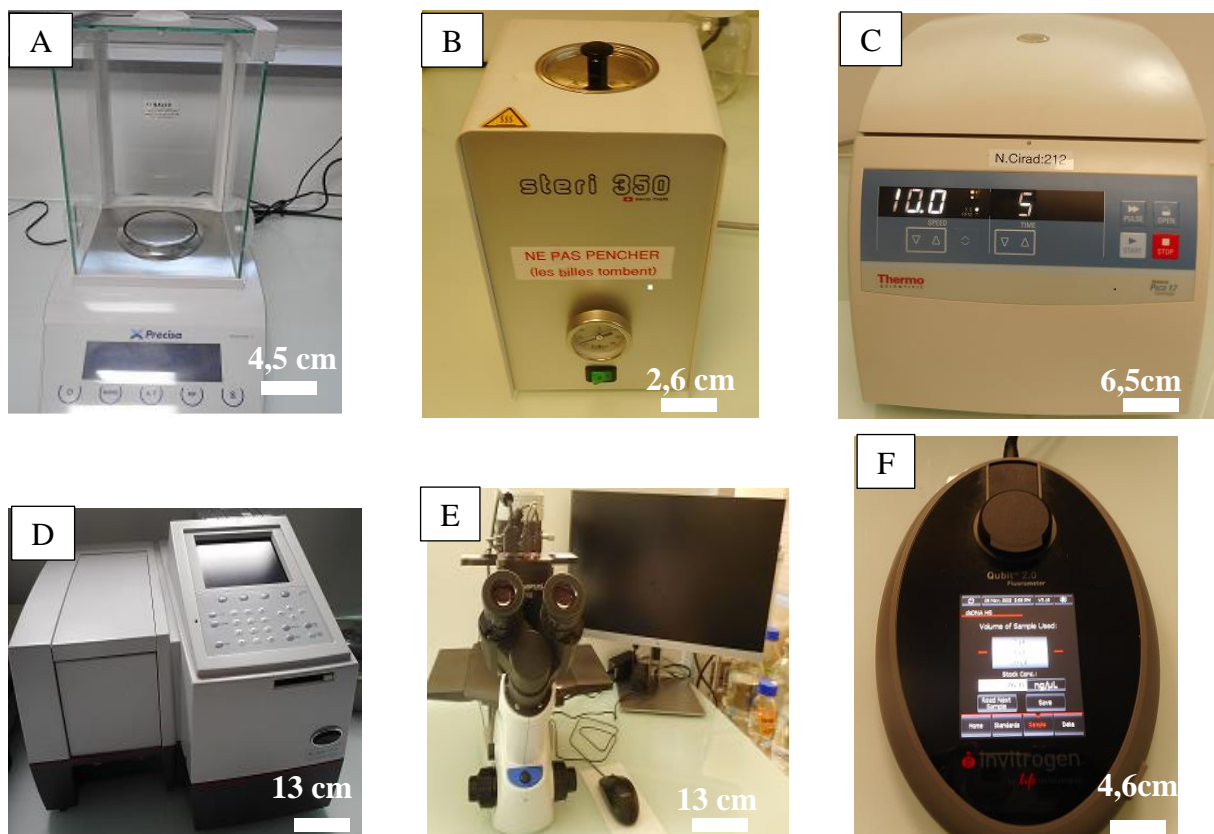


Figure 13: Matériels de laboratoire utilisés

A : Balance de précision ; B : Stérilisateur à bille ; C : Centrifugeuse ; D : Spectrophotomètre ; E : Microscope optique à écran ; F : Fluorimètre

➤ **Enceintes et matériels de culture**

Les enceintes de culture utilisées au cours de ces travaux sont de deux catégories.

La première catégorie est constituée d'enceinte à température variable. Elle regroupe les étuves à températures variables de marque MEMMERT, des enceintes climatiques à températures, à taux humidité et durées d'éclairage variables, de marque FACIS.

La deuxième catégorie est composée de salles climatisées. Les premières ont été utilisées pour les différents tests d'inoculations en conditions contrôlées et les secondes pour la culture des champignons.

Les cultures de plants pour les différentes inoculations ont été faites dans des pots individuels de 500 ml en plastique polyéthylène.

➤ **Matériel de stérilisation**

Les travaux de manipulation de champignons sont faits en conditions aseptiques. Ce qui a nécessité l'usage de matériel de stérilisation, soit sèche (four Pasteur de marque MEMMERT), soit humide (autoclaves, Marque LEQUEUX). La stérilisation de matériel végétal ou du petit matériel de repiquage des champignons s'est faite avec de l'alcool (70°, 90°), de l'hypochlorure de sodium (8° ou 12° chlore) ou avec de l'hypochlorure de calcium (20 %). L'isolement des champignons et leur culture sont faits dans des hôtes à flux laminaire équipées de lampes U.V. (de marque SUPCRIS, FluFrance) et à proximité d'un Bec Bunsen ou d'un stérilisateur à bille.

➤ **Verrerie**

Pour la culture des champignons, diverses verreries ont été utilisées dont les plus importants sont les boîtes de Pétri, les tubes à essai, les filtres en verre fritté, des entonnoirs, des béchers, des fioles d'Erlenmeyer, des pipettes.

➤ **Matériel d'observation**

Il s'agit ici de microscopes photoniques et de loupes (marque ZEISS) pour les observations de champignons au laboratoire.

2.2.2.2. Matériel de terrain

Le matériel de terrain est composé de sécateurs et de ciseaux pour le prélèvement de plants de cotonnier et des sacs de conditionnement et de conservation.

2.3. METHODES

2.3.1. Caractérisation morphologique des souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

2.3.1.1. Prospection et collecte d'échantillons de plants

Des prospections ont été réalisées d'août à décembre 2021 dans des champs, dans tout le bassin cotonnier de Côte d'Ivoire. Durant celles-ci et après avoir effectué le marquage des parcelles de cotonniers, la variété cultivée et la date de semis sont notifiées. Des échantillons de plants présentant des symptômes typiques et spécifiques de cette maladie ont été prélevés.

Ces symptômes sont :

- dessèchement des feuilles de plants de cotonniers,
- flétrissement des feuilles de cotonniers,
- coloration jaunâtre des feuilles de cotonniers,
- présence d'une coloration brune des vaisseaux de racines et tiges de cotonniers.

Afin d'établir la répartition spatiale de la fusariose dans la zone cotonnière, plusieurs échantillons ont été prélevés dans les parcelles prospectées dans les zones de quatre sociétés cotonnières (zone CIDT, zone Ivoire Coton, zone COIC, zone SECO). Le prélèvement des fragments de tiges et de racines de plants malades a été effectué de façon aléatoire à l'aide de sécateurs. Ces prélèvements ont été réalisés, en évitant le contact direct entre les différents échantillons. Chaque échantillon a été mis dans un grand sac en polyéthylène portant des indications relatives à son origine (lieu de prélèvement, date de prélèvement, coordonnées géographiques, variété du cotonnier...).

2.3.1.2. Isolement de l'agent fongique

Des plants de cotonniers malades, c'est-à-dire présentant des brunissements au niveau des vaisseaux de la tige (symptômes caractéristiques de la trachéomyose du cotonnier) sont découpés en petits morceaux. Ces fragments de tige, d'environ 0,5 à 1 cm de long, sont trempés pendant 3 minutes dans un bain d'hypochlorite de sodium (8° Chl) dilué à 15 %, puis dans 3 bains successifs d'eau distillée stérile. Ils sont ensuite déposés aseptiquement sur du milieu PDA (PDA : 20 g, agar bactériologique : 20 g de glucose, 20 g de flocon de pomme de terre, eau distillée : 1000 ml, autoclavage à 121°C pendant 30 min) à raison de 3 fragments /boîte de ϕ 90 mm. Les boîtes de Pétri sont placées à l'abri de la lumière à 25 °C dans une étuve pendant 48 heures.

2.3.1.3. Identification de *Fusarium oxysporum*

La description des caractères morphologiques a été effectuée sur des isolats âgés de 7 jours, cultivés sur milieu PDA, incubés à 25 °C. Ce milieu est classiquement utilisé pour l'identification des champignons (Alaoui *et al.*, 2022).

Cette description a été faite par observation microscopique à l'aide d'un microscope photonique doté d'une caméra intégrée pour la prise de quelques photographies de différents caractères.

Pour se faire, une colonie fongique a été prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile et déposée sur une lame. Après ajout du bleu coton (bleu méthyle), l'échantillon est recouvert d'une lamelle puis observé au microscope optique à l'objectif 40 (G×40) (Chabasse *et al.*, 2002).

L'identification des souches phytopathogènes s'est basée généralement sur l'étude de leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques (Campbell *et al.*, 2013). Les principaux caractères d'identification retenus sont :

- caractères culturaux (couleur, aspect des colonies)
- types d'hyphes (cloisonnée)
- la présence de macroconidies, de microconidies abondantes en fausse tête,
- la présence de chlamydospores terminales ou intercalaires,

2.3.1.4 Caractérisation culturales des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

Cette étape a consisté à réaliser des isolements monospores de l'agent pathogène à partir des échantillons prélevés afin de déterminer les caractéristiques morphologiques, physiologiques et moléculaires de la pathogénicité des isolats fongiques.

2.3.1.4.1. Isolement monospores

Pour la mise en collection des isolats de champignon, en vue de leur usage dans la suite des essais, il est nécessaire d'obtenir des cultures à partir d'une seule spore ou culture monospore (Rapilly, 1968). La technique de dilution a été utilisée à cet effet. Six (6) tubes contenant 900 µl d'eau distillée stérile ont été préparés par isolat. Cinq (5) millilitres d'eau distillée stérile ont été ajoutés à la surface de chaque culture préalablement obtenue sur PDA dans des boîtes de Pétri. La surface des cultures ainsi imbibée est raclée délicatement avec le bout d'un cône de pipette. La suspension de conidies et de fragments de mycélium obtenue est filtrée sur du tissu blanc en mousseline stérilisé.

Le filtrat est ensuite récupéré dans des tubes droits à bouchon. A partir de cette suspension conidienne, des dilutions successives au dixième jusqu'à 10^{-6} sont réalisées. Une quantité de 100 μ l de la dernière dilution est prélevé puisensemencé sur milieu Malt préalablement coulé dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre (13 ml de milieu par boîte) à raison de deux boîtes par dilution.

Après un à deux jours, les conidies unicellulaires, suffisamment individualisées et ayant formé un tube germinatif sont repérées à la loupe et repiquées, à raison d'une colonie par boîte, sur milieu Malt acide antibiotique (250 mg/l d'acide citrique, 50 mg/l chlore tétracycline, 100 mg/l de streptomycine). Trois repiquages successifs sur ce milieu additionné d'antibiotiques permettent d'assurer la pureté de la monospore vis-à-vis des bactéries, celle vis-à-vis des champignons étant assurée par le repiquage monospore.

Quatre-vingt-onze (91) isolats ont ainsi été purifiés et des cultures monospores ont été préparées. Ces isolats, originaires de Côte d'Ivoire, sont mis en collection par repiquage sur milieu PDA. En raison de la variabilité des caractères des isolats de *Fusarium oxysporum* selon l'origine géographique et végétale (Djerbi, 1990), il a été jugé utile de procéder à la caractérisation de 24 isolats de notre collection.

2.3.1.4.2. Evaluation de la croissance des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

L'évaluation de la croissance des isolats choisis s'est faite sur trois milieux de culture, pendant 10 jours. Les isolats préalablement obtenus sur milieu PDA et utilisés pour l'évaluation de la vitesse de croissance du champignon doivent avoir le même âge. Pour cela, ils ont été mis en culture à la même date. Il s'est agi de prélever à l'aide d'une anse stérile, un morceau de colonie mycélienne purifiée, qu'on dépose dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA. Les boîtes de Pétri ont été mises en incubation dans une étuve, à une température de 28 °C et à l'obscurité, pendant 10 jours. Après 10 jours à l'abri de la lumière, un prélèvement des disques mycéliens à la marge de la culture à l'aide d'un emporte-pièce de 4 mm de diamètre a été fait et déposé au centre des boîtes de Pétri stériles (Figure 14), contenant chacun des milieux de culture solides (PDA, CDA, MALT). Sept (7) répétitions sont effectuées pour chaque milieu de culture et pour chaque isolat, (Monowara *et al.*, 2017). Les mesures du diamètre des colonies ont été effectuées chaque jour à l'aide d'une règle graduée suivant deux axes perpendiculaires.

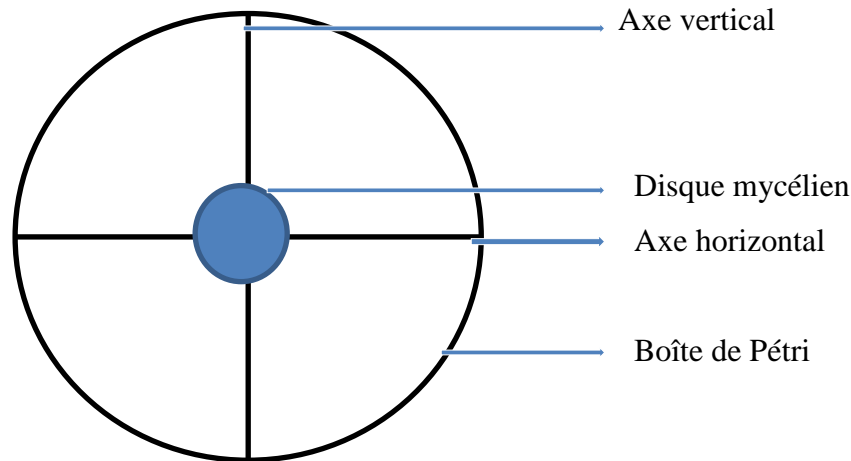


Figure 14: Schéma de mesure du diamètre d'une colonie mycélienne des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

Le diamètre des colonies a été mesuré quotidiennement dans deux directions perpendiculaires au verso des boîtes de Pétri après incubation, puis la croissance radiale a été calculée selon la formule de Sofi *et al.* (2013) :

$$Cr = (C_n - C_{n-1}) \quad (1)$$

Cr : croissance radiale (mm)

C_n : diamètre observé à un jour donné (mm)

C_{n-1} : diamètre par rapport à l'observation précédente (mm)

Des caractéristiques culturales telles que l'aspect du mycélium et la couleur des colonies ont été observées et enregistrées.

2.3.2.1.3. Détermination de la concentration sporale des isolats

La concentration en spores des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* a été déterminée sur des cultures âgées de 10 jours. Dans chaque boîte de Pétri, 5 ml d'eau distillée stérile sont ajoutés, puis la surface des boîtes est raclée à l'aide d'une pipette pasteur. Ensuite, une goutte de ce prélèvement est déposée sur une lame de Malassez.

Le nombre de spores dans chaque milieu de culture est déterminé en les comptant le long des diagonales, cette opération étant répétée trois fois. La concentration en spores des isolats a ensuite été calculée avec la formule suivante (Kouadia *et al.*, 2023):

$$Q = 2n \times 10^6 \quad (2)$$

Q : concentration sporale (spores/ml)

n : moyenne du nombre de spores comptés dans le plus petit carré de la lame.

2.3.2. Caractérisation de la pathogénicité des isolats

2.3.2.1. Evaluation du pouvoir pathogène des isolats

Le test du pouvoir pathogène a concerné 24 isolats monosporés représentatifs de la collection étudiée. La plante hôte est constituée par une variété sensible de cotonnier, la variété W766A. Le test utilisé est celui décrit par Assigbetsé (1988) cité par Abo (2005).

2.3.2.1.1. Préparation de l'inoculum

Les inocula de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* ont été obtenus à partir de cultures sur milieu PDA dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre. Les cultures de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* ont été incubées à l'étuve à 28 °C. Après 10 jours à l'abri de la lumière, la surface chargée de conidies, et immergée avec 5 ml d'eau distillée stérile, a été raclée délicatement à l'aide d'une spatule métallique stérile. La suspension ainsi obtenue a été filtrée à l'aide d'une toile en mousseline afin de séparer les conidies des fragments mycéliens. La concentration du filtrat en conidies a été déterminée à l'aide d'un hématimètre de Malassez et ajusté par dilution à 10^6 conidies /ml.

2.3.2.1.2. Préparation des plants de cotonnier à inoculer

Afin de tester le pouvoir pathogène des isolats, des graines de la variété de cotonnier W766A ont été prégermées puis semées dans des pots de 600 ml perforés à la base et remplis de sol stérile composé de 2/3 de terre humifère de jachère et 1/3 de sable. La croissance des plants a été suivie pendant quatorze (14) jours dans une salle vitrée sur deux de ses faces dont la température est comprise entre 25 et 30 °C et l'humidité entre 70 et 80 %. Les plants âgés de quatorze (14) jours, ont été sélectionnés pour être inoculés.

2.3.2.1.3. Inoculation des plants de cotonnier et évaluation du pouvoir pathogène des isolats

La méthode d'inoculation utilisée est celle dite par trempage, décrite par Abo *et al.* (2005). En effet, les plants de cotonnier ont été arrachés délicatement des pots puis les racines ont été rincées à l'eau distillée stérile. Ensuite, les racines ont été trempées pendant 20 min dans chacune des suspensions conidiennes des différents isolats de *F. oxysporum* f.sp.vasinfestum préparées au préalable. Les jeunes plants ainsi inoculés sont replantés dans les pots. Le dispositif est en quatorze plants-pièges par isolat et un témoin de quatorze plants trempés, dans les mêmes conditions, dans de l'eau distillée stérile. Le test a été répété trois (3) fois dans le temps.

Après quatorze (14) jours, le pouvoir pathogène des isolats inoculés a été évalué sur la base de deux critères que sont: le flétrissement et le rabougrissement dont les notations permettent de calculer des indices.

La notation de l'importance des symptômes foliaires a été faite selon une échelle à quatre (4) niveaux présentée dans le tableau VI.

L'indice de flétrissement (IF) est calculé sur l'ensemble des cotonniers inoculés et témoins en tenant compte de la gravité des symptômes sur chaque feuille. Il est obtenu à partir de la formule suivante (Abo *et al.* 2005) :

$$IF = \frac{30N_2 + 50N_3 + 100N_4}{N_1 + N_2 + N_3 + N_4} \quad (3)$$

IF (Indice de flétrissement) est une valeur comprise entre 0 et 100. Elle est très élevée et proche de 100, pour des souches très agressives ou quand la variété de cotonnier est très sensible.

L'indice de rabougrissement (IR) est calculé pour montrer d'éventuels déficits de croissance des cotonniers infestés, par rapport aux témoins non inoculés. Il est obtenu par la formule suivante (Abo *et al.* 2005) :

$$IR = \frac{(M - X) \times 100}{M} \quad (4)$$

M = croissance moyen du premier entre-nœud des témoins

X = accroissement du premier entre-nœud des plantes inoculées.

A la fin de chaque série d'observations des symptômes extérieurs, les tiges des plantes sont disséquées afin d'observer la présence d'éventuels brunissements au niveau des vaisseaux du bois, symptôme le plus caractéristique de la fusariose.

Tableau VI: Echelle de notation des symptômes foliaires de la fusariose

Niveaux de l'échelle	Appréciation
N1	Nombre de feuilles saines
N2	Nombre de feuilles présentant des symptômes légers (moins de 1/3 de limbe atteint)
N3	Nombre de feuilles présentant des symptômes graves (plus de 1/3 de limbe atteint)
N4	Nombre de feuilles nécrosées ou mortes

2.3.2.2. Détection des gènes de virulence

Le diagnostic du niveau de virulence des isolats de *Fov* a été possible grâce à des effecteurs de la famille des gènes SIX «Secreted in Xylem», dont certains ont été montrés comme intervenant dans la pathogénicité des souches vis-à-vis de leur hôte. Il semble donc intéressant d'initier un travail visant à déterminer la variabilité moléculaire au sein de ces gènes dans l'espèce *Fov*. Il s'agit des couples d'amorce SIX1_F/ SIX1_R et SIX9_F / SIX9_R (Tableau VIII). Ces amorces permettent d'identifier des souches virulentes.

2.3.2.2.1. Extraction d'ADN des isolats fongiques

Le protocole d'extraction utilisé est celui de phénol-chloroform. Les isolats ont été mis en culture dans des boîtes de Pétri sur milieu PDA pendant cinq jours à 25 °C dans une étuve ; le mycélium est récolté à l'aide d'une anse stérile et conservé dans des cryotubes de 2 mL à -20 °C pendant 24 h. Pour chaque échantillon, 100 g de mycélium est raclé et broyé dans un mortier stérile dans 500 µL de tampon CTAB 2 %. Ce broyat a été transvasé dans un tube Eppendorf de 1,5 mL identifié au numéro de l'échantillon, ensuite 20 µL de protéinase (k) ont été ajoutés pour la digestion des protéines. Les tubes ont été incubés à 65 °C au bain-marie pendant 30 minutes.

Après incubation, un volume égal de la composition Phénol Chloroforme alcool-isoamyl a été ajouté à des proportions 25 : 24 : 1, soit 250 μ L de phénol, 240 μ L de Chloroforme et 10 μ L d'alcool-isoamyl.

Cette action est menée sous une hotte chimique du fait du caractère polluant des produits. Les tubes ont été agités par inversion jusqu'à homogénéisation de la solution puis centrifugés à 12000 tours/mn pendant 20 min. Après centrifugation, le surnageant est récupéré dans un nouveau tube auquel est ajouté 500 μ L de chloroforme alcoolisoamylique (24 :1 ; 480 μ L et 20 μ L). Les tubes ont été agités une fois de plus par inversion et centrifugés à 12000 tours/mn pendant 10 min. A cela, il est ajouté 300 μ L d'acétate de Sodium (3M) et un volume de 500 μ L d'isopropanol préalablement conservé au congélateur à -20 °C pour précipiter l'ADN. Les tubes sont agités délicatement par inversion et conservés au congélateur à -20 °C pendant au moins 1h. Après une centrifugation à 12000 tours/mn pendant 15 min, le surnageant est versé et le culot obtenu est lavé avec 500 μ L d'éthanol à 70 %. Après cette étape, une centrifugation de 12000 tours/mn a été effectuée pendant 5min ; le surnageant est éliminé, puis l'ADN est séché à l'air libre pendant 8h. L'ADN est alors suspendu dans du tampon d'élution (TE) préparé à partir du Tris (50 mM) et de l'EDTA (50 mM) puis conservé à -20°C pour la suite des analyses (**Annexe II**). Ces extraits d'ADN obtenus ont servi à la détection moléculaire des gènes impliqués dans la pathogénicité (gène SIX) et à l'étude de la diversité génétique de la collection d'isolats de Fov.

2.3.2.2.2. Préparation du gel d'agarose 1,5 %

Le gel d'agarose est préparé à partir de poudre d'agarose et de tampon TAE 1X (45 mM Trisborate ; 1.0 mM EDTA). Une quantité de 1,5 g d'agarose est pesée et renversée dans un erlenmeyer, auquel 100 ml du tampon TAE (1X) sont ajoutés et le mélange est porté à ébullition dans un four micro-onde réglée à 180 W/seconde. Trente (30) à quarante (40) secondes après, lorsque le milieu devient incolore, il est retiré et porté à refroidissement. Une fois à 60 °C, 8 μ L de gel Red est ajouté à la solution. Le gel Red est un agent chimique qui s'intercale entre les bases azotées permettant ainsi de visualiser l'ADN à travers la fluorescence de la lumière UV du transilluminateur. La solution est coulée après homogénéisation, dans des cuves à électrophorèse munies de peignes dont les dents servent à former les puits du gel. Après refroidissement, le gel se solidifie et prêt à être utilisé pour les électrophorèses.

2.3.2.2.3. Détermination de la quantité et de la qualité de l'ADN

Des tests de contrôle ont été réalisés afin de déterminer la concentration et de la qualité des ADN extraits. Ainsi, la qualité de l'ADN extrait a été quantifiée par lecture à 260 nm et vérifiée par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1 % soumis à une tension électrique de 100 volts. A cet effet, 5 µL d'extrait d'ADN ajouté à 3 µL de tampon de charge ont été mélangés puis soumises à la migration électrophorétique. Après 35 minutes de migration, le gel de migration a été placé sous un transilluminateur à rayon Ultraviolet (UV) pour la révélation de l'ADN génomique. Par ailleurs, l'extrait d'ADN a été quantifié au spectrophotomètre d'absorption à 260 nm. Lorsque les expérimentations ont nécessité une quantification plus précise de la concentration en ADN, les ADN ont été dosés au fluorimètre à l'aide du kit Invitrogen™ Qubit® Assays et conservés à 4 °C.

2.3.2.2.4. Réalisation de la PCR

Le mix pour la PCR était préparé dans un volume total de 25 µL. Ce mix était composé de 1,3 µL de chaque amorce (sens et antisens) à une concentration de 10 pmol/µL, 2,5 µL de tampon MgCl₂ de concentration 1x (Qiagen), 1,6 µL de désoxyribonucléotidetriphosphates (dNTPs, 200 µM), 0,1 µL de *Taq* polymérase, 15,2 µl d'eau ultra pure et 3 µL d'ADN génomique concentré à 2 ng/µL.

Les conditions d'amplification étaient les suivantes : une dénaturation initiale de 5 minutes à 94 °C, 30 cycles composés d'une dénaturation de 35 secondes à 94 °C, une hybridation de 35 secondes à 58 °C et une élongation d'une minute à 72 °C. L'amplification se termine par une élongation finale de 7 min à 72 °C. Pour chacune des réactions de PCR, un témoin négatif d'amplification est préparé avec de l'eau ultra pure stérile.

Tableau VII : Séquences des amorces utilisées pour le diagnostic racial des isolats de Fov

Amorces	Séquence des amorces (sens et anti-sens)	TA (pb)
SIX1 P12	5'GTACCCTCCGGATTTTGAGC3' 5'AATAGAGCCTGCAAAGCATG3'	450
SIX9_Foc	5'ATCGCTGAAGCCCAGAACAA 3' 5'TTCTGTCCGTCGATCGTTCC 3'	260

TA : tailles d'allèles ; pb : paire de bases

2.3.2.2.5. Electrophorèse et visualisation des produits d'amplification

Après chaque amplification, les produits PCR étaient soumis à une migration par électrophorèse sur gel d'agarose à 3 % en tampon TBE 1X à 100 volts. Pour ce faire, 7 µL de chaque produit PCR était mélangé à 3 µL de bleu de charge avant d'être déposé dans l'un des puits. Le marqueur de taille de 100 paires de bases (Quick-load® 2-log DNA) a été utilisé comme référence pour mesurer la taille des amplicons obtenus.

Après l'électrophorèse, les gels de migration ont été placés dans le transilluminateur photographique à lumière ultraviolet (UV) pour la révélation des fragments des ADN amplifiés. Grâce au gel Red incorporé au gel d'agarose, ceux-ci étaient visualisés à partir de la fluorescence de la lumière UV du transilluminateur. Les tailles des bandes obtenues ont été déterminées à partir des différentes tailles présentées par le marqueur de poids moléculaire. Les résultats de chaque PCR étaient validés lorsque les empreintes génomiques observées sur l'écran du transilluminateur correspondaient à la taille attendue pour chaque marqueur. Par ailleurs, pour le diagnostic de virulence, les échantillons pour lesquels la taille de la bande correspondait à la taille attendue sont qualifiés de positifs pour le gène étudié. Les échantillons pour lesquels il n'y avait pas de bandes sont considérés comme étant négatifs. Aussi, les résultats ont été validés lorsque le témoin négatif (ne contenant pas d'ADN) est avéré.

2.3.2.3. Analyse de données sur la pathogénicité des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

Les données obtenues de cet objectif spécifique ont été saisies sous un tableur Excel 2016. Les statistiques descriptives (diagrammes et camemberts) ont été réalisées avec ce tableur. Les données brutes recueillies au cours de cette étude ont été analysées à l'aide du logiciel R version 3.6.2. En effet, une analyse des variances (ANOVA) à un facteur a été réalisée sur l'ensemble des paramètres étudiés. Lorsqu'une différence significative est observée entre les moyennes ($p < 0,05$), un test post ANOVA Least Significant Difference (LSD) de Fisher au seuil de 5 % a été réalisé pour comparer les moyennes des différents paramètres de chaque isolat afin d'en déterminer celles qui sont significativement différentes. Toutefois, les données obtenues au cours de la caractérisation des isolats ont fait l'objet d'une estimation des degrés d'association entre les différents paramètres étudiés par le coefficient de Pearson. Ces données ont aussi fait l'objet de deux analyses multivariées : l'analyse en composantes principales (ACP) et la classification ascendante hiérarchique (CAH).

L'ACP consiste à rassembler les variables les plus fortement corrélées entre elles en un nombre restreint de variables synthétiques indépendantes. Ces nouvelles variables déterminent les axes principaux. Chaque axe est caractérisé par sa valeur propre et son pourcentage de variance expliquée (Palm, 1996).

La CAH a été utilisée pour mettre en évidence et classer des groupes homogènes de pathogénicité des isolats de Fov. Son principe est d'agréger de manière successive des objets qui ont un degré de similarité suffisant pour être réunis en une même classe. La classification a été effectuée en utilisant, comme critère d'agglomération, la méthode de Ward (1963) et la distance euclidienne comme mesure de similarité.

Concernant la distribution des gènes SIX dans les isolats de Fov, l'occurrence d'un facteur génétique ou d'un gène est la présence ou l'absence de ce facteur dans un échantillon donné. Le pourcentage d'occurrence (F) des gènes de virulence a été calculé afin de mettre en évidence les effecteurs SIX qui sont impliqués dans la pathogénicité des isolats de Fov. Il convient donc d'énumérer le nombre d'isolats (n_i) contenant le gène i détecté et le nombre d'échantillons considérés (N_t). La formule du pourcentage d'occurrence est la suivante :

$$F \% = \frac{n_i}{N_t} \times 100 \quad (5)$$

Un graphe de type BubblePlot a été réalisé en utilisant le logiciel R version 3.6.2 pour mettre en évidence la distribution de ces gènes.

2.3.3. Evaluation de la diversité génétique des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

2.3.3.1. Amplification de l'ADN par PCR

Afin de mettre en évidence la diversité et la structuration génétique des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, des marqueurs microsatellites ont été utilisés. Il s'agit des couples MB_2F/MB_2R, MB_5F/MB_5R, MB_11F/MB_11R, MB_13F/MB_13R, MB_17F/MB_17R. Les caractéristiques de ces marqueurs sont consignées dans le tableau VIII.

Les réactions PCR ont eu lieu dans un volume final de 25 μ L.

Ce volume était composé de 1,3 µL de chaque amorce (F et R) à une concentration de 10 pmol/µL, 2,5 µL de tampon MgCl₂ de concentration 1x (Qiagen), 1,6 µL de désoxyribonucléotidetriphosphates (dNTPs, 200 µM), 0,1 µL de *Taq* polymérase (Qiagen), 15,2 µL d'eau ultra pure et 3 µL d'ADN génomique de concentration 2,5 ng/ µL.

Les conditions d'amplification étaient les suivantes : une dénaturation initiale de 5 minutes à 94 °C, 30 cycles composés d'une dénaturation de 35 secondes à 94 °C, une hybridation de 35 secondes à 58 °C et une élongation d'une minute à 72 °C. L'amplification se termine par une élongation finale de 7 min à 72 °C.

Tableau VIII : Séquences des amorces utilisées pour le génotypage des isolats de Fov collectés

Amorces	Séquence des amorces (sens et anti-sens)	TA (pb)	Références
MB_2	5'TGCTGTGTATGGATGGATGG 3' 5'CATGGTCGATAGCTTGTCTCAG 3'	Variables	Bogale <i>et al.</i> ,2005
MB_5	5'AGAAACAAGAACCCCATATCGC 3' 5'ACTTAAACAGGAAAGGGACGGA 3'	Variables	Bogale <i>et al.</i> ,2005
MB_11	5'GTGGACGAACACCTGCATC3' 5'AGATCCTCCACCTCCACCTC 3'	Variables	Bogale <i>et al.</i> ,2005
MB_13	5'GGAGGATGAGCACGATGAAG 3' 5'CTAAGCCTGCTACACCCTCG 3'	Variables	Bogale <i>et al.</i> ,2005
MB_17	5'ACTGATTCACCGATCCTTGG 3' 5'GCTGGCCTGACTTGTTCATCG 3'	Variables	Bogale <i>et al.</i> ,2005

TA : tailles d'allèles ; pb : paire de bases

2.3.3.2. Electrophorèse des produits PCR

Les produits amplifiés ont fait l'objet d'une électrophorèse sur un gel d'agarose 3 % (3 g d'agarose pour 100 mL de tampon TBE (1 X) auquel ont été ajoutés 8 µL de gel Red. Cette technique repose sur la séparation des fragments d'ADN en fonction de leur taille sous l'action d'une tension électrique. Pour ce faire, 7 µL de chaque produit PCR et 3µL de tampon de charge 1X (Promega, USA) ont été homogénéisés. Les mélanges ainsi obtenus ont été déposés dans chaque puits du gel à l'aide d'une micropipette ajustable. Parallèlement aux échantillons à tester, 2,5 µL d'un marqueur de poids moléculaire de 100 paires de bases (Quick-load® 2-log DNA) a été déposé dans un puits de chaque gel. La migration a ensuite été réalisée sous une tension électrique de 100 volts pendant 45 minutes dans le tampon TBE (1 X) ayant servi à la préparation du gel.

2.3.3.3. Révélation des fragments d'ADN amplifiés

Les fragments des ADN amplifiés ont été révélés dans le transilluminateur photographique à lumière ultraviolet (UV). Grâce au gel Red incorporé au gel d'agarose, ceux-ci étaient visualisés à partir de la fluorescence de la lumière UV du transilluminateur.

Les tailles des bandes obtenues ont été déterminées à partir du marqueur de taille. Les résultats de chaque PCR étaient validés lorsque le puits du témoin négatif ne présentait aucune bande.

2.3.3.4. Analyse des données pour l'étude de la diversité génétique des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

Les échantillons collectés dans le bassin cotonnier ont été subdivisés en deux populations. Les isolats de la station de recherche et de la zone CIDT constituent la première population et ceux collectés en zones SECO, Ivoire Coton et COIC sont considérés comme la deuxième population.

La diversité génétique a été évaluée à deux échelles en utilisant la loi de Hardy-Weinberg qui mesure l'équilibre des populations. Il s'agit de la diversité génétique intrapopulation et de la diversité génétique interpopulation. Le modèle utilisé suggère que chaque population est idéale, c'est à dire de taille infinie, sans aucune mutation ou force évolutive sur le génome des individus, sans migration, ni sélection, avec une reproduction sexuée et une rencontre au hasard des gamètes (panmixie) et sans chevauchement entre les différentes générations. Ce modèle est basé sur la disparité entre les génotypes observés et les génotypes attendus. Les paramètres mis en évidence ont été estimés pour chaque locus et la moyenne a été prise sur l'ensemble des loci. Le logiciel utilisé pour l'estimation de ces paramètres était le logiciel GenAlex version 6.5. Le logiciel FreeNa a servi à construire la matrice de distance tandis que le logiciel MEGA X a servi à la construction du phylographe. Le logiciel CREATE a également permis de mettre en forme les fichiers pour ces différents logiciels.

2.3.3.4.1. Diversité génétique intrapopulation

Plusieurs paramètres ont été utilisés pour évaluer la diversité génétique intrapopulation. Il s'agit du nombre moyen d'allèles par locus (N_a), le taux de polymorphisme (P), nombre efficace d'allèles (N_e), le taux moyen d'hétérozygotie observée (H_o), le taux moyen d'hétérozygotie attendue (H_e), l'indice de diversité de Shannon (I) et l'indice de fixation F_{IS} .

Les fréquences alléliques et le nombre d'allèles rares définis comme ceux ayant une fréquence inférieure à 0,05 ont également été calculés.

✓ **Nombre moyen d'allèle par locus (Na) et le nombre efficace d'allèles (Ne)**

D'une part, l'autre mesure de la variabilité est le nombre moyen d'allèles par locus (*Na*) :

$$Na = \sum \frac{a}{l} \quad (6)$$

Avec :

A : nombre total d'allèles

l : le nombre de loci étudiés.

Lorsque *a* est strictement supérieure à 2 ($a > 2$), on dit qu'il y'a une richesse allélique.

D'autre part, pour déterminer la fréquence de ces allèles, pour un locus et un taux d'hétérozygotie donnés, on définit le nombre d'allèles efficaces (*Ne*), maintenus dans une population d'effectif *N*, comme le nombre théorique d'allèles possibles dans une population de même taille et de même hétérozygotie à l'état stationnaire, mais dans laquelle tous ces allèles auraient la même fréquence (Kimura & Crow, 1964).

Pour un locus *i* à *k* allèles *A1*, *A2*, ...*Ak* de fréquences *p1* , *p2* , .. *pk*, le nombre efficace d'allèles est :

$$Ne = \frac{1}{\sum pi^2} \quad (7)$$

$\sum pi^2$: somme des fréquences au carré

Si les fréquences des formes alléliques sont toutes égales, le nombre efficace d'allèles est égal au nombre total d'allèles. Dans une situation de consanguinité, les fréquences vont se déséquilibrer, un allèle étant favorisé par le hasard au détriment d'autres. Le nombre efficace d'allèles est alors inférieur au nombre réel.

✓ **Taux de loci polymorphes (P)**

Il s'agit du nombre de locus polymorphes par rapport au nombre total de locus étudiés. Une population est dite polymorphe à un locus si la fréquence de l'allèle le plus commun à ce locus est inférieure à un seuil arbitrairement choisi, généralement 0,99 ou 0,95. Ce seuil est le plus souvent en relation avec la taille de l'échantillon. Ainsi pour une population dont la taille est supérieure ou égale à 100, le seuil de 0,99 peut être utilisé.

L'utilité de ce paramètre dépend du nombre de loci analysés. P n'est pas informatif lorsque peu de loci sont analysés (Berg & Hamrick 1997). Aussi, P est fonction de la taille de l'échantillon analysé, les allèles aux faibles fréquences pouvant être observées dans des échantillons de grande taille.

De ce fait, ce paramètre n'est pas un bon indicateur de la variabilité allélique (Nei, 1987). Sa formule est la suivante :

$$P = \frac{b}{L} \times 100 \quad (8)$$

Avec :

b : nombre de locus polymorphe

L : nombre de loci étudiés

✓ Taux d'hétérozygotie observée (Ho) et attendue (He)

Un individu est dit hétérozygote pour un gène si les deux allèles du gène sont différents. L'hétérozygotie décrit donc une situation génotypique où un gène présente des allèles différents (Nei, 1978). Cet auteur a proposé deux types d'hétérozygotie. Il s'agit de l'hétérozygotie observée (Ho) et l'hétérozygotie attendue (He). L'hétérozygotie observée (Ho) peut être calculée à partir de la fréquence mesurée des hétérozygotes :

$$h_o = \frac{\text{nombre d'individu hétérozygote pour un locus}}{\text{nombre total d'individu analysés pour le locus}} \quad (9)$$

Pour L loci analysés dans une population, l'hétérozygotie moyenne observée (Ho) se calcule par la formule suivante :

$$H_o = \frac{1}{L} \sum_{i=1}^L h_{oi} \quad (10)$$

Avec :

L : nombre total de loci étudié

h_{oi} : hétérozygotie observé au locus i

De même, dans une population panmictique, la fréquence attendue des hétérozygotes à un locus (he) peut être calculée à partir des fréquences alléliques. S'il y a n allèles avec les fréquences $p_1, p_2, p_3, \dots, p_n$, la fréquence attendue des hétérozygotes sera :

$$he = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \quad (11)$$

Si plusieurs loci sont considérés, l'hétérozygotie moyenne attendue (He), (représentant la moyenne du taux d'individus hétérozygotes par population) sera la moyenne arithmétique de toutes les valeurs de he :

$$He = \frac{1}{L} \sum_{k=1}^L he \quad (12)$$

✓ **Indice de diversité de Shannon (I)**

L'indice de Shannon permet de mesurer la diversité spécifique des populations. Plus il est grand, plus les populations sont hétérogènes. Il se calcule par la formule :

$$I = - \sum_{i=1}^s p_i \log p_i \quad (13)$$

I : indice de Shannon ; i : allèle ; S = richesse allélique ; P_i : Proportion d'allèle i par rapport au nombre total d'individu (S) dans le milieu d'étude ou richesse allélique du milieu.

✓ **Indice de fixation**

L'indice de fixation ou coefficient de consanguinité F_{IS} est l'écart à la structure de Hardy-Weinberg ou encore l'écart à la panmixie. Il permet de quantifier les écarts entre l'hétérozygotie observée et celle attendue.

Autrement dit, il permet de mesurer la réduction éventuelle de l'hétérozygotie des individus à l'intérieur de leur sous-population. Le F_{IS} se calcule selon la formule suivante :

$$F_{IS} = \frac{He - Ho}{He} \quad (14)$$

Lorsque le F_{IS} est positif ($F_{IS} > 0$), il traduit un déficit en hétérozygotie, c'est-à-dire que l'hétérozygotie observée est inférieure à l'hétérozygotie attendue.

Lorsqu'il est égal à zéro ($F_{IS} = 0$), on dit que les sous-populations sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg. L'hétérozygotie observée est égale à l'hétérozygotie attendue.

S'il est négatif ($F_{IS} < 0$), la population considérée présente un excès d'hétérozygotie.

2.3.3.4.2. Diversité génétique interpopulation

La méthode d'analyse des données la plus utilisée est celle développée par Wright (1965, 1978) afin d'estimer la variance standardisée comme l'indice d'hétérogénéité des fréquences alléliques entre les sous populations. Elles permettent de décrire la répartition de la variabilité génétique entre et au sein des populations. Trois paramètres ont été utilisés pour l'évaluation de la différenciation entre populations :

F_{ST} (indice de fixation), F_{IT} (déviations des fréquences génotypiques) et Nm (nombre moyen de migrants effectifs par génération).

✓ Coefficient de différenciation (F_{ST})

Wright (1978) a défini le F_{ST} (indice de fixation) comme la réduction de l'hétérozygotie de l'ensemble de toutes les populations due à la différenciation (à la subdivision) des populations individuelles. Ce déficit en hétérozygotes est souvent attribué à la dérive génétique et/ou à un flux de gènes limités. Ce paramètre mesure le niveau de différenciation génétique entre les sous populations. Il se calcule par la formule suivante :

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T} = 1 - \frac{H_S}{H_T} \quad (15)$$

H_S : hétérozygotie moyenne attendue au niveau sous population

H_T : hétérozygotie moyenne attendue au niveau population totale

D'après Wright (1978) :

- $F_{ST} = 0$: Pas de différenciation génétique entre les sous-populations
- $0 < F_{ST} < 0,05$: différenciation faible
- $0,05 < F_{ST} < 0,15$: différenciation modérée
- $0,15 < F_{ST} < 0,25$: différenciation importante
- $F_{ST} > 0,25$: différenciation très importante

✓ Déviation des fréquences génotypiques

Le F_{IT} mesure la déviation génotypique par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg sur l'ensemble de toutes les populations. Les F-statistiques de Wright permettent ainsi de connaître la structure génétique d'une espèce grâce à l'estimation de la fixation des allèles dans l'ensemble des populations (F_{IT}) et à l'intérieur des sous-populations (F_{IS}) et aussi grâce à la différenciation génétique entre les sous-populations (F_{ST}).

$$F_{IT} = 1 - (1 - F_{ST})(1 - F_{ST}) \quad (16)$$

Le paramètre F_{ST} est souvent remplacé par un paramètre analogue, le G_{ST} (Nei, 1973), défini par la formule :

$$G_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T} \quad (17)$$

H_S la diversité génétique moyenne intra-population

H_T , la diversité génétique sur l'ensemble des populations considérées comme une seule population (diversité totale).

Lorsqu'il s'agit de plusieurs loci, H_S et H_T deviennent les moyennes (sur l'ensemble des loci) des diversités précédentes.

La fraction ($H_T - H_S$) est parfois remplacée par D_{ST} (distance génétique entre les populations). Ainsi:

$$G_{ST} = \frac{D_{ST}}{H_T} \quad (18)$$

La diversité totale peut être subdivisée en une composante intra-population (H_S) et interpopulation. Le G_{ST} représente la part (%) de la diversité interpopulation par rapport à la diversité totale.

2.3.3.4.3. Analyse moléculaire de variance

L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) a été réalisée pour estimer la distribution de la variation génétique entre et au sein des différentes populations de Fov afin de déterminer l'origine de la variabilité génétique estimée (Sheng *et al.*, 2005). Les paramètres mis en évidence sont les F_{ST} , F_{IS} et F_{IT} . Cette analyse a été réalisée avec le logiciel GenAlex 6.5.

2.3.3.4.4. Structuration génétique de la population de *Fusarium oxysporum* étudiée

Le regroupement génétique des génotypes de Fov collectés dans le bassin cotonnier ivoirien a été réalisé à partir de dendrogrammes en se basant sur les liens génétiques entre ceux-ci selon la méthode du *Neighbour Joining* basée sur les matrices de dissimilarité entre les individus avec 1000 répétitions.

Ces matrices, qui regroupent les individus suivant les distances génétiques qui les séparent, ont été générées en utilisant les données moléculaires, à l'aide du logiciel GenAlex 6.5 et les arbres ont été générés à partir du logiciel MEGA X.

2.3.4. Identification de marqueurs génétique de résistance du cotonnier à la fusariose

2.3.4.1. Phénotypage de quelques variétés de coton

Sept (7) variétés de cotonnier à savoir Y331 BLT, CI 123, CI 128, MCU5, W766A, Reba B50 et Mac-Nair 1032 ont été utilisées. Les isolats utilisés pour ce test sont les isolats AM 47 et AM 16, après évaluation de leur niveau de virulence.

Les mêmes opérations de préparation d'inoculum, de préparation de jeunes plants de cotonnier, de réalisation d'inoculation, de critères d'évaluation ont été reconduites et dans les mêmes conditions que dans le test du pouvoir pathogène déjà décrit (Paragraphe.2.3.2.1).

2.3.4.2. Génotypage d'un panel de variétés de cotonnier à l'aide des marqueurs moléculaires

2.3.4.2.1. Extraction et quantification d'ADN végétal

Les ADN génomique de 16 variétés de cotonnier (Y331 BLT, CI 123, CI 128, MCU5, W766A, Reba B50, Mac-Nair 1032, ACALA SJ-2, IAC 17, ACALA SJ-5, COKER 100 WILT, DIXIE KING III, PIMA S6, ISA 205, GIZA 69 et P 279) ont été extraits sur billes magnétiques Macherey-Nagel à l'aide d'un automate de type KingFisher Duo Prime suivant un protocole suivi par la plateforme de Génotypage de l'UMR Agap du Cirad Montpellier. Ce protocole permet d'isoler rapidement et de manière fiable des acides nucléiques de haute qualité à partir d'une large gamme de matériel biologique. Après extraction les ADN sont quantifiés par fluorimétrie sur un fluorimètre de type Qubit de marque Thermo Fisher Scientific à l'aide du Qubit® dsDNA HS Assay Kits, selon les recommandations du fournisseur. La pureté de tous les ADN est évaluée à l'aide des rapports A260/A280 et A260/A230 par spectroscopie UV (Nanodrop).

2.3.4.2.2. Marqueurs microsatellites utilisés

Des marqueurs microsatellites (Tableau IX), associés à la résistance à la fusariose du cotonnier chez différentes sources de résistance ont été utilisés pour le génotypage.

Le génotypage a été réalisé après amplification par PCR avec des amorces. Les sondes marquées aux extrémités par des fluorochromes émettent des fréquences après action de polymérisation lors de la PCR. (Tableau IX).

Les réactions de PCR sont réalisées dans un thermocycleur Applied Biosystems. Chaque échantillon de PCR est constitué d'un mélange de Mix avec un volume final de 10 µl : contenant un mélange optimisé de 1,0 X de tampon standard NEB (buffer) ; 0,5mM MgCl₂ FirePol ; 200 µM dNTP ; 0,16 µM Am1-M13 ; 0,20 µM de Am2; 0,20 µM M13 marqué ; 0,06 U/µl Taq DNA Polymerase NEB M0273L, et 25 ng de ADN.

Les thermocycles utilisés sont basés sur les conditions générales suivantes : une étape de dénaturation initiale de 4 min à 94 °C ; 35 cycles comprenant : une étape de dénaturation à 94 °C (60 sec), une étape d'hybridation des amorces FAM à une température spécifique de 55 °C et 60 °C pour les amorces NED, VIC et PET (1 min), une étape d'élongation à 72°C (1 min) ; et une étape d'élongation finale (7 min) à 72°C.

Tableau IX: Liste des marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage du cotonnier

ORDRE	MARQUEURS	SEQUENCES 5'-3'	ETIQUETTES	REFERENCES
1	NAU 2816	TGGATCCAGAGAGGGATAAG AGACACAAAGAGACGGAAGG	NED	Ulloa <i>et al.</i> , 2011
2	NAU 2503	GATCGAAATCAAAGGGCTTA CGTTGGATGAAGTTGATGAT	FAM	Ulloa <i>et al.</i> , 2011
3	BNL0358	ATTAATTGCACCAGACATCCC AAATCTTGGTTTTGAGATTTTCA	NED	Constable <i>et al.</i> , 2007
4	DPL0562	ACACTTCATTTCTCAGGTGATGC ACAAGGATGAAGAAGATTCAGAGG	VIC	Constable <i>et al.</i> , 2007
5	JESPR 220	CGAGGAAGAAATGAGGTTGG CTAAGAACCAACATGTGAGACC	NED	Constable <i>et al.</i> , 2007
6	JESPR 304	GAAATGCATTCCCTCAAAGC AGACTCTATCGAATGACCCTG	FAM	Ulloa <i>et al.</i> , 2016
7	CIR 069	GTCACTGCTATACTTTCC TATTGGGCTTTGATTTG	FAM	Wang <i>et al.</i> , 2015
8	BNL 2569	CGAAGAGCCATTGTGAACGA ATAATGCTAGGGCATGTGGC	VIC	Constable <i>et al.</i> , 2007
9	CIR 017	CATTCGGGTTTCATTC GATTCATCCATCCAAC	FAM	Constable <i>et al.</i> , 2007
10	CIR267	GCAAGTTTGAATGGTTG CTTGGTTCTGCTTGGA	FAM	Constable <i>et al.</i> , 2007
11	BNL3359	TTGTTGTTGGGAATGATGGA TGACCCTTCACCGACTTTCT	VIC	Constable <i>et al.</i> , 2007
12	HAU1434	GGTTAGACCAGGAGCAAATG TCACTGAGATTTGGAGCTGA	NED	Wang & Robert., 2006
13	BNL3932	TCGGGATTTTTATGGCAAAG GAACACTCAACAAGGGGGAA	PET	Wang & Robert., 2006
14	CIR202	TGAAAGTTGAAAGTGTGG ACGCTTTAGTTGCAGAG	FAM	Wang & Robert., 2006
15	CGR 5150	GCTCCAATTTCTCTTCTTTG CCTCTCAGGATTCTTCTTGATTC	VIC	Wang & Robert., 2006
16	BNL 2650	ACCATCCCTCAAACCTCCCT CTGGGTTCTTTTTGGCATGT	PET	Yu <i>et al.</i> , 2011 ; 2012
17	MUCS616	ATCAGAGTTTGGGGGATTGG AAAGGAAGGAAGCAAACCTGAG	VIC	Ulloa <i>et al.</i> , 2011 ; 2013
18	NAU3901	AAGACAAAAGGCAAGGACAC CTTGAAAAAGGAAGAGCAG	NED	Ulloa <i>et al.</i> , 2011
19	MUSS250	TGCACTTGCTGCAGTTTACC TGCAGTTCAACACAACAAAGG	VIC	Ulloa <i>et al.</i> , 2016

Tableau IX : Liste des marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage du cotonnier
(Fin)

20	MUSB0639	CCATCTCCAAACTCTTACATGC AATCCGAGGCAGAATGAGG	PET	Ulloa <i>et al.</i> , 2013
21	MUSB0780	TGCATTCATCAAAGGTAGCC TCATGCGCCTTATTCGTTTC	PET	Ulloa <i>et al.</i> , 2013
22	BNL 0834	TCGAGATTCATGGCTCTCCT TGGCAAAGTGGACATACCA	PET	Ulloa <i>et al.</i> , 2013

2.3.4.2.3. Migration sur séquenceur à capillaire

Le génotypage a été réalisé en utilisant les protocoles en usage sur le plateau de génomique de l'UMR Agap du Cirad de Montpellier, et les amplicons ont été séparés sur un séquenceur à capillaires.

Le système Applied Biosystems (ABI 3500xl) permet de détecter 5 fluorescences différentes à 5 longueurs d'onde. Il est donc possible de réaliser, dans une même réaction, l'amplification de produits PCR utilisant plusieurs marqueurs microstellites (multiplexage). Le choix des couples d'amorces est basé à la fois sur la taille attendue des allèles amplifiés par chacun des couples d'amorces, et selon le marquage des amorces par l'un des 4 colorants, notamment dans notre cas : FAM, NED, VIC, ou PET. Un multiplexage de 8 microsatellites par réaction, donc 8 points de données par piste a été effectué par l'automate de pipetage Biomek NX. Cela permet de faire migrer et d'analyser au cours d'une même réaction les produits de huit (8) marqueurs. Cette stratégie a été appliquée à l'ensemble des marqueurs microsatellites analysés. Les allèles de ces derniers sont différenciés par la couleur du fluorochrome porté par les amorces de PCR. L'intensité de fluorescence détectée est variable selon le colorant ; le volume prélevé de chaque produit PCR varie donc en fonction du colorant utilisé. L'automate de pipetage Biomek NX prélève 2 μ L de produit PCR1 marqué par FAM, 2,5 μ L de produit PCR2 marqué par NED, 2 μ L de produit PCR3 marqué par VIC, 3,5 μ L de produit PCR4 marqué par PET, 2 μ L de produit PCR5 marqué par FAM, 2,5 μ L de produit PCR6 marqué par NED, 2 μ L de produit PCR7 marqué par VIC, 3,5 μ L de produit PCR8 marqué par PET de produit PCR pour chaque microsatellite, qu'il place dans le même puits du génotypeur (multiplexe). On prélève par la suite 2 μ L de pool PCR dilué que l'on met dans un puit en y ajoutant 10 μ L du mélange Formamide + Marqueur de Taille (4 ml de formamide Hidi pour 48 μ l de GeneScan 600 LIZ (MT)) par puits dans la plaque de dépôt.

La Formamide permet de maintenir les fragments PCR en condition dénaturante et de minimiser l'évaporation lors des réactions sur le séquenceur.

La plaque est alors centrifugée (1500 tours/min pendant 1 min) afin d'éliminer les éventuelles bulles qui rendraient impossible l'injection de la solution dans le capillaire et donc l'analyse de l'échantillon. Les paramètres de l'analyse sont rentrés dans le génotypeur (MoGen16_μsatPcrAbi_V5), notamment la gamme de coloration utilisée et le temps de migration qui est fixé à 9 heures.

2.3.4.3. Analyse des données issues de l'identification de marqueurs associés à la résistance à la fusariose

2.3.4.3.1. Analyse de données de phénotypage du panel de variétés de coton

Les diagrammes et les courbes d'évolutions de l'indice de flétrissement sont réalisés avec le logiciel Excel 2007 sur les données brutes recueillies. Une analyse de variance (ANOVA) à un facteur a été réalisée à l'aide du logiciel STATISTICA 7.1 afin d'évaluer le niveau de sensibilité des variétés de coton en fonction des isolats. Lorsqu'une différence significative est observée entre les moyennes ($p < 0,05$), le test post ANOVA LSD de Fisher au seuil de 5 % est réalisé afin de regrouper les variétés de coton selon leur niveau de sensibilité à l'inoculation.

2.3.4.3.2. Analyse du génotypage des accessions de coton

Les données de multiplexage du séquenceur ABI ont été analysées à l'aide du logiciel d'analyse Genemapper v4.1 d'Applied Biosystem, qui permet de générer des chromatogrammes de chacune des migrations, et tabuler les tailles des différents produits de PCR obtenus.

Dans l'analyse de la diversité des variétés, la classe de résistance des variétés après inoculation a été considérée pour la constitution des populations. Les variétés ISA 205, CI 123, MCU5 et W766A de la classe sensible sont définies comme la population I. Les variétés CI 128 et Mac-Nair 1032 de la classe tolérante sont définies comme la population II et les variétés Reba B50, Y331 Blt de la classe avec une résistance intermédiaire sont définies comme la population III. Huit (8) variétés de coton connues dans la littérature pour leur résistance ou sensibilité à la fusariose ont été définies comme la population IV (PIMA S6, GIZA 69, ICA 17, ACALA SJ2, ACALA SJ5, COKER 100WILT, DIXIE KING III et P279).

La diversité génétique a été évaluée à deux échelles dans chacune des populations en utilisant la loi de Hardy-Weinberg qui mesure l'équilibre des populations.

Il s'agit de la diversité génétique intrapopulation et de la diversité génétique interpopulation. Les paramètres de diversité génétique comme définis précédemment ont été estimés. Les logiciels utilisés pour l'évaluation de ces paramètres étaient les logiciels GenAlex version 6.5 et FreeNa. Le logiciel CREATE a également permis de mettre en forme les fichiers pour ces différents logiciels.

Le regroupement génétique des génotypes de coton a été réalisé à partir de dendrogrammes en se basant sur les liens génétiques entre ceux-ci selon la méthode du *Neighbour Joining* basée sur les matrices de dissimilarité entre les individus avec 1000 répétitions. Ces matrices, qui regroupent les individus suivant les distances génétiques qui les séparent, ont été générées en utilisant les données moléculaires, à l'aide du logiciel FreeNa et les arbres phylogénétiques ont été générés à partir du logiciel MEGA X.

Les données de séquençage en multiplexe du séquenceur ABI ont été analysées à l'aide du logiciel d'analyse Genemapper v4.1 d'Applied Biosystem. Ce logiciel permet d'obtenir les génotypes d'individus amplifiés avec des marqueurs microsatellites et révélés sur le séquenceur ABI 3500xl.

Les résultats obtenus à l'issue de ces analyses sont présentés et discutés dans la troisième partie de cette thèse.

**TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET
DISCUSSION**

3. 1. RESULTATS

3.1.1. Caractéristiques morphologiques des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

3.1.1.1. Distribution géographique de la fusariose en Côte d'Ivoire

Les parcelles prospectées en zones CIDT, SECO, COIC, IVOIRE COTON et en station de recherche de coton à Bouaké sont, sans exception, atteintes de la fusariose. Tous les échantillons collectés des différentes zones ont fourni au moins une souche pathogène.

Les techniques d'isolement et d'identification ont permis de mettre en évidence des isolats de *Fusarium oxysporum* dans les échantillons de cotonnier (Figure 15).

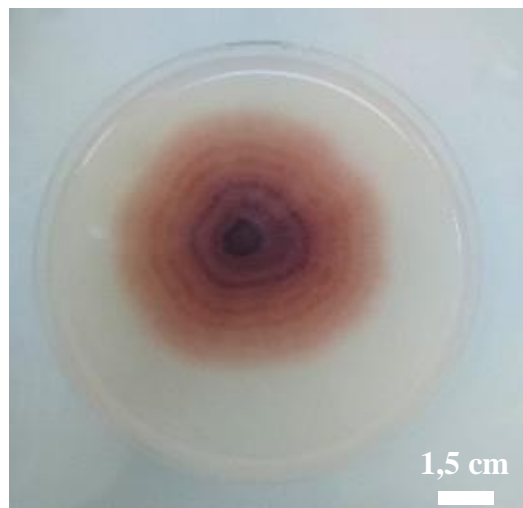


Figure 15: Souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* isolée des plants de cotonnier

Sur 124 souches prélevées, 91 ont été identifiées comme Fov. Les résultats ont confirmé la présence de la fusariose vasculaire dans 74 % des échantillons prélevés. La proportion des isolats de Fov en fonction des parcelles des différentes sociétés cotonnières visitées est présentée par la figure 16. L'analyse statistique (ANOVA) a révélé une différence hautement significative ($P < 0,0001$) entre les proportions des isolats des sociétés cotonnières. La zone de la société cotonnière CIDT a enregistré 67 % des isolats de la collection, suivi de la zone cotonnière COIC avec 16 %. La zone cotonnière de la société SECO a enregistré le plus petit nombre (2 %) d'isolats. Dans la zone CIDT, la maladie est présente dans quasiment tous les champs visités et se manifeste avec une forte intensité.

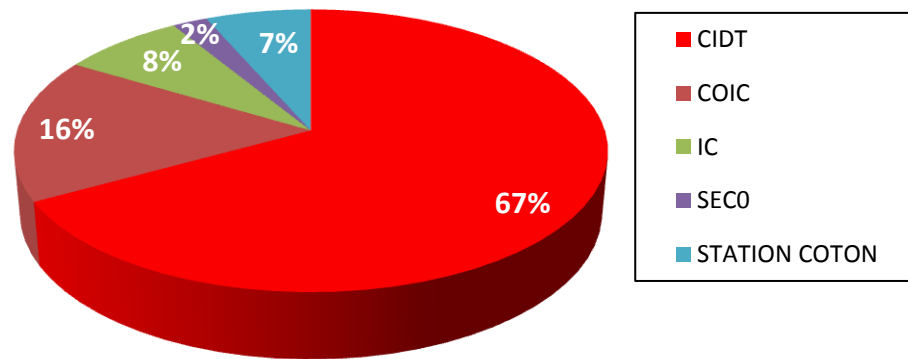


Figure 16: Proportions des isolats en fonction des sociétés cotonnières

3.1.1.2. Caractères cultureux

Les isolats repiqués sur milieu PDA au bout du quatrième repiquage, ont montré une variabilité quant à l'aspect du mycélium et la couleur des colonies. La figure 17 montre le pourcentage des différentes colorations mycéliennes des isolats. Une coloration rose a été observée sur 41 % des isolats de l'ensemble de la collection, 37 % avaient une coloration violette, 3 % des isolats étaient blancs, 8 % des isolats avaient une coloration saumon et 11 % des isolats étaient lavande. Les caractéristiques des isolats de Fov obtenues au cours de cette étude sont présentées dans le tableau X. L'analyse des paramètres aspect du mycélium et couleur des colonies permet de classer les isolats en 10 groupes homogènes.

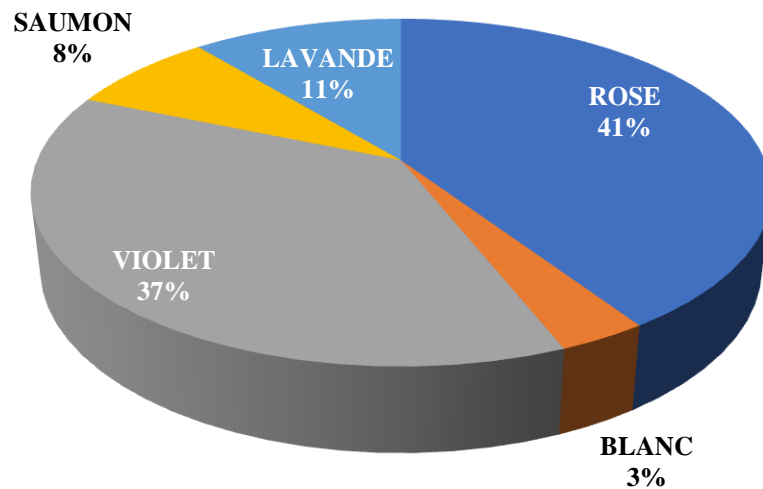
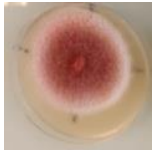

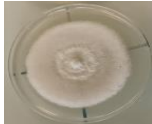
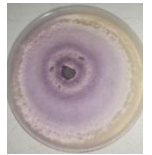


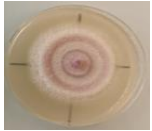





Figure 17: Repartition des différents isolats en fonction de la coloration des colonies

- **Groupe 1.** Colonies de couleur rose, montrant un mycélium cotonneux dense: AM 10, AM 12, AM 16, AM 17, AM 18, AM 23, AM 25, AM 26, AM 27, AM 30, AM 49, AM 55, AM 56, AM 65, AM 67, AM 80, AM 83, AM 84, AM 115, AM 42, AM 45.
- **Groupe 2.** Colonies de couleur rose, montrant un mycélium cotonneux ras: AM 15, AM 19, AM 48, AM 52, AM 53, AM 57, AM 73, AM 72, AM 75, AM 76, AM 78, AM 79, AM 82, AM 105, AM 47, AM 122.
- **Groupe 3.** Colonies de couleur blanche, montrant un mycélium cotonneux dense: AM 97, AM 98, AM 94.
- **Groupe 4.** Colonies de couleur violette, montrant un mycélium cotonneux dense: AM 1, AM 3, AM 4, AM 13, AM 21, AM 29, AM 50, AM 51, AM 58, AM 62, AM 66, AM 71, AM 74, AM 91, AM 93, AM 95, AM 96, AM 100, AM 101, AM 44, AM 121, AM 123, AM 124.
- **Groupe 5.** Colonies de couleur saumon, montrant un mycélium fin et ras : AM 9.
- **Groupe 6.** Colonies de couleur lavande, montrant un mycélium cotonneux ras : AM 2, AM 33, AM 116, AM 117, AM 118.
- **Groupe 7.** Colonies de couleur lavande, montrant un mycélium cotonneux dense: AM 20, AM 22, AM 24, AM 59, AM 120.

- **Groupe 8:** Colonies de couleur violet, montrant un mycélium cotonneux ras: AM 1.1, AM 11, AM 14, AM 54, AM 60, AM 69, AM 70, AM 90, AM 41, AM 46, AM 119.
- **Groupe 9 :** Colonies de couleur saumon, montrant un mycélium cotonneux dense: AM 81, AM111, AM 112.
- **Groupe 10:** Colonies de couleur saumon, montrant un mycélium cotonneux ras : AM 5, AM 28, AM 61

Tableau X : Caractéristiques couleur et aspect des différents isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

	Caractéristiques	Nombre d'isolat	Isolats	Aspect macroscopique
Groupe 1	Colonies rose ; cotonneux dense	21	AM 10, AM 12, AM 16, AM 17, AM 18, AM 23, AM 25, AM 26, AM 27, AM 30, AM 49, AM 55, AM 56, AM 65, AM 67, AM 80, AM 83, AM 84, AM 115, AM 42, AM 45	
Groupe 2	Colonies rose; cotonneux ras	16	AM 15, AM 19, AM 48, AM 52, AM 53, AM 57, AM 73, AM 72, AM 75, AM 76, AM 78, AM 79, AM 82, AM 105, AM 47, AM 122.	
Groupe 3	Colonies blanche, cotonneux dense	3	AM 97, AM 98, AM 94.	
Groupe 4	Colonies violette, cotonneux dense	23	AM 1, AM 3, AM 4, AM 13, AM 21, AM 29, AM 50, AM 51, AM 58, AM 62, AM 66, AM 71, AM 74, AM 91, AM 93, AM 95, AM 96, AM 100, AM 101, AM 44, AM 121, AM 123, AM 124.	
Groupe 5	Colonies saumon, fin et ras	1	AM 9	
Groupe 6	Colonies lavande, cotonneux ras	5	AM 2, AM 33, AM 116, AM 117, AM 118	
Groupe 7	Colonies lavande cotonneux dense	5	AM 20, AM 22, AM 24, AM 59, AM 120	
Groupe 8	Colonies violette, cotonneux ras	11	AM 1.1, AM 11, AM 14, AM 54, AM 60, AM 69, AM 70, AM 90, AM 41, AM 46, AM 119	
Groupe 9	Colonies saumon, cotonneux dense	3	AM 81, AM111, AM 112.	
Groupe 10	Colonies saumon, cotonneux ras	3	AM 5, AM 28, AM 61	

3.1.1.3. Effet des milieux de culture sur la croissance radiale des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

Afin de comprendre l'influence des milieux de culture (PDA, MALT, CDA) sur la croissance mycélienne et la concentration en spores, 24 isolats représentatifs de la collection ont été examinés. Les croissances radiales moyennes des isolats de Fov sur les milieux CDA et MALT sont plus élevées par rapport à celles du milieu PDA (Figure 18). Les croissances radiales moyennes maximales (8^{ème} jour) sont respectivement de 64,39±14,58 mm pour CDA, suivi de MALT 57,88±14,04 mm et PDA 56,11±11,90 mm (Tableau XI).

La croissance des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* sur les trois milieux de culture au 8^{ème} jour a varié de 33,91 ± 3,35 à 86,00 ± 0,00 mm (Tableau XI). Sur le milieu PDA, la croissance radiale a varié de 37,7 ± 3,76 à 86,00 ± 0,00 mm. Sur le milieu MALT, elle est comprise entre 35,66 ± 3,14 et 86,00 ± 0,00 mm. Quant à la croissance des isolats sur le milieu CDA, elle a varié de 33,91±3,35 à 86,00±0,00 mm. Les isolats AM 94 et AM 98 ont les plus importantes croissances mycéliennes sur les milieux PDA, MALT et CDA. L'analyse statistique a révélé une différence hautement significative entre les isolats ($P < 0,001$; $F = 34,96$).

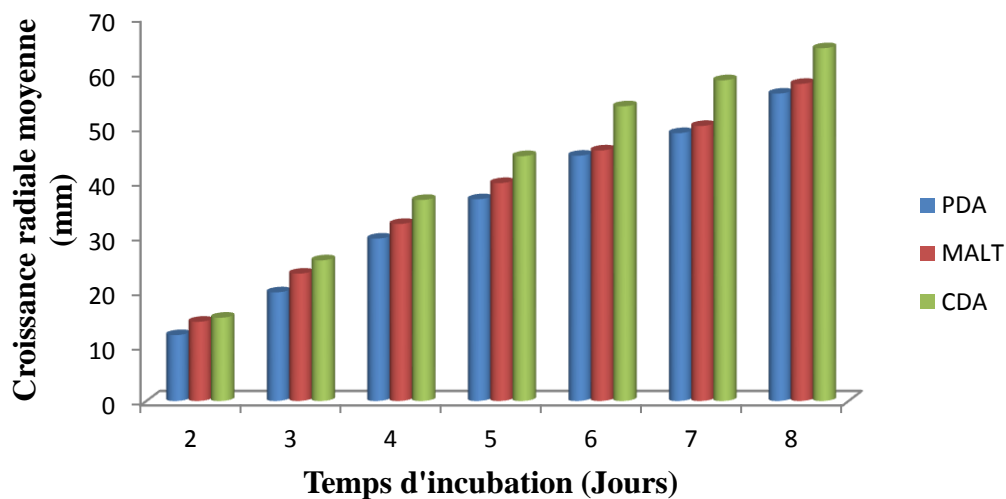


Figure 18 : Croissance des isolats sur les milieux de culture au cours des temps d'incubation

Tableau XI: Croissance radiale (mm) des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* sur des différents milieux après 10 jours d'incubation

Isolats	MILIEU PDA	MILIEU MALT	MILIEU CDA
AM 9	42,41±7,17 ^l	35,66±3,14 ^l	46,33±4,67 ^{ij}
AM 61	56,00±5,47 ^{efg}	55,91±2,15 ^{ghi}	61,83±4,15 ^{fg}
AM 72	46,08±2,15 ^{kl}	52,83±2,48 ^{hij}	71,83±8,47 ^{cd}
AM 20	55,16±2,04 ^{efgh}	51,00±3,16 ^{ijk}	58,91±6,65 ^{gh}
AM 81	54,16±2,63 ^{fghi}	53,50±2,73 ^{hij}	64,08±8,89 ^{efg}
AM 12	56,83±5,84 ^{def}	60,91±15,93 ^{efg}	74,75±9,96 ^{bc}
AM 90	37,75±3,76 ^m	38,58±2,97 ^l	33,91±3,35 ^k
AM 3	57,41±5,88 ^{def}	70,41±4,56 ^{bc}	72,50±5,00 ^{cd}
AM 55	54,08±6,39 ^{fghi}	58,41±3,92 ^{fgh}	67,83±8,01 ^{cdef}
AM 33	57,00±1,26 ^{def}	72,5±4,54 ^b	70,33±6,71 ^{cde}
AM 48	49,16±2,13 ^{jk}	46,33±9,28 ^k	49,25±8,62 ⁱ
AM 16	50,33±3,82 ^{hijk}	47,33±3,61 ^{jk}	52,16±7,30 ^{hi}
AM 79	51,00±6,25 ^{hij}	56,58±7,90 ^{ghi}	72,66±5,16 ^{cd}
AM 75	49,66±4,96 ^{ijk}	45,66±4,96 ^k	41,08±2,53 ^{jk}
AM 74	46,00±0,00 ^{kl}	37,66±2,58 ^l	47,66±4,08 ^{ij}
AM 105	51,58±3,55 ^{ghij}	54,66±4,16 ^{hi}	70,66±9,00 ^{cde}
AM 28	57,33±3,55 ^{def}	65,00±1,26 ^{cde}	65,5±11,89 ^{defg}
AM 47	52,66±6,83 ^{fghij}	51,08±4,86 ^{ijk}	61,75±4,77 ^{fg}
AM 96	59,33±4,08 ^{cde}	63,58±4,22 ^{def}	71,00±5,54 ^{cde}
AM 97	67,66±5,16 ^b	66,33±7,11 ^{bcde}	81,00±0,00 ^{ab}
AM 2	61,50±0,83 ^{cd}	69,33±5,78 ^{bcd}	72,66±9,83 ^{cd}
AM 94	86,00±0,00 ^a	86,00±0,00 ^a	86,00±0,00 ^a
AM 98	86,00±0,00 ^a	86,00±0,00 ^a	86,00±0,00 ^a
AM 116	63,66±3,38 ^{bc}	63,91±4,73 ^{def}	65,66±2,58 ^{defg}
Moyenne	56,11±11,90	57,88±14,04	64,39±14,58
Probabilité (P)	0,001	0,001	0,001
Constante (F)	43,61	35,84	27,43
CV%	21,20	24,25	22,64

Pour chaque moyenne les valeurs portant les mêmes lettres (a, b, c, d...) dans la même colonne sont statistiquement identique au seuil de 5 %

3.1.1.4. Densité des spores des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* en fonction des milieux des milieux de culture

Les isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* cultivés sur les milieux PDA, MALT et CDA ont montré des densités différentes en fonction du milieu de culture (Figure 19).

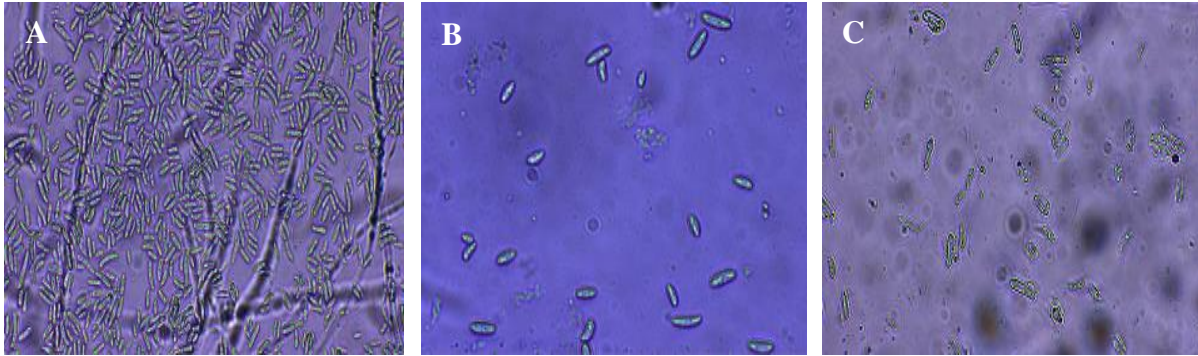


Figure 19 : Vue microscopique des spores au grossissement G×40 de l'isolat AM 47 sur les 3 milieux de cultures :

A : PDA ; B : Malt ; C : CDA

La concentration en spores des isolats de Fov a varié dans tous les milieux de culture de 0 à $2,69 \times 10^8$ spores/mL (Tableau XII).

Sur les milieux PDA et MALT, les concentrations ont été respectivement de 0 à $2,69 \times 10^8$ spores / mL et de 0 à $1,18 \times 10^8$ spores/mL. Sur le milieu CDA, la concentration a oscillé de 0 à $2,05 \times 10^7$ spores/mL. Les isolats AM 98, AM 90, AM 9, AM 94 et AM 61 ont produit moins de spores sur les trois milieux de culture (Tableau XII). Les plus grandes quantités de spores proviennent des isolats AM 16 sur le milieu PDA, AM 12 sur le milieu MALT et AM 105 sur le milieu CDA.

Une différence significative ($P < 0,001$; $F = 18,82$) entre les concentrations en spore des isolats et entre les milieux de culture a été obtenue.

Le milieu PDA a permis aux isolats de produire un grand nombre de spores (Figure 20). Ce milieu favorise une grande variabilité des densités en spores des isolats de Fov, jusqu'à quinze (15) groupes homogènes. Les milieux MALT et CDA n'en présentent respectivement que huit (8) et sept (7) groupes.

Tableau XII: Concentration en spores des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp.vasinfestum sur différents milieux de culture après 10 jours d'incubation

Isolats	MILIEU PDA	MILIEU MALT	MILIEU CDA
AM 9	32,00±0,00 ^{ghi}	1,33±0,66 ^f	0,00±0,00 ^f
AM 61	5,33±0,66 ^{jk}	1,33±0,66 ^f	1,33±0,66 ^f
AM 72	172,66±7,42 ^b	66,66±6,76 ^b	2,00±0,00 ^f
AM 20	16,66±4,05 ^{ijk}	5,33±1,33 ^f	2,66±1,33 ^f
AM 81	166,00±18,33 ^b	16,00±1,15 ^{de}	1,33±1,33 ^f
AM 12	58,66±2,90 ^{def}	118,66±1,76 ^a	1,33±0,66 ^f
AM 90	0,00±0,00 ^k	0,00±0,00 ^f	0,00±0,00 ^f
AM 3	43,33±3,71 ^{fgh}	4,66±0,66 ^f	0,00±0,00 ^f
AM 55	40,66±1,76 ^{fghi}	20,66±1,76 ^d	64,00±2,30 ^c
AM 33	52,00±4,00 ^{defg}	6,66±2,40 ^{ef}	2,00±1,15 ^f
AM 48	16,66±1,76 ^{ijk}	63,33±3,71 ^b	2,66±0,66 ⁱ
AM 16	269,33±15,37 ^a	40,00±7,57 ^c	45,33±6,35 ^d
AM 79	20,00±5,03 ^{hijk}	2,66±6,11 ^f	4,66±0,66 ^f
AM 75	151,33±20,82 ^b	2,66±0,66 ^f	4,66±2,66 ^f
AM 74	74,66±3,71 ^{cd}	1,33±0,66 ^f	0,00±0,00 ^f
AM 105	174,00±15,62 ^b	44,00±6,92 ^c	104,66±11,85 ^a
AM 28	48,00±0,00 ^{efg}	20,00±4,61 ^d	6,66±1,76 ^f
AM 47	92,66±9,33 ^c	37,30±2,66 ^c	8,66±2,66 ^{ef}
AM 96	32,00±13,11 ^{ghi}	6,00±4,00 ^f	92,00±12,70 ^b
AM 97	29,33±4,66 ^{ghij}	6,00±1,15 ^f	2,00±0,00 ^f
AM 2	69,33±2,40 ^{cde}	4,66±1,76 ^f	20,00±8,08 ^e
AM 94	0,00±0,00 ^k	00,00±0,00 ^f	0,00±0,00 ^f
AM 98	2,00±0,00 ^k	0,00±0,00 ^f	0,00±0,00 ^f
AM 116	75,33±8,66 ^{cd}	8,66±3,71 ^{ef}	11,33±5,33 ^{ef}
Moyenne	67,25±8,30	21,30±3,40	15,58±3,54
Probabilité	0,0000	0,0000	0,0000
CV%	12,34	15,96	22,72
Groupes homogènes	17	8	7

Pour chaque moyenne les valeurs portant les mêmes lettres (a, b, c, d...) dans la même colonne sont statistiquement identique au seuil de 5 %.

PDA : Potato dextrose agar ; CDA : czapek dox agar ; MALT: Extrait de Malt agar

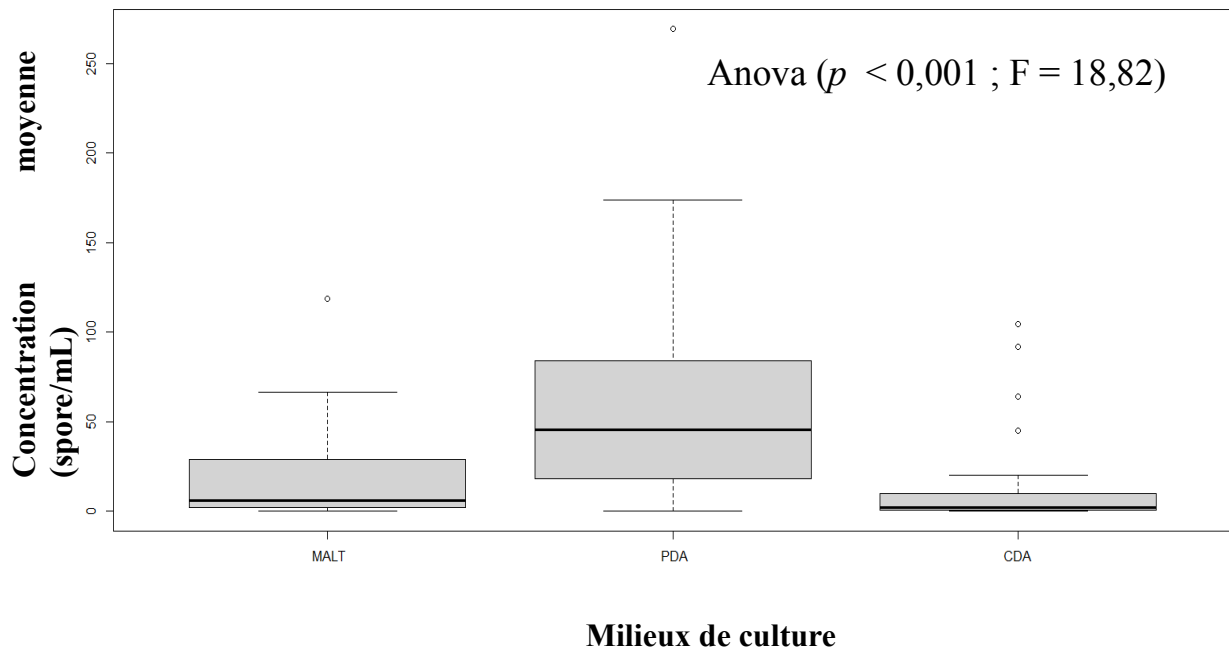


Figure 20 : Concentration moyenne des isolats en spores sur les différents milieux de culture

3.1.2. Caractéristiques de la pathogénicité des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

3.1.2.1. Pouvoir pathogène évalué des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

L'analyse statistique a révélé une différence significative pour l'indice de flétrissement et de rabougrissement moyen des plants de cotonniers inoculés avec les différents isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. Le tableau XIII présente les valeurs de ces deux paramètres entre les isolats. L'indice de flétrissement a varié d'un isolat à l'autre de 0,00 à 61 %. Quant à l'indice de rabougrissement, il est compris entre 18 et 86 %. L'isolat AM 16 a présenté l'indice de flétrissement le plus élevé et l'isolat AM 9, le plus petit indice. Les isolats AM 9 et AM 116 ayant des indices de flétrissement quasiment nuls, n'ont pas induit de flétrissement sur les plants après inoculation. Par contre, tous les isolats fongiques ont induit un rabougrissement des plants inoculés.

Tableau XIII: Indice de flétrissement et de rabougrissement des différents isolats

Isolats	Indice de flétrissement	Indice de rabougrissement
AM 9	0,33±0,57 ^c	32,00±6,00 ^{abcd}
AM 61	22,33±19,50 ^{abc}	28,33±18,77 ^{abcd}
AM 72	52,33±25,57 ^{ab}	70,00±6,24 ^{abcd}
AM 20	13,66±17,21 ^{abc}	57,66±27,93 ^{abcd}
AM 81	44,33±8,32 ^{abc}	77,66±5,13 ^{abc}
AM 12	25,33±3,51 ^{abc}	80,33±10,78 ^{ab}
AM 90	10,00±17,32 ^{abc}	18,66±18,17 ^d
AM 3	25,66±21,54 ^{abc}	55,33±11,93 ^{abcd}
AM 55	46,00±15,87 ^{abc}	73,00±16,82 ^{abcd}
AM 33	5,66±3,78 ^{bc}	65,66±16,01 ^{abcd}
AM 48	23,33±16,80 ^{abc}	66,33±24,00 ^{abcd}
AM 16	61,00±29,86 ^a	86,00±2,64 ^a
AM 79	5,33±2,30 ^{bc}	50,66±18,17 ^{abcd}
AM 75	26,33±5,50 ^{abc}	60,66±12,66 ^{abcd}
AM 74	22,00±19,15 ^{abc}	50,66±16,62 ^{abcd}
AM 105	36,33±10,01 ^{abc}	52,33±7,50 ^{abcd}
AM 28	20,66±9,50 ^{abc}	67,00±25,35 ^{abcd}
AM 47	53,66±37,31 ^{ab}	57,00±38,03 ^{abcd}
AM 96	54,66±31,08 ^{ab}	82,00±15,62 ^{ab}
AM 97	16,00±3,00 ^{abc}	49,66±10,06 ^{abcd}
AM 2	5,00±6,24 ^{bc}	42,66±11,06 ^{abcd}
AM 94	11,33±3,21 ^{abc}	25,66±33,32 ^{bcd}
AM 98	16,00±14,42 ^{abc}	75,33±21,22 ^{abcd}
AM 116	0,00±0,00 ^c	21,66±25,00 ^{cd}
Moyenne	24,88±22,87	56,09±24,87
Probabilité	0,000095	0,000243
CV%	91,92	44,33

Pour chaque moyenne les valeurs portant les mêmes lettres (a, b, c, d) dans la même colonne sont statistiquement identique au seuil de 5 %

Le regroupement des différents isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* a été effectuée sur la base de deux dimensions formées par les deux variables IF (Indice de flétrissement) et IR (Indice de rabougrissement). Trois groupes ont été formés à la suite d'une classification hiérarchique (Figure 21).

La classe 1 comprend sept isolats (29,17 %) : AM 16, AM 96, AM 47, AM 72, AM 55, AM 105 et AM 81. Cette classe est statistiquement catégorisée par les isolats les plus virulents. Ces isolats ont des indices de flétrissement et de rabougrissement significativement supérieures aux valeurs moyennes de ces deux paramètres (IF moyen = 24,88 et IR moyen = 56,09 %).

La classe 2, formée des cinq isolats AM 94, AM 9, AM 90, AM 116 et AM 61 (20,83 %), se caractérise par des isolats dont les indices IF et IR sont significativement inférieures à la valeur moyenne (IF moyen = 24,88 et IR moyen = 56,09 %). Ces isolats sont moins virulents que les précédents.

La classe 3 comprend le plus grand nombre d'isolats (50 % des isolats de l'étude). Les isolats de cette classe ont leurs indices de flétrissement et de rabougrissement statistiquement identique aux valeurs moyennes de l'IF (24,88) et l'IR (56,09). Cette classe de virulence intermédiaire regroupe les isolats AM 28, AM 48, AM 75, AM 20, AM 3, AM 97, AM 74, AM 33, AM 2, AM 79, AM 98 et AM 12.

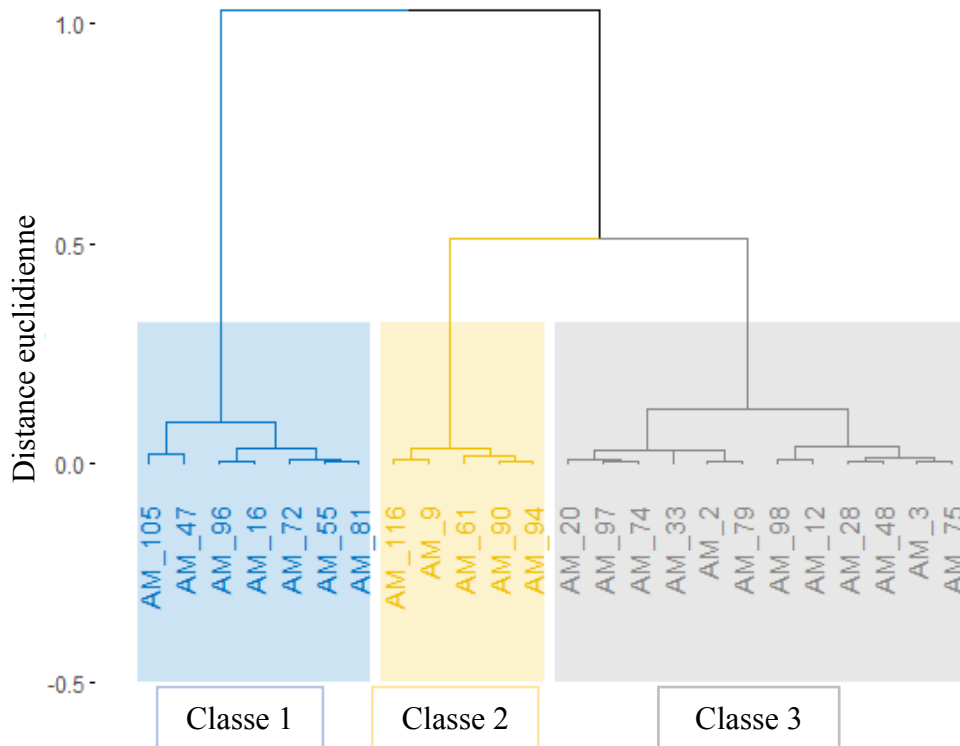


Figure 21: Dendrogramme présentant les classes de pathogénicité des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* :

Classe 1 : plus virulent ; *classe 2* : moins virulent ; *classe 3* : virulence intermédiaire.

3.1.2. 2. Corrélation entre les paramètres caractéristiques des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

Les corrélations entre les paramètres tels que la croissance mycélienne, l'Indice de flétrissement, l'Indice de rabougrissement, la classe de pathogénicité et la concentration en spores ont été examinées (Tableaux XIV). Quand les corrélations sont positives, elles traduisent une évolution des paramètres dans le même sens.

Dans le cas contraire, les paramètres évoluent dans des sens opposés. Une corrélation positive entre la classe de pathogénicité et l'indice de flétrissement moyen est observée, ce qui montre que, plus l'indice de flétrissement est élevé, plus l'isolat est virulent. De même, des corrélations positives des concentrations en spores sur les différents milieux avec les indices de flétrissement, de rabougrissement et la classe de pathogénicité sont observées. Ce qui traduit que plus un isolat est virulent, plus il produit de spores et ses indices de flétrissement et rabougrissement sont très élevés. Par ailleurs, la corrélation positive de l'indice de rabougrissement moyen (IR moyen) et l'indice de flétrissement moyen (IF moyen) montrent que plus la plante est atteinte, plus l'élongation de la tige est affectée.

Tableau XIV: Matrice de corrélations entre les paramètres mesurés des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

Paramètres	CM PDA	CM MALT	CM CDA	IF	IR	CP	CS PDA	CS MALT	CS CDA
CM PDA	1,00								
CM Malt	0,90	1,00							
CM CDA	0,79	0,87	1,00						
IF	-0,19	-0,18	-0,01	1,00					
IR	0,02	0,08	0,19	0,66	1,00				
CP	0,20	0,21	0,04	0,71	-0,14	1,00			
CS PDA	-0,30	-0,30	-0,18	0,61	0,42	0,50	1,00		
CS Malt	-0,20	-0,14	0,08	0,41	0,47	-0,16	0,34	1,00	
CS CDA	-0,06	-0,01	0,11	0,50	0,29	0,58	0,32	0,10	1,00

CM: Croissance Mycélienne; IF : Indice de flétrissement; IR : Indice de rabougrissement ; CP : classe de pathogénicité ; CS : concentration en spore ; PDA : Potato dextrose agar ; CDA : czapek dox agar ; MALT : Extrait de Malt agar.

Les valeurs de corrélation en gras sont celles qui sont significatives.

3.1.2.3. Regroupement des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* selon leurs caractères morphologiques et leur pouvoir pathogène

L'analyse ACP a montré que les deux premières composantes (F₁ et F₂) de valeurs propres supérieures à 1 expliquent respectivement 38,00 % et 28,61 % de la variabilité, soit une variance cumulée de 66,61 %. La projection des variables et des isolats dans le plan factoriel de l'ACP a permis de révéler trois groupes (Figures 22 et 23).

Le groupe 1 comprend onze isolats (AM 98, AM 94, AM 97, AM 28, AM 116, AM 20, AM 2, AM 3, AM 79, AM 61 et AM 33). Ces isolats sont caractérisés par une forte croissance mycélienne sur les trois milieux de culture.

Le groupe 2 est composé de huit isolats: AM 96, AM 12, AM 55, AM 105, AM 16, AM 47, AM 81 et AM 72. Les isolats de ce groupe sont caractérisés par une forte sporulation sur les trois milieux de culture avec les indices de flétrissement et de rabougrissement très élevés. La majorité de ces isolats est très virulente.

Le groupe 3, comprend cinq isolats (AM 48, AM 90, AM 9, AM 74 et AM 75). Dans ce groupe, les isolats sont moins virulents avec une faible croissance mycélienne et aussi une faible sporulation sur les milieux de culture.

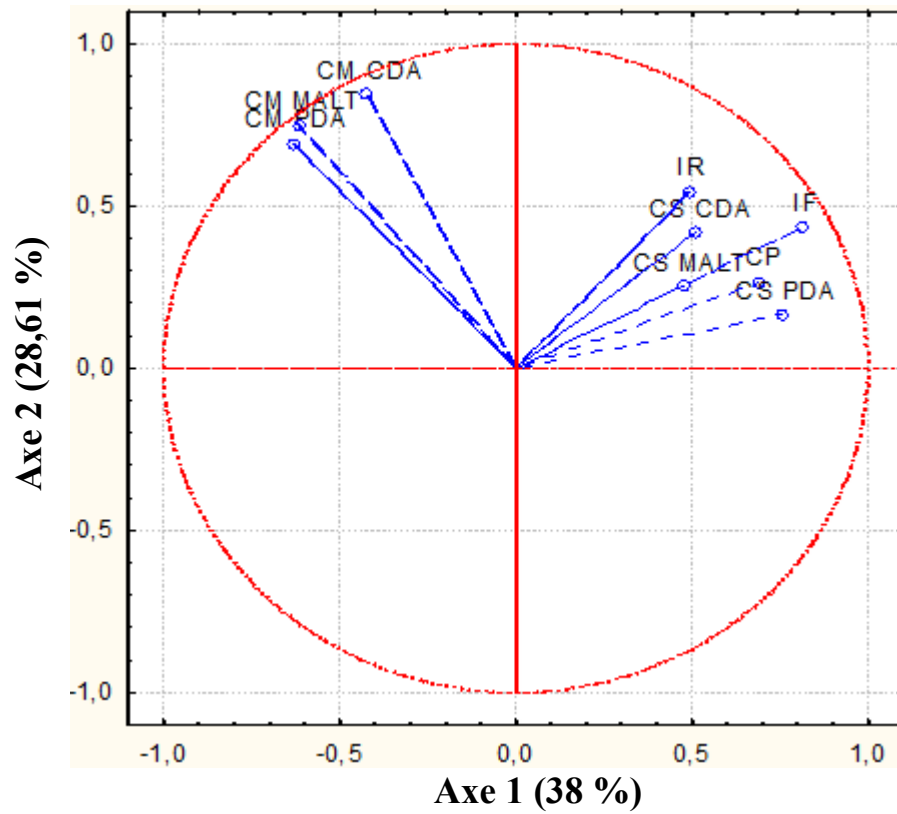


Figure 22: Projection des variables sur le plan factoriel

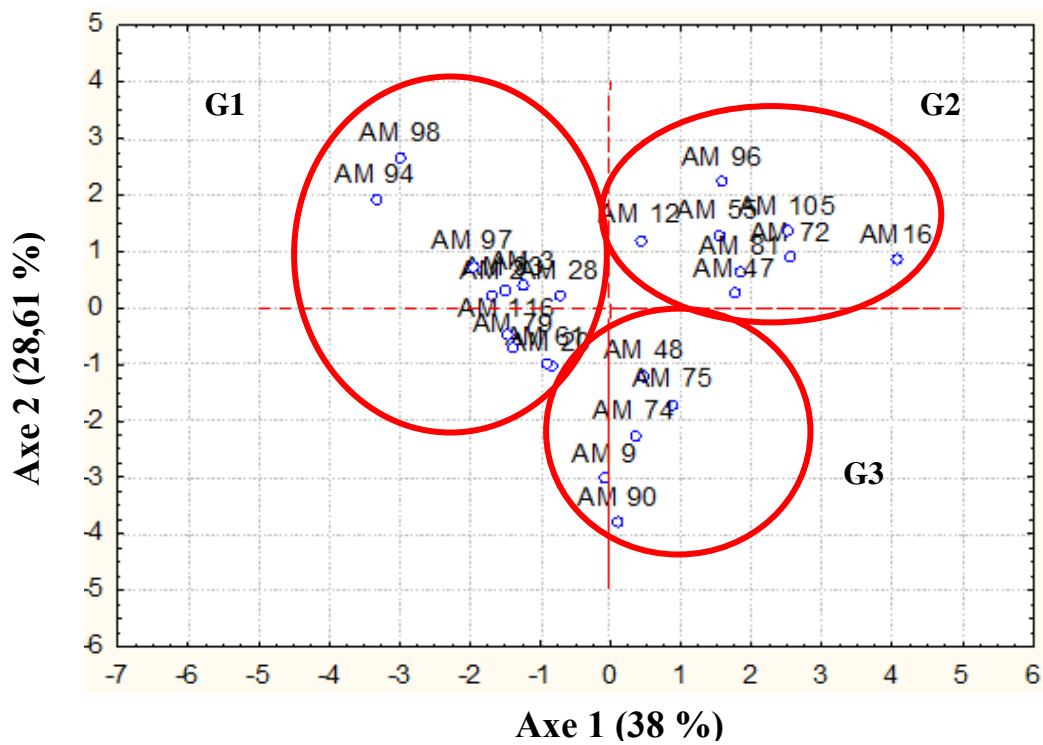


Figure 23 : Projection dans le plan factoriel des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* suivant leurs caractères morphologiques

3.1.2.4. Gènes de virulence détectés chez les isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

3.1.2.4.1. Caractéristique moléculaire des isolats avec des effecteurs SIX

Cette étude a été réalisée en vue d'identifier la présence de la race 4 (race la plus virulente) de *F. oxysporum* dans les isolats ivoiriens. Les isolats appartenant à la race 4 ont été identifiés après une amplification par PCR des gènes de virulence existant ou non chez ceux-ci (Figure 24). Les gènes de virulence étaient caractérisés par le marqueur SIX1 avec une taille d'allèle de 450 Pb (Figure 24A) et le marqueur SIX9 avec une taille d'allèle 260 pb (Figure 24B).

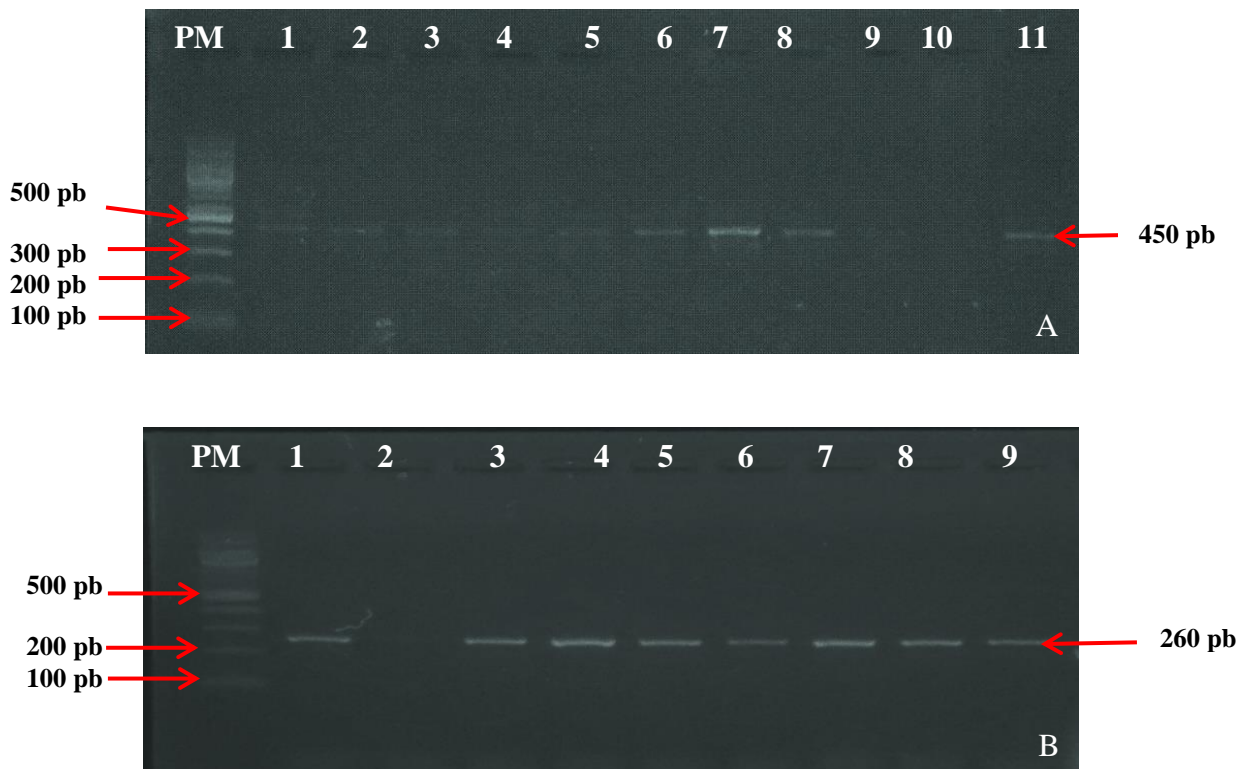


Figure 24 : Profils électrophorétiques des gènes SIX détectés chez les isolats *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

PM : poids moléculaire (100 pb) ; 1 à 11 : codes des échantillons

3.1.2.4.2. Distribution des gènes de classe SIX1 et SIX9 dans les génotypes de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* analysés

La figure 25 présente la distribution de la protéine SIX dans les 91 génotypes de Fov analysés. Chez *F.oxysporum*.sp. *vasinfectum*, certaines souches pathogènes sont capables de sécréter de petits effecteurs dans la sève du xylème de la plante hôte. Ainsi, les classes de gènes SIX1 et SIX9 ont été recherchées dans le génotype des 91 isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*.

Quand on s'en tient aux tailles probables des produits de SIX1 et SIX9 obtenues, les résultats montrent que la protéine SIX1 a été détectée dans le génome de 18 isolats dont AM 72, AM 48, AM 81, AM 20, AM 28, AM 60, AM 67, AM 2, AM 79, AM 75, AM 9, AM 55, AM 16, AM 94, AM 96, AM 47, AM 105 et AM 33. Quant à la protéine SIX9, elle a été détectée dans 21 génomes que sont : AM 72, AM 48, AM 3, AM 20, AM 28, AM 116, AM 67, AM 22, AM 46, AM 75, AM 9, AM 55, AM 74, AM 117, AM 16, AM 94, AM 96, AM 47, AM 105, AM 90 et AM 33. Cependant, la co-détection des protéines SIX1 et SIX9 a été observée dans 14 génomes des isolats ivoiriens AM 72, AM 48, AM 20, AM 28, AM 67, AM 75, AM 9, AM 55, AM 16, AM 94, AM 96, AM 47, AM 105 et AM 33. Le reste des isolats (72 %) a présenté aucune trace de la protéine SIX dans leur génome (Figure 25)

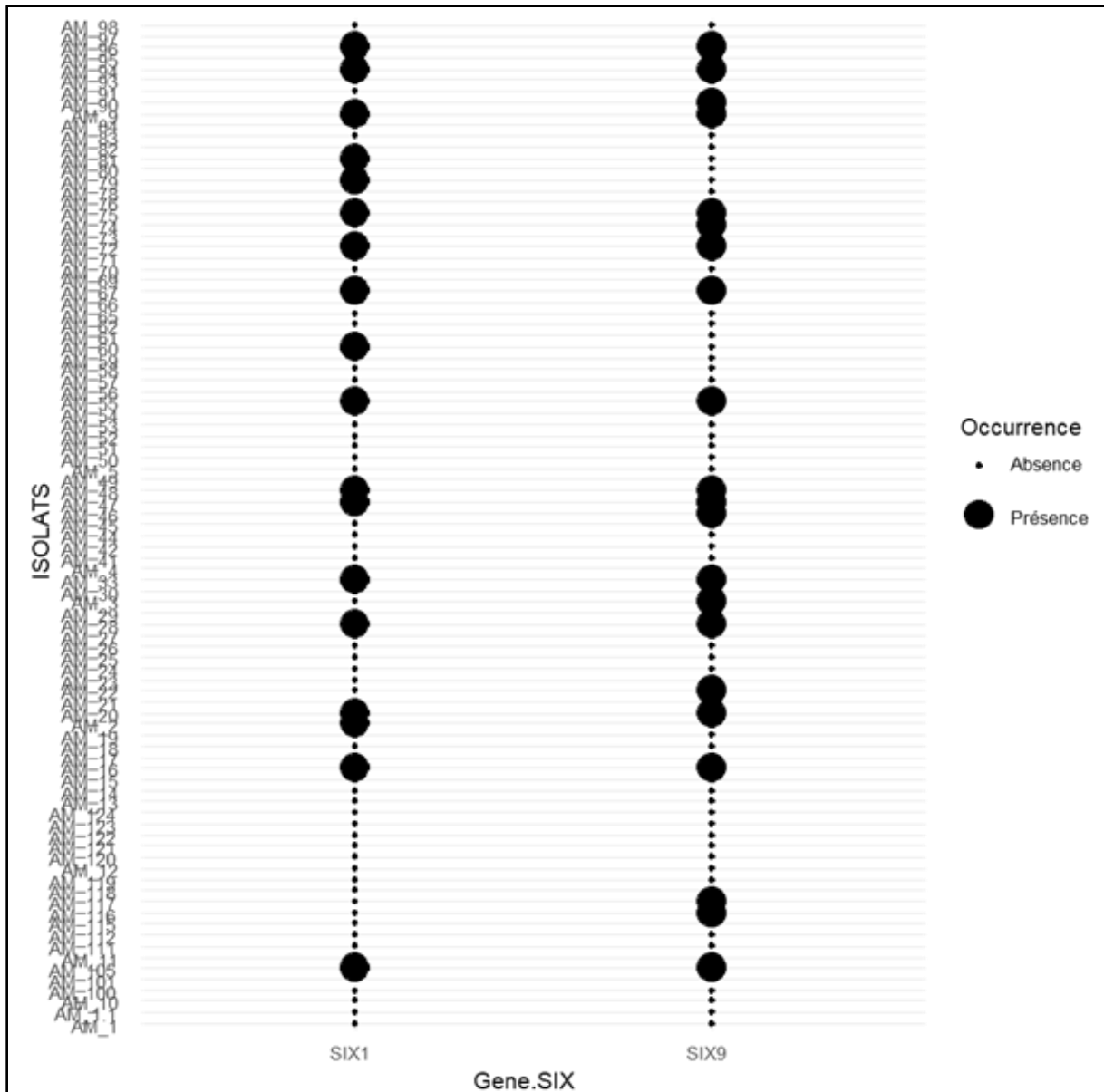


Figure 25: Distribution des gènes SIX1 et SIX9 dans le génome des isolats de Fov

3.1.2.4.3. Occurrence des gènes détectés

L'analyse moléculaire réalisée sur les 91 isolats de Fov a permis de détecter la présence des gènes SIX 1 et SIX 9 chez ces isolats collectés dans le bassin cotonnier ivoirien. Soixante-six (66) isolats ne possédaient aucun des gènes SIX 1 et SIX 9. Sur les 25 autres individus possédant au moins un de ces gènes, 56 % disposaient simultanément des deux gènes étudiés notamment SIX 1 et SIX 9. Vingt huit pourcent (28 %) des individus ont présenté uniquement le gène SIX 9 et 16 % des individus possédait uniquement le gène SIX1 (Figure 26).

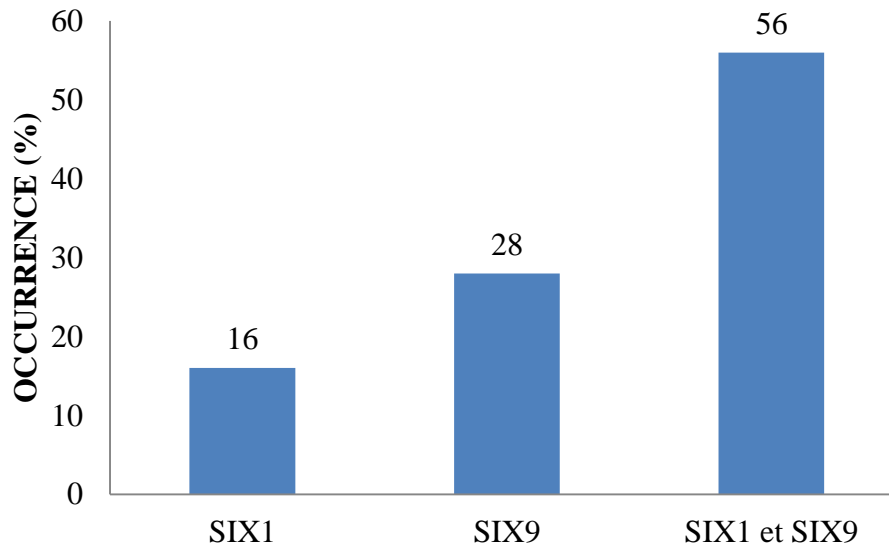


Figure 26 : Occurrence des gènes de virulence détectés chez des échantillons de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

SIX1 : présence du gène de virulence SIX1 ; SIX9 : présence du gène de virulence SIX9 ; SIX1 et SIX9 : présence simultanée des gènes SIX1 et SIX9

3.1.3. Diversité génétique des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* collectés

Sur 91 échantillons d'ADN de Fov, 88 isolats ont présenté les meilleurs taux d'amplification sur l'ensemble des marqueurs utilisés. De ce fait, 88 échantillons de Fov ont été considérés pour cette analyse.

3.1.3.1. Polymorphisme des différents marqueurs dans les populations étudiées

Les différents allèles ont été détectés à partir des profils génétiques obtenus par PCR sur gel d'agarose. La figure 27 présente les profils génétiques obtenus avec les différents marqueurs microsatellites.

Soixante-cinq (65) allèles ont été détectés dans toute la population, sur l'ensemble des marqueurs étudiés (Tableau XV). Le nombre moyen d'allèles par locus est de 13.

Les fréquences alléliques varient de 0,031 à 0,188 pour le marqueur MB_2, de 0,011 à 0,454 pour le marqueur MB_5, de 0,007 à 0,235 pour le marqueur MB_11, de 0,012 à 0,171 pour le marqueur MB_13 et de 0,029 à 0,382 pour le marqueur MB_17.

Dix (10) allèles ont été détectés au marqueur MB_2 avec des tailles comprises entre 246 et 930 pb, six (6) allèles avec des tailles comprises entre 100 et 930 pb au marqueur MB_5, dix-huit (18) allèles avec des tailles allant de 130 à 980 au marqueur MB_11, vingt-trois (23) allèles avec des tailles comprises entre 100 et 990 pb au marqueur MB_13 et huit (8) allèles dont les tailles varient de 275 à 960 pb ont été obtenus au marqueur MB_17.

A l'échelle de populations, au marqueur MB_2, 10 allèles ont été obtenus dans le sud du bassin, tandis que 6 allèles ont été obtenus dans le nord du bassin. Pour ce qui est du marqueur MB_5, il a permis d'obtenir 6 allèles dans le bassin sud, puis 3 dans le bassin nord. Au marqueur MB_11, 14 allèles sont obtenus dans le bassin sud tandis que 13 allèles ont été identifiés au nord du bassin. Le marqueur MB_13 a permis d'obtenir 20 allèles au sud puis, 12 allèles au nord. Enfin, avec le marqueur MB_17, 7 allèles ont été détectés dans le sud du bassin cotonnier et 4 allèles au nord du bassin.

Au regard des fréquences alléliques, les 5 marqueurs utilisés dans cette étude ont été polymorphes avec un taux de polymorphisme de 100 % (Tableau XV).

Tableau XV : Nombre, taille et fréquence des allèles détectés chez les isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* dans le bassin cotonnier ivoirien

Marqueurs	Taille des allèles	Sous-populations	
		Sud du bassin	Nord du bassin
MB_2	246	0,154	0,042
	248	0,058	0,333
	250	0,038	0,000
	254	0,135	0,208
	257	0,212	0,083
	260	0,096	0,167
	264	0,135	0,167
	270	0,038	0,000
	300	0,038	0,000
	930	0,096	0,000
	Na 10	10	6
MB_5	100	0,421	0,542
	110	0,389	0,292
	115	0,016	0,000
	120	0,127	0,167
	122	0,016	0,000
	930	0,032	0,000
		Na 6	6
MB_11	130	0,020	0,053
	140	0,122	0,132
	150	0,163	0,158
	155	0,000	0,053
	160	0,245	0,211
	165	0,020	0,053
	170	0,235	0,053
	175	0,041	0,053
	180	0,041	0,000
	190	0,020	0,053
	200	0,000	0,053
	340	0,000	0,026
	580	0,010	0,000
	790	0,000	0,053
	900	0,020	0,000
930	0,020	0,000	
950	0,020	0,000	
980	0,020	0,053	
	Na 18	14	13

Tableau XV: (Suite) Nombre, taille et fréquence des allèles détectés chez les isolats de Fov dans le bassin cotonnier ivoirien

Marqueurs	Taille d'allèles	Sous populations	
		Sud du bassin	Nord du bassin
MB_13	100	0,000	0,050
	140	0,161	0,200
	150	0,032	0,000
	160	0,032	0,000
	200	0,000	0,050
	260	0,032	0,000
	270	0,032	0,150
	275	0,016	0,000
	280	0,097	0,050
	300	0,065	0,050
	320	0,065	0,050
	340	0,097	0,000
	380	0,032	0,000
	390	0,032	0,000
	400	0,065	0,100
	410	0,048	0,050
	500	0,032	0,100
	580	0,016	0,000
	600	0,016	0,050
	680	0,000	0,100
890	0,065	0,000	
960	0,032	0,000	
990	0,032	0,000	
	Na 23	20	12
MB_17	275	0,042	0,000
	280	0,000	0,200
	290	0,167	0,100
	300	0,333	0,500
	310	0,250	0,000
	320	0,042	0,200
	900	0,042	0,000
	960	0,125	0,000
	Na 8	7	4
	Np 5	5	5
	P (%)	100	100
Total	65	57	38

Na : nombre d'allèles non nuls; P : taux de polymorphisme des marqueurs ;Np : nombre de loci polymorphes.

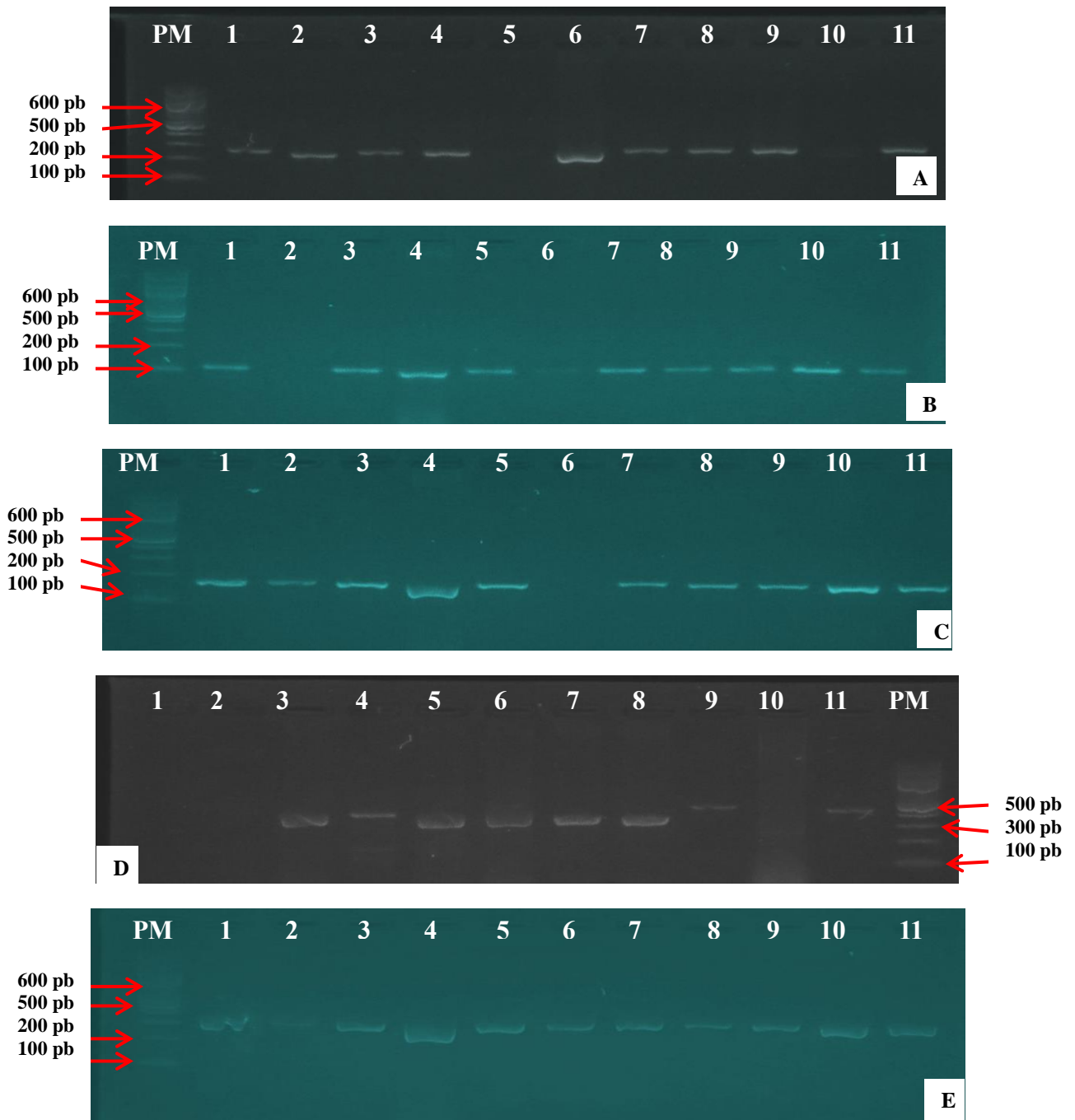


Figure 27: Profils électrophorétiques des isolats observés à partir du marqueur SSR

A : MB_2 ; B : MB_5 ; C : MB_11 ; D : MB_13 ; E : MB_17; PM : poids moléculaire (100 pb) ; 1 à 11 : codes des échantillons

3.1.3.2. Diversité génétique intrapopulation des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

La variabilité génétique des isolats de Fov pour l'ensemble des loci est caractérisée par un nombre total d'allèle (A) de 95 et un nombre d'allèle efficace (Ne) global de 6,26.

Dans chacune des populations, le nombre moyen d'allèles par locus N_a est de 11,4 et 7,6 respectivement dans les populations du sud du bassin et du nord du bassin. Quant au nombre moyen d'allèle efficace N_e , les valeurs sont 6,94 et 5,59 respectivement pour les populations du bassin sud et nord. (Tableau XVI). Dans la population globale, la valeur de l'indice de fixation (F_{IS}) est de 0,886 qui traduit un déficit d'individus hétérozygotes.

En moyenne, 6,4 allèles rares ont été obtenus dans la population du sud du bassin et 0,6 au nord de bassin. Les valeurs élevées du nombre d'allèles traduisent une importante variabilité allélique entre les isolats. Les indices de diversité de Shannon (I) ont varié de 1,7 à 1,9 avec une moyenne de $1,8 \pm 0,132$ (Tableau XVI).

Tableau XVI: Paramètres de la diversité génétique intrapopulation des isolats étudiés

Populations	N_a	A_r	F_{IS}	I	N_e	P
Sud du bassin	11,4	6,4	0,810	1,990	6,940	100
Nord du bassin	7,6	0,6	0,962	1,713	5,596	100
Moyenne	19	3,5	0,886	1,851	6,268	100

N_a : nombre moyen d'allèles par locus ; A_r : nombre d'allèles rares ; F_{IS} : indice de fixation ; I : indice de Shannon ; N_e : nombre d'allèles efficace.

3.1.3.3. Diversité génétique interpopulation des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

La valeur de F_{ST} entre les populations de Fov est de 0,028. Ce qui traduit une faible différenciation entre les isolats du bassin sud et du bassin nord (Tableau XVII). Cette différenciation relativement faible est traduit par la valeur moyenne du F_{IT} (0,0835). De plus, le nombre moyen de migrants effectifs par génération est très élevé ($N_m = 13,02 > 1$). Si l'on considère les loci individuellement, il ressort que sur les cinq marqueurs microsatellites utilisés, le F_{ST} le plus élevé est obtenu avec le marqueur MB_17 ($F_{ST} = 0,059$) traduisant une différenciation génétique modérée. Pour les quatre autres marqueurs génétiques, la différenciation génétique est faible avec des valeurs de F_{ST} égales à 0,038 ; 0,011 ; 0,015 et 0,017 respectivement pour les marqueurs MB_2, MB_5, MB_11 et MB_13. Quant aux nombres de migrants par génération, le marqueur MB_5 enregistre le plus fort taux avec une valeur supérieure à 22.

L'analyse moléculaire de variance (AMOVA) a révélé une variation génétique à l'intérieur et entre les populations. Cette variabilité génétique est expliquée à 96 % par de la diversité intrapopulation et seulement 4 % de cette variabilité provient de la diversité interpopulation (Figure 28).

Tableau XVII: Différenciation génétique entre les isolats du sud et du nord du bassin cotonnier

Loci	F_{ST}	F_{IT}	Nm
MB_2	0,038	0,951	6,942
MB_5	0,011	0,975	22,95
MB_11	0,015	0,905	16,99
MB_13	0,017	0,341	14,81
MB_17	0,059	1	4,01
Moyenne	0,028	0,0835	13,02

F_{ST} : différenciation génétique ; **F_{IT}** : coefficient de fixation ; **Nm** : nombre moyen de migrants effectifs par génération.

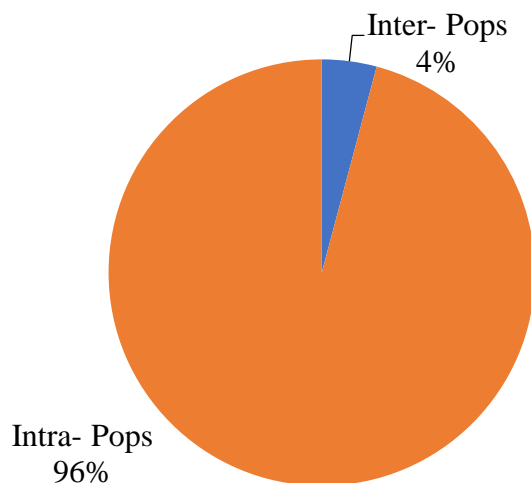


Figure 28 : Distribution de la diversité génétique des isolats collectés dans tout le bassin cotonnier de la Côte d'Ivoire

3.1.3.4. Structuration génétique des populations de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* étudiées

3.1.3.4.1. Analyse en coordonnées principales

La structure des populations de Fov a été établie par l'analyse en coordonnées principales (PCoA) (Figure 29). Les deux premiers axes représentent respectivement 24,24 et 15,31 % expliquant 39,55 % de la variation totale.

Par ailleurs, l'analyse de la figure (PCoA) indique une dispersion et un fort chevauchement des isolats du bassin nord et du bassin sud dans le plan factoriel.

Cette structuration des génotypes étudiés a été confirmée par l'arbre phylogénétique construit selon la méthode de jonction des voisins (*neighbor-joining*) (Figure 30).

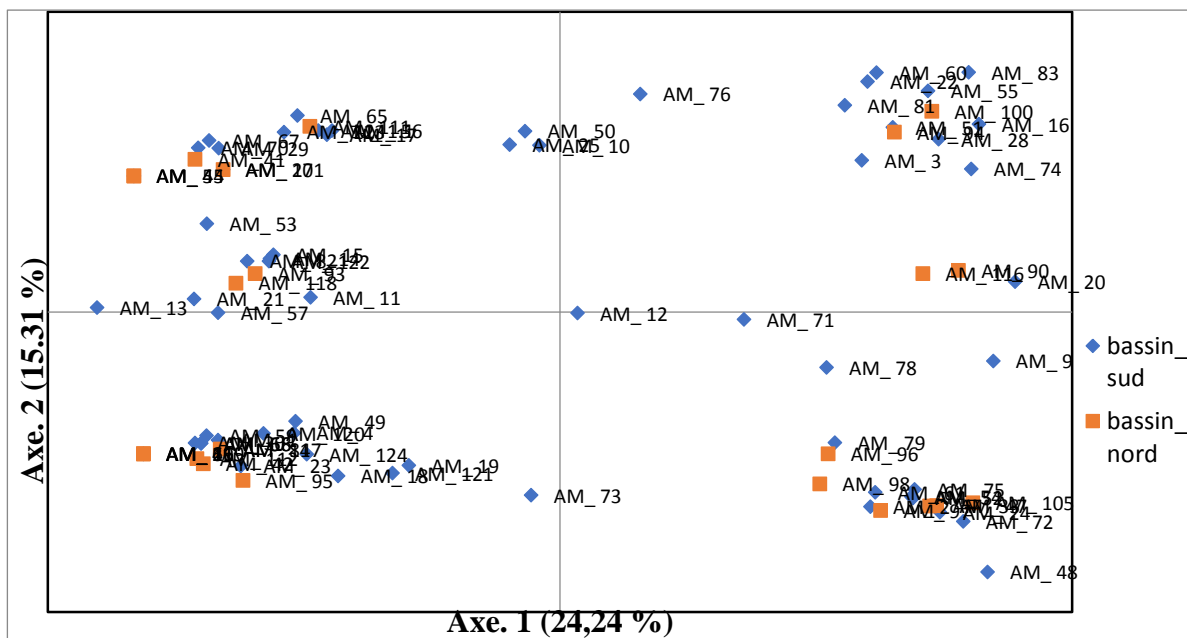


Figure 29: Structure des populations de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

Orange : isolats du bassin Nord ; bleu : isolats du bassin Sud.

3.1.3.4.2. Relation génétique entre les isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

La relation génétique des isolats de Fov échantillonnés dans tout le bassin cotonnier ivoirien a été réalisée à partir de la matrice de dissimilarité générée par le logiciel FreeNa. Un extrait de cette matrice de dissimilarité basée sur les fréquences des génotypes différents dans la population est présenté dans le tableau XVIII.

Le phylographe en forme radial généré a permis de montrer que trois (3) groupes génétiques se distinguent dans la population globale (Figure 30).

Les populations du sud et du nord du bassin apparaissent de manière dispersée dans le graphe. C'est-à-dire que les groupes obtenus ne sont pas spécifiques aux différentes populations. Le groupe génétique 1 est constitué de 24 isolats soit 27,27 % de la population totale, le groupe génétique 2 est composé de 18 isolats soit 20,45 % de la population étudiée et le groupe génétique 3 composé de plus de la moitié (52,27 %) des isolats de la population étudiée. Ces groupes sont composés aussi bien des isolats originaires du bassin sud comme que du bassin nord.

Tableau XVIII: Extrait de la matrice de dissimilarité génétique des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* collectés

	AM 28	AM 61	AM 48	AM 55	AM 24	AM 11	AM 66	AM 13	AM 4	AM 17	AM 122	AM 82	AM 74	AM 9
AM 28	0													
AM 61	11	0												
AM 48	15	12	0											
AM 55	12	15	19	0										
AM 24	19	12	8	15	0									
AM 11	19	20	16	19	16	0								
AM 66	19	16	16	19	16	12	0							
AM 13	19	20	20	19	20	8	8	0						
AM 4	19	16	16	19	16	8	8	12	0					
AM 17	19	20	20	15	20	8	12	8	12	0				
AM 122	15	20	20	15	20	12	12	12	12	12	0			
AM 82	19	20	20	15	20	12	12	12	12	8	12	0		
AM 74	19	20	20	19	20	12	12	12	12	8	12	12	0	
AM 9	10	19	11	14	19	19	19	19	15	19	15	19	19	0

d'homogénéité des variétés est quasiment pareil pour l'isolat AM 47 à l'exception de la variété REBA B50 qui se détache du troisième groupe pour former un cinquième groupe.

Tableau XIX : Indice de rabougrissement moyen sur les variétés de cotonnier après inoculation avec deux isolats

Variétés	IR AM 16	IR AM 47
CI 128	44,10±7,39 ^a	30,55±18,97 ^a
Y 331 BIt	76,93±8,19 ^{bc}	41,39±3,68 ^{ab}
MAC-NAIR 1032	74,65±29,74 ^{bc}	46,69±8,99 ^{ab}
MCU 5	82,81±9,98 ^{bc}	53,41±12,69 ^{ab}
W766A	98,90±1,89 ^c	67,55±19,36 ^{bc}
REBA B50	59,42±12,79 ^{ab}	87,48±4,00 ^{cd}
CI 123	100,00±0,00 ^c	100,00±0,00 ^d
Moyenne	76,68±22,20	61,01±26,00
Probabilité	0,002	< 0,001
CV%	28,95	42,61

Pour chaque moyenne les valeurs portant les mêmes lettres (a, b, c, d) dans la même colonne sont statistiquement identiques au seuil de 5 %

3.1.4.1.2. Indice de flétrissement

L'indice de flétrissement moyen a varié d'un isolat à l'autre et d'une variété à l'autre (Tableau XX). L'analyse statistique a révélé une différence significative pour ce paramètre entre les variétés et les isolats. L'indice de flétrissement des plants inoculés a varié de 29,66 à 58,44 pour l'isolat AM 16 et de 24,88 à 52,66 pour l'isolat AM 47. Comparativement à l'indice de rabougrissement, les variétés W766A et CI 123 ont eu des indices de flétrissement élevés (supérieur à 50) pour les deux isolats. Les variétés Y331 BIt et W766A ont obtenu les indices de flétrissement les plus élevés respectivement pour les isolats AM 16 et AM 47. La variété REBA B50 a donné le plus faible indice pour l'isolat AM 16 et la variété CI123 pour l'isolat AM 47. Par contre, les indices de flétrissement des variétés CI123 et W766A sont sensiblement les mêmes pour les deux isolats. Les isolats AM 16 et AM 47 sont très virulents sur 3 variétés dont W 766A, CI 123 à l'exception de la variété Y331 BLT pour l'isolat AM 16 et la variété MCU 5 pour l'isolat AM 47 qui ont donné des valeurs élevées. Les symptômes de flétrissement apparaissaient de façon progressive et envahissaient toute la plante pour les variétés de coton les plus sensibles (Figure 31).

Le test d'homogénéité de Fisher a permis de regrouper les 7 variétés testées en trois classes de sensibilité suivant l'échelle de notation adoptée. Les variétés ayant un indice de flétrissement inférieur ou égal à 30 (flétrissement faible) sont rangées dans la classe T (Tolérante); les variétés avec un indice de flétrissement compris entre 30 et 50 (flétrissement intermédiaire) sont rangées dans la classe I et les variétés avec un indice de flétrissement supérieur à 50 (flétrissement important) sont rangées dans la classe S (Sensible) (Tableau XX).

Les 7 variétés de cotonniers testées ont révélé une sensibilité à la fusariose avec des réactions différentes aux 2 isolats (Figure 31). Les isolats ont montré des niveaux de symptômes différents sur les variétés testées. Les variétés CI128, MAC-NAIR 1032 et REBA B50 sont moins sensibles aux deux isolats AM 16 et AM 47.

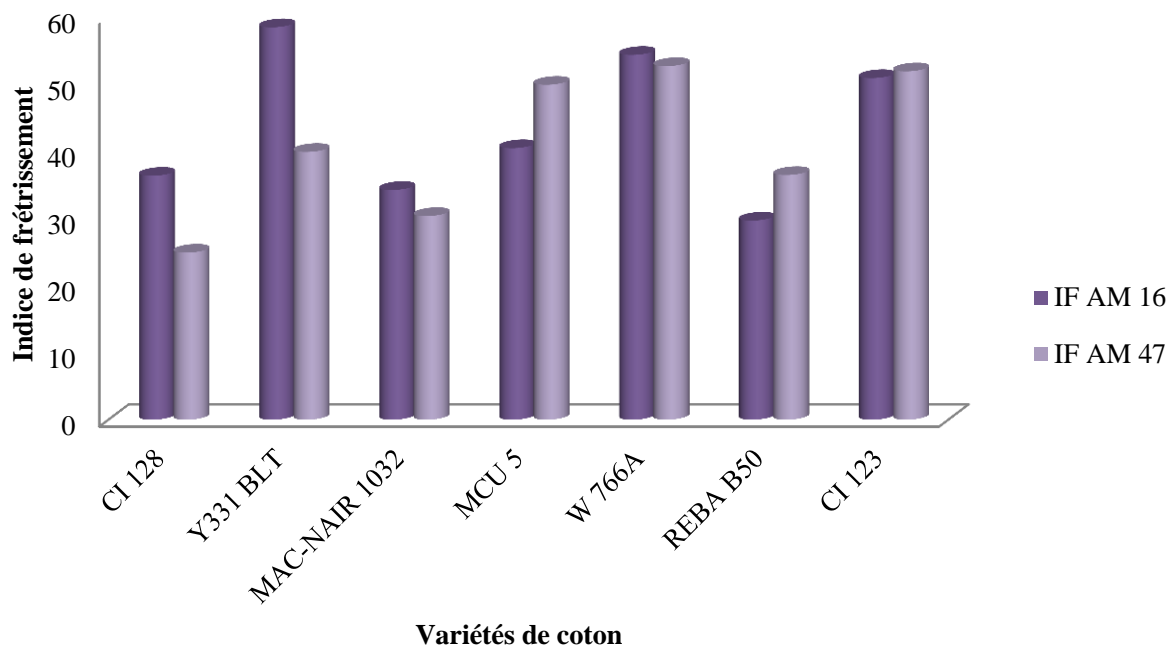


Figure 31: Flétrissement moyen de sept variétés de cotonnier observé 14 jours après inoculation avec les isolats AM 16 et AM 47

Tableau XX: Indice de flétrissement moyen sur les variétés de cotonnier après inoculation avec deux isolats

Variétés	IF AM 16	Classe de résistance	IF AM 47	Classe de résistance
CI 128	36,33±3,38 ^{ab}	I	24,88±6,76 ^a	T
Y 331 Blt	58,44±15,86 ^b	S	39,88±5,31 ^{ab}	I
MAC-NAIR 1032	34,22±8,02 ^{ab}	I	30,00±10,21 ^a	T
MCU 5	40,44±10,55 ^{ab}	I	49,88±9,99 ^b	I
W766A	54,33±8,98 ^b	S	52,66±9,55 ^b	S
REBA B50	29,66±7,00 ^a	T	36,44±3,24 ^{ab}	I
CI 123	50,88±4,82 ^{ab}	S	51,88±5,35 ^b	S
Moyenne	43,47±13,00		40,85±12,25	
Probabilité	0,011132		0,002319	
CV%	29,90		29,98	

Pour chaque moyenne les valeurs portant les mêmes lettres (a, b, c,d) dans la même colonne sont statistiquement identique au seuil de 5 %. IF= Indice de flétrissement ; S= sensible ; T= tolérante ; I= intermédiaire

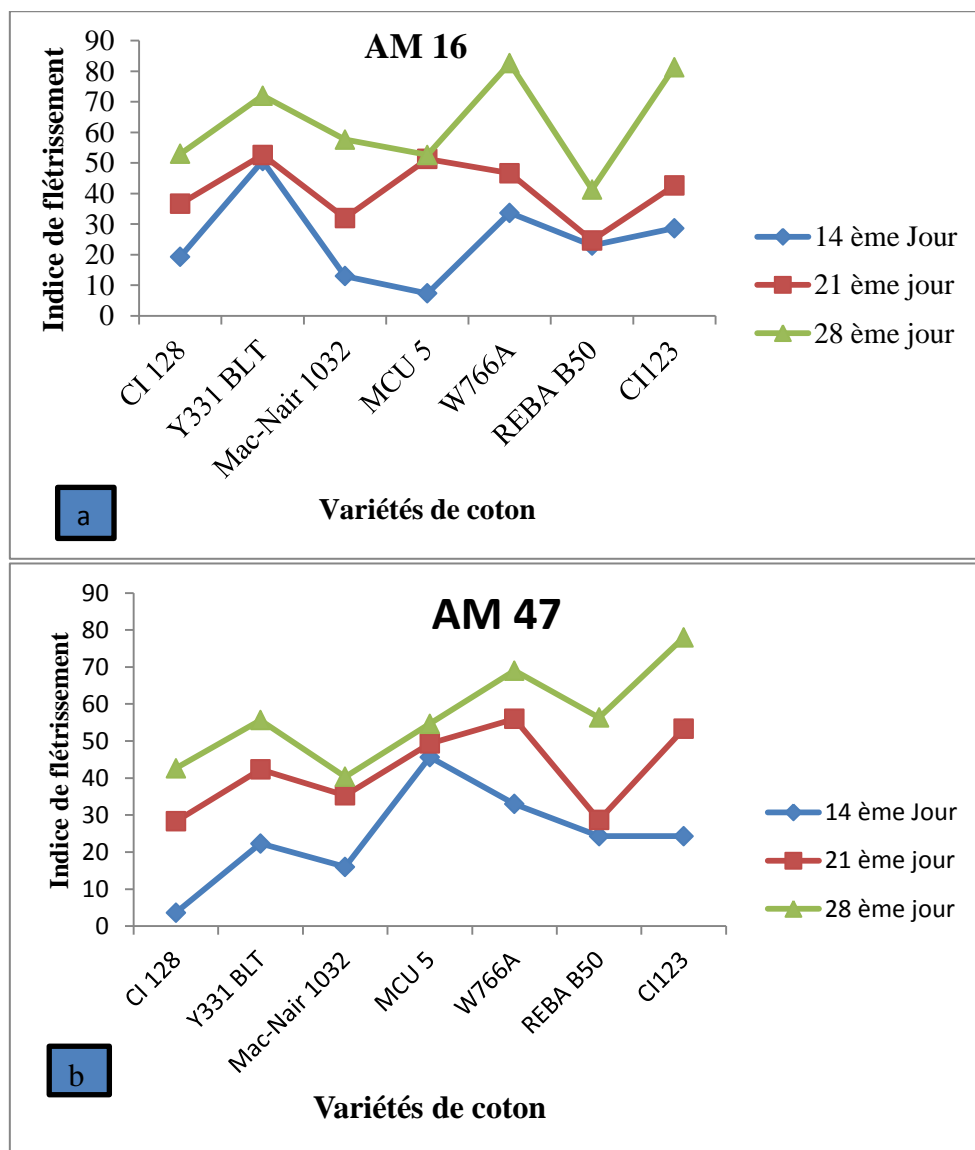


Figure 32: Evolution de l'indice de flétrissement sur les variétés de cotonnier après inoculation

a : isolat AM 16 ; b : isolats AM 47

L'analyse de l'interaction entre l'indice de rabougrissement et l'indice de flétrissement a révélé une corrélation entre ces deux paramètres pour toutes les variétés testées. En effet, l'analyse a indiqué une forte corrélation positive et significative entre les deux paramètres pour les deux isolats AM 16 et AM 47 respectivement $r = 0,66$ et $r = 0,77$.

3.1.4.2. Diversité génétique des variétés de cotonnier

Dans la littérature, des marqueurs moléculaires associés à la résistance à la fusariose issus de différents génotypes ont été décrits. L'on a voulu étudier la variabilité allélique, aux loci déterminés par ces marqueurs, au sein d'un panel de génotypes ivoiriens. Cette variabilité allélique sera par la suite mise en lien avec la réponse à l'inoculation avec des isolats de Fov de ces génotypes pour la validation de marqueurs moléculaires.

3.1.4.2.1. Diversité intrapopulation

Les loci microsatellites ciblés ont permis de montrer l'existence d'une importante diversité génétique au sein des variétés de coton. Soixante-onze (71) allèles ayant des fréquences variables ont été détectés dans toute la population étudiée (Tableau XXI). Le nombre moyen d'allèles par locus est de 3,22 pour la population globale.

En considérant les populations et l'ensemble des marqueurs étudiés, 40 allèles ont été obtenus dans la population I, 37 allèles ont été obtenus dans la population II, tandis que 36 allèles ont été obtenus dans la population III. Le grand nombre d'allèle (67) est obtenu pour la population IV. Les 22 marqueurs utilisés dans cette étude ont été polymorphes avec un taux moyen de polymorphisme de 82,91 %.

Le nombre d'allèle efficace (N_e) a varié de 1,66 dans la population III à 2,51 pour la population I ; avec une moyenne de $2,1 \pm 0,084$ pour tous les loci et pour toute la population. L'hétérozygotie observée (H_o) dans la population globale a été de $0,504 \pm 0,047$. La plus petite valeur d'hétérozygotie observée ($H_o = 0,375$) est obtenue dans la population I, et la plus grande ($H_o = 0,568$) dans la population III. Dans l'ensemble des quatre populations, l'hétérozygotie moyenne attendue (H_e) est de $0,446 \pm 0,025$, avec un indice de fixation (F_{IS}) de $-0,096 \pm 0,081$. Ce qui traduit un excès d'individus hétérozygotes de 9 % dans l'ensemble de la population globale. Les populations I et IV ont enregistré des F_{IS} de 0,435 et 0,123 respectivement. Tandis que les populations II et III ont enregistré des F_{IS} de -0,547 et -0,790 respectivement. L'indice de diversité de Shannon (I) a varié de 0,461 à 0,947 avec une moyenne de $0,716 \pm 0,044$ (Tableau XXI).

Tableau XXI: Nombre d'allèles et fréquences alléliques obtenues dans les différentes populations pour les marqueurs SSR utilisés

Marqueurs	Allèles	I (N=4)	II (N=2)	III (N=2)	IV (N=8)
CIR_017	144	1,000	1,000	0,750	0,375
	145	0,000	0,000	0,000	0,500
	146	0,000	0,000	0,250	0,00
	Na	3	1	1	2
CIR_202	186	0,000	0,000	0,000	0,250
	193	1,000	1,000	1,000	0,750
	Na	2	1	1	1
JESPR_220	145	1,000	1,000	1,000	0,750
	163	0,000	0,000	0,000	0,250
	Na	2	1	1	1
MUCS_616	230	0,000	0,000	0,000	0,125
	233	1,000	1,000	1,000	0,875
	Na	2	2	1	1
BNL_3932	248	0,000	0,000	0,000	0,375
	254	0,000	0,500	0,000	0,000
	258	1,000	0,500	1,000	0,625
	Na	3	1	2	1
DPL_0562	152	0,375	0,500	0,500	0,375
	154	0,500	0,000	0,000	0,188
	156	0,000	0,250	0,500	0,250
	158	0,000	0,000	0,000	0,125
	160	0,125	0,250	0,000	0,063
	Na	5	3	3	2
BNL_0834	162	0,000	0,000	0,000	0,250
	164	0,500	0,000	0,000	0,000
	166	0,500	1,000	1,000	0,750
	Na	3	2	2	1
NAU_3901	245	0,175	0,500	0,500	0,313
	253	0,000	0,000	0,000	0,188
	257	0,375	0,500	0,500	0,438
	286	0,000	0,000	0,000	0,063
	Na	4	2	2	2
CIR_267	102	0,125	0,000	0,000	0,063
	104	0,375	0,500	0,500	0,438
	111	0,500	0,500	0,500	0,375
	120	0,000	0,000	0,000	0,125
	Na	4	3	2	2
JESPR_0304	131	0,000	0,000	0,000	0,063
	138	0,000	0,000	0,000	0,188
	157	0,000	0,000	0,000	0,125
	161	1,000	1,000	1,000	0,625
Na	4	1	1	1	4

Tableau XXI: Nombre d'allèles et fréquences alléliques obtenues dans les différentes populations pour les marqueurs SSR utilisés (Suite)

		292	0,000	0,000	0,000	0,375
HAU_1434		298	0,375	0,500	0,500	0,375
		304	0,625	0,500	0,500	0,250
	Na	3	2	2	2	3
MUSB_0639		339	0,375	0,500	0,500	0,625
		341	0,625	0,500	0,500	0,375
	Na	2	2	2	2	2
		156	0,375	0,500	0,500	0,750
MUSS_050		167	0,625	0,500	0,500	0,250
	Na	2	2	2	2	2
		226	0,500	0,500	0,500	0,250
		227	0,000	0,000	0,000	0,125
NAU_2503		228	0,000	0,000	0,000	0,125
		233	0,500	0,500	0,500	0,500
	Na	4	2	2	2	4
		200	0,500	0,500	0,500	0,500
BNL_2650		204	0,500	0,500	0,500	0,500
	Na	2	1	1	1	1
		263	0,000	0,000	0,000	0,125
		266	0,500	0,500	0,500	0,375
CIR_069		270	0,000	0,000	0,000	0,125
		272	0,500	0,500	0,500	0,375
	Na	4	2	2	2	4
		134	0,475	0,500	0,500	0,500
		142	0,150	0,500	0,250	0,250
		144	0,000	0,000	0,250	0,125
CGR_5150		155	0,000	0,000	0,000	0,063
		164	0,175	0,000	0,000	0,063
	Na	5	3	2	3	5
		226	0,375	0,500	0,500	0,313
		228	0,000	0,000	0,000	0,063
BNL_3359		230	0,000	0,000	0,000	0,125
		240	0,125	0,000	0,000	0,125
		242	0,500	0,500	0,500	0,375
	Na	5	3	2	2	5
		220	0,125	0,500	0,250	0,250
NAU_2816		224	0,875	0,500	0,750	0,750
	Na	2	2	2	2	2
		150	0,000	0,000	0,000	0,125
MUSB_0780		153	1,000	1,000	1,000	0,750
		154	0,000	0,000	0,000	0,125
	Na	3	1	1	1	3

Tableau XXI: Nombre d'allèles et fréquences alléliques obtenues dans les différentes populations pour les marqueurs SSR utilisés (Fin)

BNL_0358		144	1,000	1,000	1,000	0,750
		148	0,000	0,000	0,000	0,250
	Na	2	1	1	1	2
BNL_2569		176	0,250	0,500	0,500	0,375
		182	0,125	0,000	0,000	0,125
		184	0,000	0,000	0,000	0,188
		186	0,625	0,500	0,500	0,188
		188	0,000	0,000	0,000	0,125
	Na	5	3	2	2	5
	Np	22	22	22	22	22
P(%)	82,91	100	68	63,64	100	
TOTAL	71	40	37	36	67	

N : nombre d'individus ; Na : nombre moyen d'allèles ; Np : nombre de loci polymorphes

Tableau XXII: Valeur des Paramètres de diversité intra-population

Populations	N	Na	Ne	I	Ho	He	F_{IS}
Population I	4	2,864	2,512	0,934	0,375	0,564	0,435
Population II	2	1,818	1,773	0,520	0,545	0,358	-0,547
Population III	2	1,727	1,661	0,461	0,568	0,318	-0,790
Population IV	8	3,227	2,454	0,947	0,528	0,545	0,123

N : nombre d'individus ; Na : nombre moyen d'allèles ; Ne : nombre d'allèles effectifs ; I : indice de Shannon ; He : taux d'hétérozygotie attendue ; Ho : taux d'hétérozygotie observée ; F_{IS} : indice de fixation.

3.1.4.2.2. Diversité interpopulation

Le Tableau XXIII présente les valeurs des paramètres de diversité intra-population. La valeur de F_{IT} indique que l'hétérozygotie globale de la population est réduite à 17,6 % par rapport à ce qui serait attendu. La différenciation génétique moyenne entre les populations (F_{ST}) est de 0,138 ± 0,019. Cette valeur indique une différenciation génétique modérée entre les populations étudiées. Si l'on considère les loci individuellement, il ressort que sur les vingt-deux (22) marqueurs microsatellites utilisés, le F_{ST} le plus élevé (F_{ST} = 0,317) est obtenu avec les marqueurs BNL_0358 et JESPR_220 traduisant une différenciation génétique très importante. La plupart des marqueurs utilisés ont permis d'obtenir une différenciation génétique très importante (F_{ST} > 0,25).

Ce pendant, le nombre de migrant par génération entre les populations est de $N_m = 2,747$, ce qui indique un niveau relativement élevé de migration génétique entre les populations étudiées (Tableau XXIII).

L'analyse moléculaire de variance (AMOVA) a révélé que la variation génétique à l'intérieur des populations est significativement plus importante ($p < 0,001$) que celle obtenue entre les populations de cotonnier. La diversité intrapopulation occupe 97 % de la variabilité totale contre 3 % pour la diversité génétique interpopulation (Figures 33).

Tableau XXIII: Paramètres de diversité interpopulation estimés chez le cotonnier

Locus	F_{ST}	F_{IT}	N_m
CIR_017	0,205	0,798	0,969
CIR_202	0,172	1,000	1,200
JESPR_220	0,317	1,000	0,538
MUCS_616	0,146	0,640	1,462
BNL_3932	0,262	1,000	0,705
DPL_0562	0,099	-0,307	2,283
NAU_3901	0,125	-0,158	1,747
BNL_0834	0,238	1,000	0,800
BNL_3359	0,057	-0,447	4,173
CIR_267	0,049	-0,506	4,810
NAU_2816	0,090	-0,004	2,522
BNL_2569	0,078	-0,396	2,963
HAU_1434	0,084	-0,387	2,741
JESPR_0304	0,172	0,889	1,202
MUSB_0639	0,042	-0,577	5,667
MUSB_0780	0,145	0,726	1,471
MUSS_050	0,027	0,145	9,111
NAU_2503	0,051	-0,538	4,625
BNL_0358	0,317	1,000	0,538
BNL_2650	0,032	-0,684	7,667
CGR_5150	0,093	-0,119	2,424
CIR069	0,232	-0,192	0,827
Moyenne	0,138	0,176	2,747

F_{ST} : Indice de différenciation génétique; *F_{IT}* : Indice de fixation; *N_m* : Nombre de migrants par génération

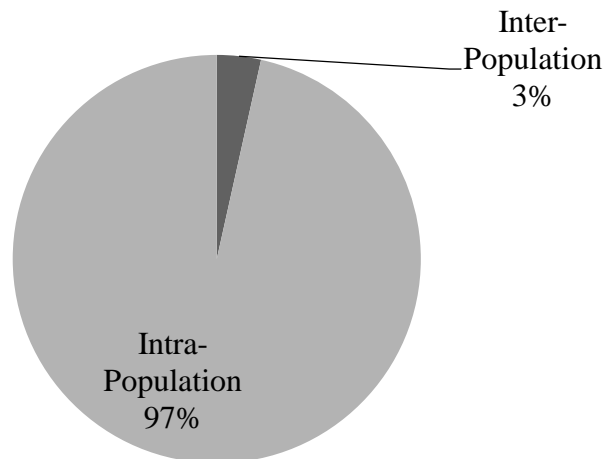


Figure 33: Distribution de la diversité génétique chez les variétés de coton

3.1.4.2.3. Structuration génétique entre les variétés de coton étudiées

❖ Analyse en coordonnées principale

La structure génétique des variétés de cotonnier a été établie par l'analyse en coordonnées principales (PCoA) (Figure 34). Les deux premiers axes représentent respectivement 37,58 et 21,92 % expliquant 59,5 % de la variabilité totale.

Cette analyse indique 3 groupes dans le plan factoriel. Le groupe 1 comprend des génotypes issus des quatre populations.

Le groupe 2 est composé uniquement d'individus issus de la population IV et le groupe 3 renferme des individus de la population I.



Figure 34: Structure des populations de cotonnier dans le plan factoriel de la PCoA

Losange bleu : sous-population I, Carré rouge : sous-population II; Triangle verte : sous-population III; Croix : population IV.

❖ Relation génétique des variétés de cotonnier

La relation génétique entre les variétés de cotonnier étudiées dans chaque population a été réalisée à partir des matrices de dissimilarité générées par le logiciel GenAlex (Tableau XXIV). L'arbre phylogénétique obtenu a montré que deux (2) groupes génétiques se distinguent clairement de la population. Le groupe 1 est composé des variétés Acala SJ5, Dixie king III, P 279, W766A, REBA B50, Y331 blt, CI 123, Coker 100Wilt, Mac-nair 1032, CI128 et ICA 17. Quant au groupe 2, il renferme les variétés Giza 69 et Pima S6. Ce pendant, les variétés MCU5 et ISA 205 sont isolées (Figure 35).

Tableau XXIV : Matrice de dissimilarité génétique des variétés de cotonnier génotypées

	ISA 205	GIZA 69	PIMA S6	Acala SJ2	Acala SY5	CI 123	CI 128	Coker 100 wilt	Dixie king III	ICA 17	Mac- nair 1032	MCU 5	P 279	Reba B50	W 766 A	Y331 blt
ISA 205	0															
GIZA 69	71	0														
PIMA S6	70	7	0													
Acala SJ2	73	44	50	0												
Acala SY5	68	42	48	12	0											
CI 123	67	46	52	15	9	0										
CI 128	70	47	53	19	16	16	0									
Coker 100 wilt	66	48	48	15	7	8	15	0								
Dixie king III	73	43	49	16	8	13	11	11	0							
ICA 17	68	40	46	21	12	16	17	15	16	0						
Mac- nair 1032	66	48	48	15	7	8	15	0	11	15	0					
MCU 5	58	46	52	30	30	25	30	31	25	36	31	0				
P 279	74	52	52	11	19	18	23	12	19	27	12	35	0			
Reba B50	67	47	47	14	8	9	14	1	10	16	1	30	11	0		
W 766 A	76	48	54	15	12	12	10	11	8	18	11	27	13	10	0	
Y331 blt	68	44	50	14	4	7	13	5	6	10	5	27	17	6	10	0

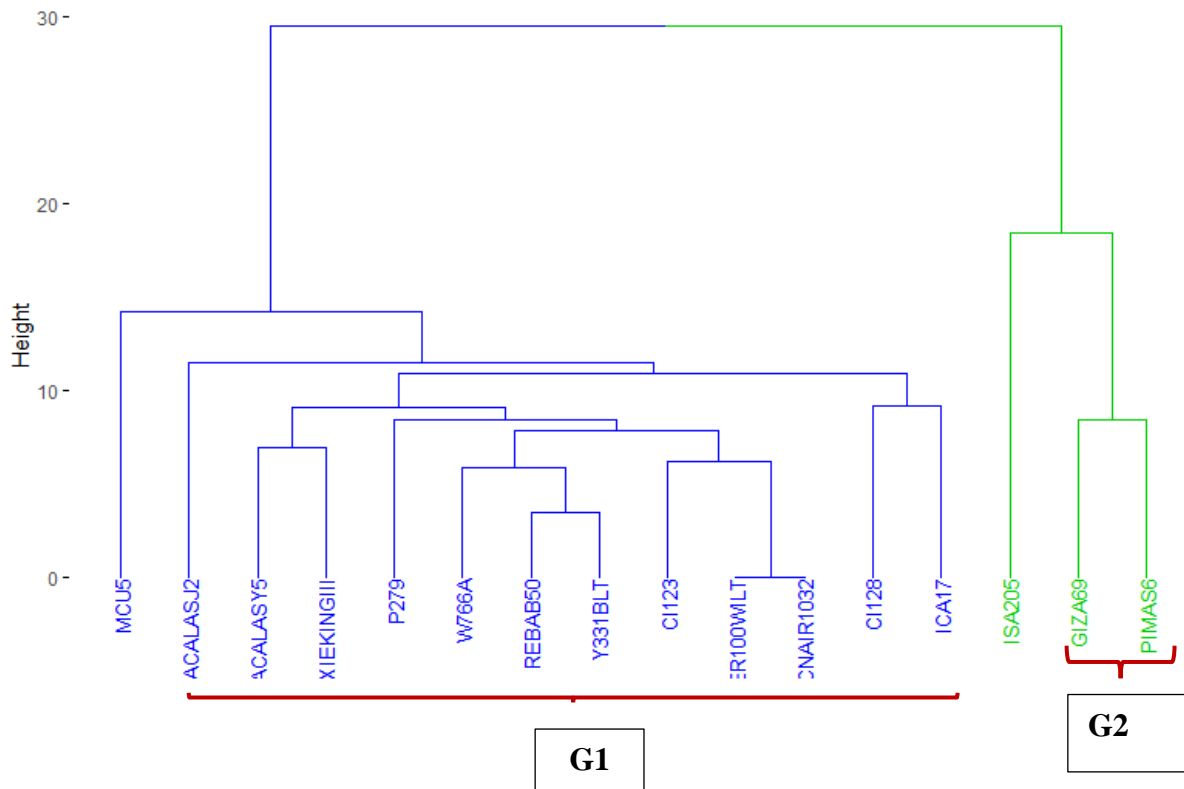


Figure 35: Dendrogramme selon la méthode Neighbour Joining montrant la structure génétique des variétés de coton étudiées

3.1.4.3. Relation entre la variabilité allélique et la réponse à l'inoculation

Les résultats ont concernés sept (7) variétés qui ont été inoculées et génotypées (CI 128, CI 123, Y331 Blt, MCU5, W766A, Reba B50 et Mac-Nair 1032). Dix (10) marqueurs polymorphes (taux de polymorphisme P =100 %) ont été considérés pour cette partie de l'étude (Tableau XXV).

L'objectif de cette analyse est d'associer la présence ou l'absence d'un allèle au phénotype tolérant ou sensible. Les résultats de cette association ont montré que toutes les variétés testées sont différentes de la variété MCU5.

La variété CI 128 qui est tolérante à la souche AM 47 à un allèle spécifique de taille 254 pb pour le marqueur BNL_3932. Bien que, la variété Mac-Nair 1032 ait été tolérante à la même souche, elle a présenté un allèle de taille différente (allèle 258). Les variétés CI 128 et W766A ont les mêmes allèles pour les marqueurs CIR_017 et DPL_0562. Cependant, la variété CI 128 est tolérante et la variété W766A est sensible.

De ce fait, ces deux marqueurs ne peuvent pas être associés à une éventuelle résistance ou tolérance qui pourrait être rencontrée au sein de ces accessions.

Tableau XXV: Résultats de génotypage avec les 10 marqueurs polymorphes sur les 7 variétés de cotonnier criblées

		MARQUEUR																					
		CIR_017		BNL_3932		DPL_0562			NAU_3901		BNL_0834		BNL_3359		CIR_267		NAU_2816		BNL_2569		CGR_5150		
		144	146	254	258	154	156	160	245	257	164	166	240	242	102	104	220	224	176	182	142	144	164
VARIETE	CI 123	144			258	154				257		166		242		104	220		176		142		
	CI 128		146	254				160	245			166		242		104	220		176		ND	ND	ND
	MAC NAIR 1032	144			258		156		245			166		242		104	220		176		142		
	REBA B50	144	146		258		156		245			166		242		104	220		176		142		
	W 766 A		146		258			160	245			166		242		104	ND	ND	176		142		
	Y331 BLT	144			258		156		245			166		242		104		224	176			144	
	MCU 5	ND	ND		258	154			ND	ND	164		240		102	104		224		182			164

3.2. DISCUSSION

Cette étude visait à contribuer améliorer la productivité du cotonnier en Côte d'Ivoire par l'identification de géotypes résistants dits de contournement des souches virulentes du *Fusarium oxysporum* f.sp. *Vasinfectum*, agent causal de la fusariose. Les objectifs spécifiques de cette étude sont (i) caractérisation morphologique des isolats de Fov collectés dans le bassin cotonnier ivoirien, (ii) caractérisation de la pathogénicité des isolats de Fov, (iii) détermination de la diversité génétique des isolats de Fov et (iv) identification de marqueurs du cotonnier associés à la résistance à la fusariose.

3.2.1. Caractéristiques morphologiques des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

Les progrès dans la sélection de cotonniers résistants au Fov ont été difficiles en raison de l'interaction complexe entre l'hôte, l'agent pathogène et l'environnement du sol. La résistance de l'hôte offre une meilleure opportunité de protéger l'industrie cotonnière des populations virulentes de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Fov). Cette résistance pourrait être introduite dans les cultures cotonnières en vue de contourner l'apparition des souches virulentes de Fov. La fréquence de présence de la fusariose vasculaire du cotonnier en Côte d'Ivoire évaluée dans cette étude montre que 67 % des parcelles infectées proviennent de la zone CIDT, 16 % de la zone COIC, 8 % de la zone Ivoire Coton, 7 % de la station de recherche coton et 2 % de la zone SECO. Ce résultat confirme la présence de la fusariose vasculaire du cotonnier en Côte d'Ivoire. En effet, les études menées par Abo (2006) avaient déjà montré l'existence de la fusariose vasculaire du cotonnier en Côte d'Ivoire principalement dans les zones CIDT, COIC et sur la station de recherche Coton.

Par ailleurs, une propagation continue vers des zones non traditionnellement touchées par la fusariose a été observée, notamment, les localités de Diawala et de Ouangolodougou, en zone SECO, au Nord. Cela pourrait s'expliquer d'une part par les échanges de semences, transport de végétaux contaminés et /ou du sol adhérent aux outils, véhicules ou chaussures, les eaux de ruissellements entre parcelles voisines et d'autre part par la présence naturelle des champignons dans le sol, les débris végétaux et résidus de cultures. En effet, selon ANSES (2018) une fois que le *Fusarium oxysporum* (Fo) est introduit et s'est établi dans une zone, sa dissémination est très probable et s'opère à des vitesses variables selon les modes de dissémination et la géographie du territoire.

De plus, les champignons présents naturellement dans le sol, les débris végétaux et résidus de cultures peuvent rester en dormance et se développer sous des conditions favorables (humidité, températures élevées) permettant ainsi la germination des spores et l'infection des plantes hôtes.

Cette capacité de survie dans le sol et la litière de débris est une stratégie clé pour la persistance et la propagation du pathogène (Ifo *et al.*, 2018). Ainsi, l'introduction ponctuelle du champignon dans une zone indemne peut entraîner une progression lente mais certaine de la maladie. La présence de ces agents fongiques est parfois amplifiée par les pratiques agricoles et les conditions climatiques favorables.

La présence de la fusariose vasculaire dans toutes les zones cotonnières, montre que ce champignon a des exigences assez souples vis-à-vis de la structure et la composition chimique du sol ainsi que les facteurs environnementaux. Il sévit aussi bien dans le sud que dans le nord du bassin cotonnier. La présence de la maladie, très prononcée en zone CIDT peut s'expliquer par différents facteurs: climat favorable à la fusariose et la sensibilité des variétés cultivées.

Plusieurs travaux ont montré que la virulence de *Fusarium* dépend des facteurs environnementaux (Dossa *et al.*, 2019) et climatiques (Brennan *et al.*, 2005). Selon Dossa et collaborateurs (2019), la fusariose est beaucoup plus fréquente dans les zones humides ayant des sols sablo-argileux présentant un excès d'azote. Par contre, les sols secs, pauvres en matières organiques sont moins favorables au développement du *Fusarium* (Ploetz, 2001). De même, les travaux de Konan et Mergeai (2007) ont montré que les variétés de coton influençant la multiplication de Fov sont principalement celles présentant une sensibilité accrue à ce pathogène, souvent en interaction avec d'autres facteurs comme les nématodes. En effet, les nématodes agissent comme facteurs facilitateurs de l'infection fongique en créant des portes d'entrée pour le *Fusarium* via leurs blessures d'alimentation ou de ponte et en une toxine qui altère la physiologie de la plante (Konan & Mergeai, 2007). De ce fait, la résistance des variétés de coton à la fusariose dépend de leur résistance aux nématodes.

Il ressort de cette étude que la fusariose du cotonnier est un champignon très cosmopolite; son aire de distribution est très vaste et l'on peut dire qu'elle recouvre toute la zone cotonnière ivoirienne. Outre la baisse de rendement, la fusariose affecte la qualité des fibres et des graines du coton, ce qui impacte la valeur commerciale de la récolte (N'Goran *et al.*, 2016). Ces conséquences économiques et agronomiques font de la fusariose une maladie majeure à surveiller et à contrôler dans les cultures cotonnières.

Après l'isolement de Fov, une variabilité des caractères morphologiques a été observée. Cette importante variabilité serait due à l'effet combiné de facteurs génétiques. Tigist *et al.*, (2023) ont également reconnues les composantes du génotype et de l'environnement comme les principales sources de variabilité sur la physiologie des génotypes.

Cette variabilité des caractères morphologique a aussi été constatée par plusieurs auteurs (Sedra, 2003 ; Kadri, 2008) qui ont remarqué que les isolats repiqués exhibent une certaine variabilité des caractères morphologiques. Aussi selon Djerbi *et al.* (1985) pensent que la variabilité des caractères morphologiques serait due à des mutations. En effet, les mutations favorisent l'acquisition d'une grande variabilité génétique chez ces champignons et facilitent ainsi la création de nouveaux arrangements au sein de leurs génomes. La forte variabilité de la souche de Fov observée dans cette étude devrait interpeller les parties prenantes sur la prise de mesures fermes de lutte contre la fusariose vasculaire du cotonnier, en l'occurrence la recherche et l'intégration de cultivars plus résistants à cette maladie.

La croissance mycélienne des isolats de Fov sur le milieu PDA a varié de 37,75 à 86 mm, sur MALT, elle a été de 35,66 à 86 mm. Quant à la croissance des isolats sur le milieu CDA, elle a varié de 33,91 à 86 mm. Cette variation de la croissance mycélienne pourrait s'expliquer par l'influence des facteurs nutritionnels qui diffèrent d'un milieu à un autre. En effet, Ansari *et al.* (2018), ont montré que la croissance fongique est fortement influencée par des facteurs comme la source d'azote, de carbone, l'acidité du milieu. Majumdar et Mandal (2018) ont aussi révélé dans leur étude que la croissance des champignons dépend en grande partie de la qualité du milieu sur lequel ils se développent. Le milieu joue un grand rôle dans les caractéristiques anatomiques, morphologiques et physiologiques des champignons. Alaoui *et al* (2022) ont quant à eux révélé que différents types de milieux influencent la croissance et la morphologie de la colonie, la pigmentation et la sporulation. Les résultats de cette étude sont en accord avec ceux de ces auteurs. La croissance du champignon varie en fonction des milieux de culture. Les résultats de l'expérimentation révèlent qu'après 8 jours d'incubation, le milieu CDA est plus favorable au développement mycélien de Fov. Les croissances maximales sont respectivement de 64,39 mm pour CDA, suivi de MALT 57 mm et PDA 56,11 mm. Le meilleur développement des isolats de Fov sur le milieu CDA s'expliquerait par la nature du sucre contenu dans ce milieu. En effet, le sucre contenu dans le milieu CDA est le saccharose, qui est essentiel au développement des isolats de Fov. Ces résultats corroborent ceux obtenus par Mechta *et al* (2015), qui révèlent que le milieu Czapeck-Dox induit une croissance radiale maximale de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.

Les résultats ont indiqué que toutes les sources de carbone utilisées favorisent la croissance des champignons. Par ailleurs, en plus de la source de carbone, d'autres éléments présents dans les milieux tels que l'azote, le phosphore, le soufre, les vitamines, les ions métalliques, le Fer et le Magnésium, sont nécessaires pour la croissance et le développement des champignons.

La sporulation des isolats de Fov dans cette étude a varié selon les isolats mais également selon les milieux de culture. Le milieu PDA s'est révélé favorable à la sporulation des isolats. Ce résultat est en phase avec ceux obtenus par Khan *et al* (2001) qui affirment que le milieu Potato Dextrose induit la production d'un maximum de spores par *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Ces auteurs ont constaté que les milieux de culture pourvus d'éléments organiques sont les plus favorables à la sporulation. Majumdar et Mandal (2018) ont avancé que la sporulation peut varier entre les isolats. Les travaux de Attrasi *et al.* (2005) ont également montré que le milieu PDA permet une bonne sporulation des champignons pathogènes de la pomme.

Les résultats obtenus indiquent que le *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* est capable de se développer et de sporuler, mais à des degrés variables.

3.2.2. Caractéristiques de la pathogénicité des isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

Les champignons phytopathogènes provoquent des maladies chez les plantes en pénétrant dans les tissus de l'hôte (Buonauro, 2008). La pathogénicité microbienne a souvent été définie comme les mécanismes par lesquels les micro-organismes pathogènes provoquent des maladies chez un organisme hôte (Baudart & Paniel, 2014). Les tests de pathogénicité des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* après trois répétitions montrent soit une absence ou une expression de flétrissement et de dessèchement sur les différents plants inoculés. Ces aspects des plants provoqués par les isolats de Fov sont typiques des symptômes de la fusariose sur les plants de cotonnier. En effet, selon l'un des postulats de Koch, un isolat associé à un symptôme sur l'hôte doit pouvoir produire le même symptôme après inoculation sur le même type d'hôte (Lucasson, 2018).

Les symptômes foliaires induits par *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* ont été observés 10 jours après inoculation. L'observation des symptômes de Fov 10 jours après inoculation pourrait s'expliquer par le fait que le champignon doit coloniser les tissus végétaux et franchir les mécanismes de défense de la plante avant de provoquer des dommages visibles.

Ces résultats sont identiques à ceux rapportés par Bekkar (2007), après inoculation de *F. oxysporum* f.sp. *Ciceris* Foc aux plantules de cotonnier sensibles et par Assouhoum *et al* (2016) chez des jeunes plantes de palmier à huile (*Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* Foe).

Ces agents pathogènes ont été également responsables de l'apparition du brunissement du pseudotrunc des plants de cotonnier à partir du 28^{ème} jour après inoculation. La plupart des isolats de Fov étudiés sont agressifs avec une variation du pouvoir pathogène des souches.

Cependant, les tests du pouvoir pathogène n'ont été effectués que sur une variété sensible W766A. L'agressivité des 24 isolats a été évaluée à partir de l'indice de Flétrissement (IF) et l'indice de Rabougrissement (IR). Trois classes de pathogénicité ont été obtenues à partir de ces deux indices. Cette variabilité de réponse pourrait s'expliquer par la différence de migration des spores à travers le système vasculaire, traduisant une différence d'intensité d'obstruction des vaisseaux et le type ou la quantité de toxines produites (Shi *et al.*, 1991 ; Shi *et al.*, 1992 ; Zhang *et al.*, 1993). En outre, le stade pendant lequel le plant de cotonnier est effectivement infecté pourrait expliquer cette variabilité (Amjad *et al.*, 2018).

Les valeurs très élevées de l'IR traduisent un déficit d'accroissement dû à la présence du champignon dans les vaisseaux de la plante pouvant induire un déficit de nutrition même si les feuilles demeurent, en partie, intactes. La variation du pouvoir pathogène au sein des isolats de Fov, comme démontrée, est bien documentée (Abd-Elsalam *et al.*, 2009). Bien que les isolats AM 9 et AM 116 de Fov aient été récupérés à partir d'un cotonnier infecté cultivé en plein champ, ils ne provoquent pas de maladie lorsqu'ils sont inoculés à des plantes sensibles. L'apparition de formes non pathogènes de *F. oxysporum* n'est pas rare (Gordon & Martyn, 1997).

Les corrélations positives traduisent une évolution des paramètres dans le même sens. Dans le cas contraire, les paramètres évoluent dans des sens opposés. En effet, la corrélation positive de la classe de pathogénicité et l'indice de flétrissement moyen montre que, plus l'indice de flétrissement est élevé, plus l'isolat est virulent. Ce qui implique qu'une souche pathogène classée comme plus agressive provoque mécaniquement un flétrissement plus sévère chez la plante hôte. De même, les corrélations positives des concentrations en spores sur les différents milieux avec les indices de flétrissement, de rabougrissement et la classe de pathogénicité traduisent que plus un isolat est virulent, plus il produit de spores et ses indices de flétrissement et rabougrissement sont très élevés. Ce qui traduit une dynamique épidémique dans laquelle la sévérité des symptômes et la croissance du pathogène s'auto-entretiennent.

Par ailleurs, la corrélation positive de l'indice de rabougrissement moyen (IR moyen) et l'indice de flétrissement moyen (IF moyen) montrent que plus la plante est atteinte, plus l'élongation de la tige est affectée. Ce qui traduit une forte agressivité du champignon et un impact sévère sur la santé globale de la plante.

Dans cette étude, des gènes codant pour les protéines sécrétées dans le xylème (SIX) associé à la pathogénicité des isolats de Fov ont été recherchés. Les protéines SIX1 et SIX9 qui sont présents au sein des races les plus virulentes de *F. oxysporum* (Jobe *et al.*, 2024) ont été détectées chez les isolats ivoiriens. Ces gènes ont déjà été détectés dans des souches du complexe d'espèces *F. oxysporum* isolées de plantes asymptomatiques présentes dans des environnements naturels (Rocha *et al.*, 2016 ; Jelinski *et al.*, 2017). Plusieurs études, ont démontré que les gènes SIX sont étroitement associés à la pathogénicité et peuvent être utilisés pour l'identification moléculaire et la différenciation en races des isolats de Fov (Czislowski *et al.*, 2021 ; Jenkins *et al.*, 2021). Parmi les 91 isolats ivoiriens de Fov, 25 ont présentés des gènes SIX. Ces analyses montrent que certains isolats ivoiriens présentent des séquences homologues à celle des gènes SIX9 et SIX1. Dans cette étude, 4 isolats AM 79, AM 2, AM 60 et AM 81 ont présenté un même profil avec l'expression unique du gène SIX 1. Ce résultat corrobore celui de Jobe *et al.* (2024). La présence du SIX 1 serait associée à la race tropicale 4 (TR4). En effet, selon Czislowski *et al* (2017) la stratégie d'identification des isolats TR4 reposait sur la présence exclusive de l'homologue de SIX1 dans TR4. Cette race est virulente pour les variétés de cotonniers dans tous les environnements (Ploetz, 2005). Parallèlement, le profil électrophorétique des isolats AM 90, AM 46, AM 116, AM 117, AM 3, AM 74 et AM 22 diffère de celui des premiers par la présence du SIX9 dans leur génome. Ceci pourrait traduire leur appartenance à la race subtropicale 4 (STR4). En effet, le profilage des souches, réalisé par Diaz *et al.* (2021) et Seo *et al.* (2020) sur les isolats 15-2J et 89-1A aux Etats-Unis indique que ces isolats de la classe STR4 ont été positifs uniquement au SIX9. Quatorze (14) autres isolats ont exprimés une co-détection de ces protéines effectrices. Ces observations suggèrent que SIX1 et SIX9 sont des marqueurs moléculaires caractéristiques des souches FOV4. Par ailleurs, l'effecteur SIX 9 serait associé à la virulence élevée des souches de Fov (Jobe *et al.*, 2024). Par conséquent, les quatorze (14) isolats positifs aux marqueurs SIX9 et SIX1 sont des souches hautement virulentes. Les isolats n'ayant pas présenté de gènes effecteurs SIX1 et /ou SIX 9 dans leurs génomes ne semblent pas posséder de séquences avec des homologies significatives. D'autres type d'effecteurs SIX devraient être testés avant de conclure sur l'absence ou non des gènes SIX.

3.2.3. Diversité génétique de la population de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

L'espèce *Fusarium oxysporum* f.sp. *Vasinfectum* est l'agent causal de la maladie la plus destructrice du cotonnier dans toutes les grandes régions de culture. Jusqu'à présent, aucun traitement efficace n'a été mis au point contre cette phytopathologie. Ce traitement nécessite la mise au point d'un protocole d'identification correcte de l'agent causal.

Pour la première fois en Côte d'Ivoire, l'étude de cette pathologie à partir de l'analyse moléculaire a été abordée. Cette étude a permis le génotypage des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* ivoirien avec des marqueurs microsatellites. Les cinq marqueurs microsatellites utilisés pour l'évaluation de cette diversité génétique se sont révélés très polymorphes avec un taux de polymorphisme de 100 %. Cela traduit l'efficacité de ces marqueurs pour une bonne distinction entre les génotypes étudiés. En effet, les marqueurs SSR sont universellement reconnus (Nadeem *et al.*, 2018) comme étant des marqueurs appropriés pour des études de la diversité génétique (Nadeem *et al.*, 2018 ; Ali *et al.*, 2019 ; Gautam *et al.*, 2022 ; Tahir *et al.*, 2022).

Une diversité génétique importante a été observée. Ainsi, cette diversité, traduite par la variabilité allélique et la présence d'allèle rare observée dans chacune des populations, pourrait être liée à plusieurs mécanismes de mutations. Ces changements créent plusieurs nouvelles versions de gènes en enrichissant le pool génétique. Leroy *et al.* (2024) ont montré que la mutation est l'un des principaux facteurs de la diversité génétique. Par ailleurs, dans la population de Fov étudiée, un déficit significatif en hétérozygote ($F_{IS} = 0,886$ et F_{IS} par population > 0) a été observé. Cela pourrait être dû au mode de reproduction des isolats. En effet, les champignons se développant par une reproduction clonale conduit à l'apparition de génotypes identiques, favorisant ainsi, un grand nombre d'individus homozygotes (Edel-Hermann *et al.*, 2019). L'espèce *F. oxysporum* présente une reproduction asexuée et ne présente pas de variation due à la recombinaison méiotique (Warnan & Aitken, 2018). Cette étude a révélé une faible diversité génétique entre les isolats du bassin nord et du bassin sud, traduite par une faible valeur de la différenciation génétique ($F_{ST}=0,028$). Cela indique que les mêmes souches circulent du nord au sud et vis-versa. Cette faible diversité entre les isolats de Fov est conforme aux études de Bogale et collaborateurs (2006). Ce résultat pourrait s'expliquer d'une part par l'activité humaine qui favorise le transfert des isolats d'une zone à une autre. Et d'autre part, par un flux de gène important (13,02) entre les deux zones du bassin cotonnier sensiblement proche. Ce flux d'échange génique tend à homogénéiser les populations et à réduire la différenciation génétique. En effet, selon Ronfort *et al.* (2005) plus le flux est important, plus les populations deviennent similaires génétiquement.

De plus, l'analyse de la structure génétique totale des populations de Fov a révélé une dispersion et un chevauchement des isolats de Fov.

La présence d'individus d'origines diverses au sein d'un même groupe pourrait être attribuée à la dynamique des populations humaines, qui pourrait transporter ces champignons ascomycètes d'un site à un autre. On pourrait également avancer que le regroupement génétique des individus n'est pas toujours corrélé positivement au regroupement géographique. En plus, les différences au niveau de la diversité et la structuration génétique de Fov entre les isolats du sud et du nord du bassin cotonnier peuvent provenir des introductions diverses des cultivars dans les régions, des sélections des agriculteurs, des facteurs biotiques et abiotiques et des variations du matériel génétique. De même, selon Hallast *et al* (2020), les limites des populations sont floues car elles dépendent de plusieurs facteurs comme la mobilité et le mode de reproduction des individus. Par conséquent, la variation génétique peut ne pas suivre strictement la répartition géographique.

3.2.4. Identification de marqueurs moléculaires associés à la résistance à la fusariose

L'identification des sources de résistances et l'intégration de la résistance génétique dans de nouveaux cultivars de cotonniers sont importantes pour lutter efficacement contre la fusariose vasculaire du cotonnier en Côte d'Ivoire. Les méthodes traditionnelles de sélection du matériel génétique pour la résistance à la fusariose prennent du temps. Elles nécessitent de l'espace pour la production de nombreux plants et sont dépendantes de la capacité à évaluer le caractère de résistance au champ. Si des marqueurs moléculaires liés aux gènes contrôlant la résistance à fusariose deviennent disponibles, ils pourraient fournir des stratégies de sélection plus efficaces.

Dans cette étude, les symptômes, caractéristiques de la fusariose vasculaire observés lors de l'inoculation sont similaires à ceux observés dans les champs de producteurs. A l'exception de la variété REBA B50 à l'inoculation de l'isolat AM 16 et des variétés CI 128 et Mac-Nair 1032 à l'inoculation de l'isolat AM 47, les autres variétés ont développé d'importants symptômes de flétrissement et de rabougrissement. Ces résultats ont montré une différence de comportement entre les variétés testées vis-à-vis de la fusariose, à des niveaux différents de sensibilité. La différence de réaction observée entre les isolats et les variétés étudiées indique l'existence d'interaction génotypes / isolats et montre l'existence de gènes de résistance isolat-spécifique.

En Côte d'Ivoire, les travaux de N'Guessan *et al.*, (2019) ont révélé différents niveaux de sensibilité au flétrissement parmi des variétés de tomate, allant de hautement sensibles au plus résistantes.

Les variétés W766A, CI 123 et Y331 BLT ont été sensibles à l'isolat AM 16 et les variétés W766A et CI123 à l'isolat AM 47. La variété REBA B50 a été tolérante à l'isolat AM 16 tandis que les variétés CI 128 et Mac-Nair 1032 à l'isolat AM 47. La différence de virulence observée entre les isolats peut s'expliquer par l'existence dans les champs, de différentes souches de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. La variation de la sensibilité observée au sein des variétés pourrait s'expliquer par les caractéristiques génétiques de chaque variété. Aussi, les interactions spécifiques entre isolat et variété pourraient être à l'origine de cette différence de sensibilité entre variété (Jaruwat, 2008).

Les microsatellites sont utilisés comme marqueurs génétiques. Ils se caractérisent par leur stabilité et leur variabilité individuelle. Ils correspondent à un emplacement strictement défini sur le génome, à un locus génétique et aussi à un système allélique (Nybom, 2004). Ces marqueurs sont codominants, neutres et très polymorphes du fait d'un taux de mutation élevé en moyenne d'environ 10^{-4} mutations par locus, par gamète et par génération (Rognon & Verrier, 2007). Le polymorphisme peut être détecté par des techniques de PCR standard sous forme de variation du nombre de répétitions entre les individus (Powell *et al.*, 1996). Les microsatellites sont donc des marqueurs multi-alléliques et hautement polymorphes (Ollivier *et al.*, 2004). Ils ont été largement adoptés pour l'analyse génétique des plantes (Agarwal *et al.* 2008). Chez le cotonnier, divers marqueurs moléculaires dont les SSR ont été utilisés pour étudier la diversité génétique, la sélection assistée par marqueurs et l'identification de locus à caractères quantitatifs (QTL) (Yu *et al.*, 2012 ; Tang *et al.*, 2015 ; Wang *et al.*, 2018 ; Kumar *et al.*, 2021). Des marqueurs SSR ont été utilisés dans la présente étude pour vérifier leur association à la résistance à la fusariose. Les loci microsatellites ciblés ont permis de montrer l'existence d'une variabilité génétique au sein des variétés génotypées. Les 22 marqueurs microsatellites utilisés pour l'évaluation de cette diversité génétique se sont révélés polymorphes avec un taux de polymorphisme de 82,91 %, traduisant ainsi la qualité de ces marqueurs. Le niveau de polymorphisme pour ces marqueurs était plus élevé que dans les études antérieures sur le coton utilisant différents marqueurs (Dahab *et al.*, 2013 ; Tyagi *et al.*, 2015 ; Bilval *et al.*, 2017).

La différence du nombre moyen d'allèles par locus entre ces variétés s'expliquerait par le type de matériel végétal échantillonné.

Les résultats sont conformes à l'étude de McCarty *et al* (2022) qui ont étudié la variation génétique parmi des variétés de coton en utilisant des marqueurs SSR. La diversité génétique de 22 collections de coton utilisant 30 marqueurs SSR a été étudiée par Javaid *et al* (2017), qui ont trouvé 3,72 allèles par locus. De même, Gurnessa (2019) a trouvé 3,8 allèles par locus dans des génotypes de coton. Aussi, Lacape *et al* (2007) et Zhang *et al* (2011) ont trouvé une moyenne de 5,5 allèles par locus, allant de 2 à 26 par locus. L'analyse moléculaire de la variance a révélé une diversité génétique intrapopulation supérieure (97 %) à la diversité interpopulation (3 %) et un indice de fixation négatif ($F_{IS} = -0,096$). La valeur négative de F_{IS} signifie que la population présente plus d'hétérozygotes, ce qui pourrait être lié à un brassage génétique important, concluant ainsi à une diversité génétique à l'intérieur des populations. Une différenciation modérée a été perçue entre les populations ($F_{ST} = 0,138$). Cette différenciation génétique modérée pourrait s'expliquer par l'utilisation de différents géniteurs par les sélectionneurs. Cependant $F_{IS} = -0,096$ indique un excès d'hétérozygotes dans la population par rapport à ce qui est attendu. Pour vérifier la relation au sein du matériel génétique de coton étudié, la structure de la population et le dendrogramme ont été utilisés. Deux groupes ont été définis à cet effet. Le groupe 1 constitué des individus des quatre populations indique que ces variétés sont génétiquement proches. Cette similitude est probablement due au fait que le même pool génétique a été utilisé à plusieurs reprises, ce qui conduit à une faible diversité génétique dans le matériel génétique disponible (Zhang *et al.*, 2011). Tyagi *et al* (2014) ont classé 381 génotypes de coton en cinq groupes à l'aide des marqueurs SSR. Khan *et al* (2009) ont utilisé des marqueurs SSR pour classer 40 génotypes en trois groupes.

Les résultats de l'association de la variabilité allélique avec la réponse à l'inoculation des isolats de Fov de ces génotypes ont révélé que les variétés testées sont différentes de la variété MCU 5. Dans cette même optique, les variétés CI128 et Mac-Nair 1032 qui se sont révélées tolérantes après inoculation à l'isolat AM 47 ne partagent pas le même allèle pour le marqueur BNL_3932. Seule la variété CI128 avait un allèle spécifique (254 pb) différents des autres génotypes. Il semble donc que les tolérances de ces deux variétés (CI128 et Mac-Nair 1032) n'ont pas le même déterminisme génétique. En effet, la variété Mac-Nair 1032 est issue d'un programme de sélection visant à combiner des résistances multiples, notamment à la bactériose et à la fusariose (Follin, 1988). Elle est issue de croisements réalisés avec les variétés Auburn 56 et Deltapine 15, avec une origine remontant aux années 1950-1960 aux Etats-Unis (Follin, 1988).

Par contre la variété CI128 est issue d'une réélection du programme de recherche sur le coton du CNRA utilisant les variétés Gouassou et Sicama qui sont d'origine ivoirienne. De plus, selon Lui *et al.* (2019), la résistance à la fusariose vasculaire est gouvernée par la mutation de plusieurs gènes tant chez la plante que chez le champignon.

L'étude actuelle a permis d'identifier un marqueur microsatellite potentiellement lié à un QTL majeur pour la réaction à la fusariose vasculaire du cotonnier causée par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. Si validé, ce marqueur microsatellite pourrait potentiellement être utilisé dans la sélection assistée par marqueurs pour la résistance. Les avantages de l'utilisation de la sélection assistée par marqueurs comprennent la facilité d'observation et de notation. Par ailleurs, le comportement des marqueurs ne dépendent pas du stade de croissance de la culture, de la saison, de la position géographique, des pratiques agronomiques ou des interactions génotype-environnement. Bien que les marqueurs microsatellites rapportés dans cette étude aient été utiles pour l'identification d'un QTL spécifique pour la résistance, ils pourraient également être utiles pour la recherche de nouvelles sources de résistance à la fusariose du cotonnier.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

❖ CONCLUSION

Le coton revêt une importance économique considérable en Côte d'Ivoire et dans l'agriculture mondiale, contribuant substantiellement aux recettes en devises de différents pays. Cette étude avait pour objectif général de contribuer à améliorer la productivité du cotonnier en Côte d'Ivoire par l'identification de génotypes résistants au *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, agent causal de la fusariose. De façon spécifique, il était question de connaître la distribution actuelle de la fusariose, de caractériser et étudier le pouvoir pathogène de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, d'analyser la diversité génétique des souches de *Fusarium* et d'identifier chez le cotonnier des marqueurs génétiques de la résistance à cette maladie.

Les prospections et les collectes de plants infectés, réalisées au cours de cette étude ont permis de connaître la distribution actuelle de la fusariose vasculaire du cotonnier en Côte d'Ivoire. Cette distribution a révélé une forte présence de la fusariose vasculaire dans tout le bassin cotonnier de Côte d'Ivoire, principalement dans la zone CIDT. Dans celle-ci, la maladie est présente dans quasiment tous les champs visités et se manifeste avec une forte intensité. Cette zone a enregistré 61 isolats soit 67 % de la collection, suivie de la zone cotonnière COIC avec 16 %. Dans la zone cotonnière SECO, deux isolats ont été identifiés. Ces résultats ont montré une forte présence de la fusariose au Sud du bassin cotonnier. Toutefois, une propagation continue de la fusariose vers des zones non traditionnellement touchées a été observée, notamment, les localités de Diawala et de Ouangolodougou, en zone SECO, au Nord.

La présence d'une importante hétérogénéité au sein des souches collectées a été observée. Une diversité au niveau de la pathogénicité des populations de l'agent pathogène *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* a été révélée. Trois (3) classes de pathogénicité ont été mises en évidence. La classe 1, composée de sept (7) isolats est la plus virulente. La classe 2 est composée de douze (12) isolats soit, 50 % des isolats de l'étude, avec une virulence intermédiaire. Enfin, la classe 3, composée de 5 isolats est moins virulente avec des indices de flétrissement et de rabougrissement moyens compris entre 0 et 22,33 et entre 18,66 et 32 respectivement.

Aussi, cette étude a montré une faible diversité génétique au sein des isolats de Fov du bassin cotonnier ivoirien. Cette faible diversité suggère que ces souches partagent une origine génétique proche, cela permet une gestion plus ciblée, prévisible et durable des populations pathogènes, réduit la complexité des interventions phytosanitaires, et limite enfin de compte les risques d'évolution rapide du pathogène. Quant à l'arbre phylogénétique, il a permis de montrer que trois (3) groupes génétiques se distinguent clairement dans la population. Le

groupe génétique 1 est constitué de 27,27 % de la population totale, le groupe génétique 2 est composé de 20,45 % de la population étudiée et le groupe génétique 3 composé de plus de la moitié (52,27 %) des isolats de la population étudiée. Ces groupes sont composés aussi bien des isolats originaires du bassin sud que du bassin nord. Il importe de surveiller la propagation de ces groupes, car le diagnostic racial a révélé la présence d'isolats porteurs du gène SIX 9, présent notamment dans les isolats considérés comme les plus virulents.

En ce qui concerne l'identification de marqueurs moléculaires associés à la résistance du cotonnier à la fusariose, un marqueur microsatellite BNL_3932 a été identifié comme potentiellement associé à la résistance de la fusariose chez la variété de cotonnier ivoirien CI 128 dont l'allèle de taille 254 pb semblent indicateur d'une tolérance. Le génotypage a mis en évidence une faible diversité génétique dans la population de cotonniers étudié. Par ailleurs, une réaction différentielle aux isolats a été observée lors du criblage des variétés.

Au terme de cette étude, il est recommandé d'attirer l'attention de toutes les parties prenantes, en vue de repenser leurs priorités et adopter des mesures sanitaires à même de freiner les actions du *Fusarium*, pour assurer une production durable du coton en Côte d'Ivoire. Il est également souhaitable de valider le marqueur BNL_3932 identifié, en vue de son intégration dans les programmes de sélection assistée. Enfin, la variété CI128 identifiée comme variété tolérante à la fusariose devrait être cultivée dans tout le bassin cotonnier ivoirien.

❖ PERSPECTIVES

Les résultats obtenus mettent en lumière l'intérêt de cette étude et appellent à réaliser des travaux supplémentaires qui consisteraient à :

- réaliser le séquençage de génomes complet des souches virulentes et sensibles de *Fusarium oxysporum* .f.sp. *vasinfectum* de Côte d'Ivoire
- évaluer au champ le niveau de résistance des variétés de cotonniers cultivées et des collections de ressources génétiques en conservation sur des parcelles infectées;
- réaliser des croisements avec la variété CI 128 et faire le criblage des F2 avec le marqueur BNL_3932 pour sa validation;
- élargir le panel de variétés de cotonniers à génotyper et utiliser des marqueurs SNP pour une étude d'association pangénomique des gènes de résistance.

REFERENCES

- Abd-El salam K.A., Roshdy S., Amin O.E. & Rabani M. (2009). First morphogenetic identification of the fungal pathogen *Colletotrichum musae* (Phyllachoraceae) from imported bananas in Saudi Arabia. *Genetics and Molecular Research*, 9(4) : 2335-2342.
- Abo K. (2006). Contribution à l'étude de la fusariose vasculaire du cotonnier, en Côte d'Ivoire : caractérisation de populations de l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vasinfestum* (Atk) Sn. & H. ; analyse des relations entre les facteurs de l'environnement des sols et l'expression de la maladie. Mémoire de thèse de Doctorat UFR Biosciences, Université de Cocody-Abidjan. (Abidjan, Côte d'Ivoire, 210 p.
- Abo K., Klein K.K., Edel-Hermann V., Gautheron N., Traore, D. & Steinberg C. (2005). High genetic diversity among strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfestum* from cotton in Ivory coast. *Phytopathology*, 95 : 1391–1396.
- Agarwal P.K., Karpicke J.D., Kang S.H.K., Roediger H.L. & McDermott K.B. (2008). Examining the testing effect with open- and closed- book tests. *Applied Cognitive Psychology*, 22 : 861-876.
- Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail (2018). Analyse de risque phytosanitaire (ARP) portant sur *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* pour les départements d'Outre-mer. Maisons-Alfort, 6 août 2018, 80 p.
- Agrios G.N. (2005). 5th Edition Academic Press, New York. 922 p.
- Aiwa A.D (2015). L'impact de la culture du coton sur le développement socio-économique : étude de cas de la région de Korhogo, au nord de la Côte d'Ivoire. *Européen Scientifique Revue*, 11(31) : 1857- 7881.
- Ajmal A. (2023). Amplified fragment length polymorphism PCR is a PCR-based tool used in genetics research, DNA fingerprinting and in the practice of genetic engineering : in short, AFLP is an intermediate stage between RFLP and PCR. *Biotech Reality*, 75 : 76-83.
- Alabouvette C., La Broise D., Lemanceau P., Couteaudier Y. & Louvet J. (1987). Utilisation de souches non pathogènes de *Fusarium* pour lutter contre les fusarioses: situation actuelle dans la pratique. *EPPO Bulletin*, 17: 665–674.
- Alabouvette C., Lemanceau P. & Steinberg C. (1993) Recent advances in the biological control of *Fusarium* wilts. *Pest Management Science*, 37: 365–373.
- Alaoui K., Chafik Z., Mikdame H., Saalaoui E., Khoulati A. & Kharmach E. (2022). Effets de différents milieux de culture sur la croissance et la conservation in vitro de *Phytophthora* infestans. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 10(2), 244-252.

- Ali I., Khan N.U., Gul S., Khan Z., Bibi K., Aslam G., Shabir H., Haq S., Aslam. & Hussain I. (2019). Genetic diversity and population structure analysis in upland cotton germplasm. *International Journal of Agriculture and Biology*, 22 : 669–676.
- Amani P.G.Y. (2002). Evaluation de l'efficacité des méthodes de lutte chimique et variétale contre la fusariose vasculaire et la virescence florale du cotonnier en Côte d'Ivoire. Mémoire de fin d'études. Diplôme d'Agronomie Approfondie. Ecole Supérieure d'Agronomie, Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny. (Yamoussoukro, Côte d'Ivoire), 79 p.
- Amjad M., Aafreen S. & Souliha R. (2018). Host-Pathogen interaction in *Fusarium oxysporum* infections: where do we stand ? *The American Phytopathological Society*, 31: 889-898.
- Ansari A., Khanzada M. A., Rajput M. A., Maitlo S., Rajput A.Q. & Ujjan A. (2018). Effect of different abiotic factors on the growth and sporulation of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose of mango. *Plant Protection*, 2(1) : 23-30.
- Antolín-Liovera M., Ried M.K., Binder A. & Parniske M. (2012). Receptor kinase signaling pathways in plant-microbe interactions. *Annual Review of Phytopathology*, 50 : 451-73.
- Armstrong G.M. & Armstrong J.K. (1981). Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In *Fusarium: Diseases, biology, and taxonomy*, edited by P. E. Nelson T.A. Toussoun and R.J. Cook. University Park and London: Pennsylvania State University Press : 391-399.
- Armstrong G.M., Hawkins B.S. & Benett C.C (1942). Cross inoculation with isolates of fusaria from cotton, tobacco and certain other plants subject to wilt. *Phytopathology*, 32 : 685-698.
- Assigbetsé K. (1989). Etude de la variabilité spontanée chez le *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. et H., agent causal de la fusariose du cotonnier. Mémoire pour l'obtention du DIAT. Centre national d'études agronomiques des régions chaudes. Ecole supérieure d'agronomie tropicale de Montpellier (France), 20 p.
- Assigbetse K. B. (1988) - Etude de la variabilité intraclonale du pouvoir pathogène et de la morphologie dans la descendance par microconidies de trois isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* agent causal de la fusariose du cotonnier. Mémoire DAT ESAT CNEARC (1987-1988), 62 p.
- Assohoun A.L.W., Gogbé F.B.D., Diabaté S., Konan N.J., Djè M.K., De Franqueville H. & Tanoh H. (2016). Expression de la fusariose latente chez les jeunes plantes de palmier à

- huile (*Elaeis guineensis* jacq) inoculées avec *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Foe). *Journal of Applied Biosciences*, 102 : 9716-9722.
- Attrassi K., Selmaoui K., Ouazzani Touhami A., Badoc A. & Douira A. (2005). Biologie et physiologie des principaux agents fongiques de la pourriture des pommes en conservation et lutte chimique par l'azoxystrobine. *Bulletin of the Bordeaux Pharmaceutical Society*, 144 : 47-62.
- Ayukawa Y., Hanyuda S., Fujita N., Komatsu K. & Arie, T. (2017). Novel loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay with a universal QProbe can detect SNPs determining races in plant pathogenic fungi. *Scientific Reports*, 7: 4253.
- Baayen R.P., Förch M.G., Waalwijk C., Bonants P.J.M., Löffler H.J.M. & Roebroeck E.J.A. (1998). Pathogenic, genetic and molecular characterisation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lilii*. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 887– 894.
- Baayen R.P., O'Donnell K., Bonants P.J.M., Cigelnik E., Kroon L.P.N.M., Roebroeck E.J.A. & Waalwijk C. (2000). Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and non-monophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. *Phytopathology*, 90 : 891 - 900.
- Babic M.N., Zalar P., Ženko B., Schroers H.J., Džeroski S. & Gunde-Cimerman N. (2015). *Candida* and *Fusarium* species known as opportunistic human pathogens from customer-accessible parts of residential washing machines. *Fungal Biology*, 119 : 95– 113.
- Badiane D., Gueye M.T., Emile V.C. & Ousmane F. (2015). Gestion intégrée des principaux ravageurs du cotonnier au Sénégal en Afrique occidentale. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5) : 2654-2667.
- Balagoula P., Ganesh C.T., Kotari P., Rathinavelu R. (2023). Wilt and gummosis disease of subabul caused by *Fusarium equiseti*-a first record from India. *New Disease Reports*, 48, e12227.
- Balaresque P. (2007). Les microsatellites des génomes eucaryotes : De leur cycle de vie et de leur neutralité. *Médecine Sciences*, 23 : 729-734.
- Basset T.J. (2002). Le coton des paysans: une Révolution Agricole en Côte d'Ivoire (1880-1999), IRD Editions: Paris, 293 p.
- Baudart J. & Paniel N. (2014). Sources et devenir des micro-organismes pathogènes dans les environnements aquatiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 459 : 29-39.

- Bekkar A.A. (2007). Variabilité de la morphologie et du pouvoir pathogène de riz au laboratoire. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Science de la Vie*, 30 : 13-18.
- Ben Freha F., Benyeless M. & Merzoug A. (2010). La fusariose vasculaire du pois chiche (*Cicer arietinum L*) dans le nord ouest algérien : extension et dégâts. 1^{er} séminaire National sur la protection des plantes cultivées, Centre Universitaire de Khemis Miliana, Institut des Sciences de la Nature et de la terre, 62 p.
- Benhamou N., Garand C. & Goulet A. (2002) Ability of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 to induce resistance against *Pythium ultimum* infection in cucumber. *Applied and Environmental Microbiol*, 68 : 4044– 4060.
- Benhamou N. & Rey P. (2012). Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable: II. Intérêt des SDN en protection des cultures. *Phytoprotection*, 92 : 24-35.
- Benslimane H. (2016). Les méthodes moléculaires pour la caractérisation des champignons phytopathogènes. *European Scientific Journal*, 12(24) : 234-243.
- Berg E.E. & Hamrick J.L. (1997). Quantification of genetic diversity at allozyme loci. *Canadian Journal of forest Research*, 27 : 415-424.
- Berti F., Hofs J. L., Zagbaï H.S. & Lebailly P. (2006). Le coton dans le monde, place du coton africain et principaux enjeux. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 10(4) : 271–280.
- Berti F., Pabanel J.P., Canal-Forgues E., Amani C.P., Banba S. & Séry Z.H. (2006). Elaboration d'une stratégie sectorielle coton : perspective et moyen à long termes. Diagnostic et propositions d'orientation. Côte d'Ivoire rapport diagnostic final. Contrat cadre BENEFL-Lot N°1, lettre de contrat N° 2006/120466-Version 1, 36 p.
- Bevilacqua A., Sinigaglia M. & Corbo M. (2013). Ultra sound and antimicrobial compounds: a suitable way to control *Fusarium oxysporum* in juices. *Food and Bioprocess Technology*, 6 : 1153–1163.
- Beyer M., Röding S., Ludewig A. & Verreet J.A. (2004). Germination and survival of *Fusarium graminearum* macroconidia as affected by environmental factors: germination and survival of *Fusarium graminearum*. *Journal of Phytopathology*, 152 : 92-97.
- Bilval B.B., Vadodariya K.V., Rajkumar B.K. & Lahane G.R. (2017). Genetic diversity of parents using RAPD, ISSR and SSR molecular markers in upland cotton (*Gossypium hirsutum L.*). *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 6 : 51-57.

- Bishop C.D. & Cooper R.M. (1983). An ultrastructural study of vascular colonization in three vascular wilt diseases. I. Colonization of susceptible cultivars. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 23 : 323–343.
- Bogale M., Wingfield B.D., Wingfield M.J. & Steenkamp E.T. (2005). Simple sequence repeat markers for species in the *Fusarium oxysporum* complex. *Molecular Ecology Notes*, 5 : 622-624.
- Boller T. & Felix G. (2009). A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology*, 60 : 379–406.
- Booth C. (1971). The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 237 p.
- Bouchaud C. (2020). La culture du coton en région désertique. *Les nouvelles de l'archéologie*, 161 : 55-60.
- Bourelly J. (1990). Développement des cotonniers sans gossypol comme plante vivrière, aspects technologiques et nutritionnels. *Sciences des aliments*, 10 : 485-514.
- Brennan J.M., Egan D., Cooke B.M. & Doohan F.M. (2005). Effect of temperature on head blight of wheat caused by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*. *Plant Pathology*, 54 : 156-160.
- Brévault T., Badiane D., Goebel R., Renou A., Téréta I. & Clouvel P. (2019). Repenser la gestion des ravageurs du cotonnier en Afrique de l'Ouest, Article- *Cahiers Agricultures*, 8 p.
- Buonaurio R. (2008). Infection and plant defense responses during plant-bacterial interaction. *Plant-Microbe Interactions*, 21 : 169-197
- Burgess L.W. (1981). General ecology of the Fusaria. In, *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*, pp 225–235. P. E. Nelson, T. A. Toussoun, and R. J. Cook, eds. The Pennsylvania State University Press, University Park, (London), 241 p.
- Campbell C.K., Johnson E.M. & Warnock D.W (2013). Identification of Pathogenic Fungi, Second Edition. *Blackwell Publishing Ltd*, 2 : 161-176
- Caracuel Z., Martínez-Rocha A.L., Di Pietro A., Madrid M.P. & Roncero M.I.G. (2005). *Fusarium oxysporum gas1* encodes a putative beta-1,3-glucanosyltransferase required for virulence on tomato plants. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 18 : 1140-1147.

- Caracuel Z., Roncero M.I.G., Espeso E.A., Gonzalez-Verdejo C.I., Garcia-Maceira F.I. & Di Pietro A. (2003). The pH signalling transcription factor PacC controls virulence in the plant pathogen *Fusarium oxysporum*. *Molecular Microbiology*, 48 : 765–779.
- Cauquil J. (1986). Maladies et ravageurs du cotonnier en Afrique au Sud du Sahara. *Coton et fibres tropicales*, 92 p.
- Cavana J.F (2002). Note Filière coton en Côte d’Ivoire, Agence AFD d’Abidjan : 1-24.
- Chabasse D., Bouchara J.P., De Gentile L, Brun S., Cimon B. & Penn P (2002). Les moisissures d’intérêt médical, cahier de formation en biologie médicale, 25 : 29-157.
- Chen C., Gong H. & PAaswell R. (2007). Role of the built environment on mode choice decisions: additional evidence on the impact of density, *Transportation* 35 : 285 – 299.
- Chen M., Liang X., Wen Y., Bai B.J., Huang M.L. & Gao W.M. (2007). [Fluid shear stress increases the Ca²⁺ concentration in bone-marrow derived osteoclast-like cells]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 25 : 412-423.
- Chen Q., Steinhaur L., Hammerlindl J., Keller W. & Zou J. (2007). Biosynthesis of phytosterolesters: Identification of a sterol O-acyltransferase in *Arabidopsis* 1[OA]. *Plant Physiology*, 45 : 974-984.
- Chiocchetti A., Sciaudone L., Durando F., Garibaldi A. & Migheli Q. (2001). PCR Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* on Basil. *Plant Disease*, 85 : 607-611.
- CNRA (Centre national de recherche agronomique) (2006). Bien produire du coton en Côte d’Ivoire, *Fiche technique coton n°1*, 4 p.
- CNRA (Centre national de recherche agronomique) (2024). Bien réussir la pollinisation manuelle chez le cotonnier *Fiche technique coton*, 2 p.
- CNRA (Centre national de recherche agronomique) (2025). Comment reconnaître et prévenir la fusariose en culture cotonnière? *Fiche technique coton*, 2 p.
- Constable G.A., Reid P.E. & Stiller W.N. (2007). Breeding for resistance to a new strain of fusarium wilt in Australia. Paper presented at the World Cotton Research Conference-4 Lubbock Memorial Civic Center, Lubbock, Texas, 10-14 September 2007, 9 p.
- Correll J.C. (1991). The relationship between *formae speciales*, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 81 : 1061-1064.
- Couteaudier Y. (1990). Quantitative comparison of *Fusarium oxysporum* competitiveness in relation to carbon utilization. *FEMS Microbiology Letters*, 74 : 261–267.
- Czislowski E., Fraser-Smith S., Zander M., O’Neill W.T., Meldrum R.A. & TranNguyen L.T.T. (2017). Investigation of the diversity of effector genes in the banana pathogen,

- Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, reveals evidence of horizontal gene transfer. *Molecular Plant Pathology*, 19 : 1155-1171.
- Czislowski E., Zeil-Rolfe I. & Aitken E.A.B. (2021). Effector profiles of endophytic *Fusarium* associated with asymptomatic banana (*Musa* sp.) hosts. *International Journal of Molecular Sciences*, 22: 2508-2519.
- Dababat A.E.F.A. & Sikora R.A. (2007). Induced resistance by the mutualistic endophyte, *Fusarium oxysporum* strain 162, toward *Meloidogyne incognita* on tomato. *Biocontrol Sciences and Technology*, 17 : 969-975.
- Dahab A.A., Saeed M., Mohamed B.B., Ashraf M.A., Puspito A.N., Shahid K.S.B.A.A. & Husnain T. (2013). Genetic diversity assessment of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes from Pakistan using simple sequence repeat markers. *Australian Journal of Crop Sciences*, 7(2) : 261-267.
- Dakouo D. (2012). Effets des types de sol et de la topographie sur l'absorption des ions K⁺ par le cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) dans les agro-systèmes soudano-sahéliens de l'Ouest du Burkina Faso. Mémoire de Doctorat, UFR des sciences de la terre et des ressources minières, Université Félix Houphouet-Boigny de Cocody, (Abidjan, Côte d'Ivoire), 288 p.
- Dakouo D. (1994). Les carences en potassium sur le cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) dans les systèmes de culture : Cas de la zone cotonnière ouest du Burkina Faso. Thèse de Doctorat, UFR Biosciences, Université nationale de Côte d'Ivoire, Abidjan (Côte d'Ivoire), 140 p.
- Davis R.D., Moore N.Y. & Kochman J.K. (1996). Characterization of a population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* causing wilt of cotton. *Australian Journal of Agricultural Research*, 47 : 1143-1156.
- Decoula S.C., Kouame B., N'goran E.K., Yao F., Ehounou J.N. & Soro N. (2018). Impact de la variabilité pluviométrique sur la saison culturale dans la zone de production cotonnière en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, 14: 143-159.
- Demers J.E., Garzón C.D. & Jiménez-Gasco M.D.M. (2014). Striking genetic similarity between races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* confirms a monophyletic origin and clonal evolution of the chickpea vascular wilt pathogen. *European Journal of Plant Pathology*, 139 : 309–324.

- Demers J.E., Gugino B.K. & Jiménez-Gasco M.D.M. (2015). Highly diverse endophytic and soil *Fusarium oxysporum* populations associated with field-grown tomato plants. *Applied and Environment Microbiology*, 81 : 81–90.
- Demol J. (1992). Connaissance de la plante. In : Cotonnier au Zaïre. Publication du service agricole N° 29, Administration générale de la coopération au développement, Bruxelles : 17-26.
- Demol J., Mergeai G., Hofs J.L. & N'dungu V. (1992). L'amélioration du cotonnier. In : Le cotonnier au Zaïre. Publication agricole n°29. Administration générale de la coopération du développement, Bruxelles, Belgique : 93-123.
- Di Pietro A., García-MacEira F.I., Męglecz E. & Roncero M.I. (2001) A MAP kinase of the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* is essential for root penetration and pathogenesis. *Molecular Microbiology*, 39 : 1140–1152.
- Di Pietro F., Génin A. & Botte F. (2003). La flore des bordures de champs en zone de grande culture : structuration et effet des facteurs agricoles et paysagers. *Symbioses* 8 : 49-54.
- Diaz J., Garcia J., Lara C., Hutmacher R.B., Ulloa M., Nichols R.L. & Ellis M.L. (2021). Characterization of current *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* isolates from cotton in the San Joaquin Valley of California and Lower Valley El Paso, Texas. *Plant Disease*, 105 : 1898-1911.
- Djerbi M. (1990). Méthodes de diagnostic du bayoud. *OEPP/EPPO Bulletin*, 20: 607-613.
- Djerbi M. Sedra M.H. & EL-Idrissi. A.M. (1985). Caractéristiques culturales et identification du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* agent causal du Bayoud. *Annales de l'Institut National de la recherche Agronomique de Tunisie*, 58 : 1-8.
- Djerbi M., Aouad L., El Filali H., Saaidi M., Chtioui A., Sedra M.H., NAllaoui M., Hamdaoui T. & Oubrich M. (1985). Preliminary results of selection of high quality Bayoud resistant clones among natural date palm population in Marco. In Proceedings of the Second Symposium on the Date Palm. (Saudi Arabia, Maroc) : 383-399.
- Doffou N.M. (2013). Impact de la gestion de la résistance aux pyréthrinoïdes sur les populations de *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrick, 1913) (Lepidoptera : tortricidae) et de *Pectinophora gossypiella* Saunders, 1843 (Lepidoptera : gelechiidae) en culture cotonnière en Côte d'Ivoire : de la sensibilité au mécanisme de résistance. Thèse de Doctorat UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 201 p.

- Dong J., Xiao X., Kou W., Qin Y., Zhang G., Li L., Jin C., Zhou Y., Wang J. & Biradar C. (2015). Tracking the dynamics of paddy rice planting area in 1986–2010 through time series Landsat images and phenology-based algorithms, *Remote Sens. Environment*, 160 : 99-113
- Dossa J.S., Togbe E.C., Pernaci M., Agbossou E.K. & Ahohuendo B.C. (2019). Effet des facteurs de l'environnement sur le *Fusarium* pathogènes des plantes cultivées. *International Journal of Biological and chemical Sciences*, 13(1) : 493-502.
- Ducène J-C. (2019). Le coton, sa culture et son utilisation selon les sources arabes médiévales. *Revue d'éthnoécologie*, Laboratoire Ecol-Anthropologie et Ethnobiologie (UMR 7206), 15: 2267-2419.
- Dugue P., Kone F.R., Kone G. & Akindes F. (2004). Production agricole et élevage dans le centre du bassin cotonnier de Côte d'Ivoire. *Cahiers Agricultures*, 13(6) : 504-509.
- Duyvesteijn R.G.E., van Wijk R., Boer Y., Rep M., Cornelissen B.J.C. & Haring M.A. (2005). Frp1 is a *Fusarium oxysporum* F-box protein required for pathogenicity on tomato. *Molecular Microbiology*, 57: 1051–1063.
- Edel-Hermann V., Gautheron N., Mounier A. & Steinberg C. (2015). *Fusarium* diversity in soil using a specific molecular approach and a cultural approach. *Journal of Microbiological Methods*, 111 : 64-71
- Edel-Hermann V. & Lecomte C. (2019). Current status of *Fusarium oxysporum* Formae speciales and races. *Phytopathology*, 109(4) : 512-530.
- Ellegren H. (2000). Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics* 16(12) : 551-558.
- Elsa Y. & Magdalena M.W. (2019). Cotton in ancient Sudan and Nubia. *Revue d'éthnoécologie*, 15 p.
- EU (Encyclopedia Universalis) (2019). Origines et principales caractéristiques du cotonnier <https://www.universalis.fr/encyclopedie/coton/1-origines-et-principales-caracteristiques-ducotonnier/>, 2019, 1 p. (consulté le 06 mars 2023).
- Faurie B., Cluz B. & Mérillon J.M. (2009). Implication of signaling pathways involving calcium, phosphorylation and active oxygen species in methyl jasmonate-induced defense responses in grapevine cell cultures. *Journal of Plant Physiology*, 166(17) : 1863-1877.

- Fita A., Nuez F. & Pico B. (2008). Descriptors and characterization in plant breeding: A review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6(S1) : 109-121.
- Flor H.H. (1971). Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9 : 275–296.
- Fokkens L., Shahi S., Connolly L.R., Stam R., Schmidt S.M., Smith K.M., Freitag M. & Rep M. (2018). The multi-speed genome of *Fusarium oxysporum* reveals association of histone modifications with sequence divergence and footprints of past horizontal chromosome transfer events. *bioRxiv*, 2 : 1–62.
- Follin J.C. (1988). Les maladies du cotonnier en Afrique francophone au Sud du Sahara. *Phytoma*, 403 : 49–51.
- Fravel D., Olivain C. & Alabouvette C. (2003). *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist*, 157 : 493–502.
- Freeman S., Zveibil A., Vintal H. & Maymon M. (2002). Isolation of nonb-pathogenic mutants of *Fusarium oxysporium f.sp. melonis* for biological control of *Fusarium* wilt in cucurbits. *Phytopathology*, 92(2) : 164 – 168.
- Gautam A.K., Verma R.K., Avasthi S., Bohra Y., Devadatha B., Niranjana M. & Suwannarach N. (2022). Current insight into traditional and modern methods in fungal diversity estimates. *Journal of Fungal*, 8 : 226 p.
- Gordon T.R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome. *Annual Review of Phytopathol*, 55: 23-39.
- Gordon T.R. & Martyn R.D. (1997). The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology*, 35: 111–128.
- Grandbastien (2004). Eléments transposables et analyse de la biodiversité végétale. *La génomique en biologie végétale*, Editions INRA, Paris : 377-401
- Greenberg J.T. & Yao N. (2004). The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cellular Microbiology*, 6 : 201–211.
- Gupta P.K. & Varshney R.K. (2004). Molecular markers in plant genetic and biotechnology. Principles, Techniques and Applications. *Plant Biotechnology and Genetics* : 43-85.
- Gurmessa D. (2019) Genetic diversity study of improved cotton (*G. hirsutum* L.) varieties in Ethiopia using simple sequence repeats markers. *Journal of Biotechnology*, 7 : 6–14.
- Hageskal G., Krustsen A.K., Gaustad P., de Hoog G.S. & Skaar I. (2006). Diversity and significance of mold species in Norwegian drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 72 : 7587-7593.

- Hagger J.A., Atienzar F.A. & Jha A.N. (2005). Genotoxic, cytotoxic, developmental and survival effects of tritiated water in the early life stages of the marine mollusk, *Mytilus edulis*. *Aquatic Toxicology*, 10(3): 205-217.
- Hallast P., Agdzhoyan A. & Balanousky O. (2020). A Southeast Asian origin for present-day non-African human Y chromosomes. *Human Genetics*, 140 : 299-307.
- Hamrick J.L. & Godt J.W. (1997). Allozyme diversity in cultivated crops. *Crop Sciences*, 37 : 26-30.
- Hau B. (1988). Histoire de la sélection en Côte d'Ivoire. *Coton et Fibre Tropicales*, 43(3) : 177-204.
- Hayder O.H. & Mohammed B.S. (2019). Exploring the potential and limitations of PCR-RFLP and PCR-SSCP for SNP detection. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 6(4) : 137-144.
- Heath M.C. (2000). Hypersensitive response-related death. *Plant Molecular Biology*, 44 : 321-334.
- Henry G., Thonart P. & Ongena M. (2012). PAMPs , MAMPs , DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 16(2) : 257-268.
- Hillocks R.J. (1984). Production of cotton varieties with resistance to *Fusarium* wilt with special reference to Tanzania. *Tropical Pest Management*, 30 : 234 - 246.
- Hirano Y. & Arie T. (2006) PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* ff. sp. *lycopersici* and *radicislycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Journal of General. Plant Pathology*, 72 : 273–283.
- Hirano Y. & Arie T. (2009) Variation and phylogeny of *Fusarium oxysporum* isolates based on nucleotide sequences of polygalacturonase genes. *Microbes and Environments*, 24 : 113–120.
- Holmes E.A., Bennett R.S., Spurgeon D.W., Colyer P.D. & Davis R.M. (2009). New genotypes of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* from the Southeastern United States. *Plant Disease*, 93 : 1298–1304.
- Huaming Z., Xuan S., Jing C., Jie H., Jing W., Nuo Y. & Baodong Y. (2024). Comparison of the distribution patterns of microsatellites across the genomes of reptiles. *Ecology and Evolution*, 14(11) : e70458.
- ICAC (2010). Comité Consultatif International du Coton. Cotton: world statistics. Bulletin of the International Cotton Advisory, Lubbock, Texas, USA, 20 au 25 septembre 2010, 4 p.

- ICAC (2018). Comité Consultatif International du Coton. Cotton: world statistics. Bulletin of the International Cotton Advisory, Abidjan, Côte d'Ivoire, 2 au 6 décembre 2018, 4 p.
- ICAC (2020) Comité Consultatif International du Coton. Bulletin of the International Cotton Advisory, World cotton outlook report 2020. ICAC Secretariat, <https://www.icac.org/reports/2020-outlook> (Consulté le 07 juillet 2023).
- ICAC (2022). Comité Consultatif International du Coton. Bulletin of the International Cotton Advisory. World cotton outlook report 2022. ICAC Secretariat, <https://www.icac.org/reports/2022-outlook>. (Consulté le 07 juillet 2023).
- ICAC. (2021). Comité Consultatif International du Coton, Communication de la Côte d'Ivoire à la 79^{ème} plénière, 12 p.
- Ifo S. A., Binsangou S. & Mbemba M. (2018). Décomposition des gros débris ligneux dans les forêts tropicales humides du bassin du Congo. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(2) : 837-849.
- Ilhem B., Hela C. & Gael R. (2007). Le secteur du coton en Afrique de l'Ouest et du Centre: Stratégies pour accroître la compétitivité du <<C4>>. *Economics, Business, Agricultural and Food Sciences*, 181 p.
- Imamura Y., Chandra J., Pranab k.M., Ali A.L., Loretta B., Pearlman E., Lass J.H., O'Donnell K. & Ghannoum M.A. (2008). Fusarium and Candida albicans Biofilms on Soft contact lenses: Model development, influence of lens type, and susceptibility to lens care solutions. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 52 p.
- Inoue I., Namiki F. & Tsuge T. (2002). Plant colonization by the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* requires FOW1, a gene encoding a mitochondrial protein. *The Plant Cell*, 14 : 1869–1883.
- INPN (Inventaire National du Patrimoine Naturel) (2018). *Gossypium hirsutum* L., 1763, https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/447303/tab/taxo, 1 p. (consulté le 28 avril 2024).
- ITIS (Integrated Taxonomic Information System) (2019). Magnoliopsida Taxonomic Serial No.: 18063 <https://www.itis.gov/citation.html>, 1 p. (consulté le 28 avril 2024).
- Jabran K., ul-Allah S., Chauhan B.S. & Bakhsh A. (2019). An Introduction to global production trends and uses, history and evolution, and genetic and biotechnological improvements in cotton. . Hoboken, NJ: *Wiley Online Library*. Chapter 1 : 1-22.
- Jacobson D.J. & Gordon T.R. (1988). Vegetative compatibility and self-incompatibility with *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. *Phytopathology*, 78(6): 668 – 672.

- Jain S., Akiyama K., Mae K., Ohguchi T. & Takata R. (2002) Targeted disruption of a G protein alpha subunit gene results in reduced pathogenicity in *Fusarium oxysporum*. *Curr. Genet.* 41 : 407–413.
- Jain S., Akiyama K., Kan T., Ohguchi T. & Takata R. (2003). The G protein beta subunit FGB1 regulates development and pathogenicity in *Fusarium oxysporum*. *Current Genetics.* 43 : 79–86.
- Jain S., Akiyama K., Takata R. & Ohguchi T. (2005). Signaling via the G protein alpha subunit FGA2 is necessary for pathogenesis in *Fusarium oxysporum*. *FEMS Microbiology Letters.* 243 : 165–172.
- Jaruwat T. (2008) RpfF gene of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* involved in the regulation of virulence factor production and epiphytic fitness of bacterial pustule pathogen on soybean leaves. *Plant Pathology.* 10 : 14-17.
- Javaid A., Awan F.S., Azhar F.M. & Khan I.A. (2017). Assessment of allelic diversity among drought-resistant cotton genotypes using microsatellite markers. *Genetics and Molecular Research*, 16: (2): 1-9.
- Jelinski N.A., Broz K., Jonkers W., Ma L.J. & Kistler H.C. (2017). Effector gene suites in some soil isolates of *Fusarium oxysporum* are not sufficient predictors of vascular wilt in tomato. *Phytopathology*, 107 : 842–851.
- Jenkins S., Taylor A., Jackson A.C., Armitage A.D., Bates H.J., Mead A., Harrison R.J. & Clarkson J.P. (2021). Identification and expression of secreted in xylem pathogenicity genes in *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. *Frontiers in Microbiology*, 12 : 593140.
- Jiménez-Gasco M., Milgroom M. & Jimenez-Diaz R. (2002). Gene genealogies support *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* as a monophyletic group. *Plant Pathology Journal*, 51 : 72–77.
- Jobe O.T., Uner M., Ulloa M., Broders K., Hutmacher B.R. & Ellis L.M. (2024). Secreted in Xylem (SIX) Gene SIX9 Is Highly Conserved in *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* Race 4 Isolates from Cotton in the United States. *PhytoFrontiers* 2 : 1-6.
- Jones J.D.G. & Dangl J.L. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444 : 323–329.
- Joshi R.K. & Nayak. S. (2013). Perspectives of genomic diversification and molecular recombination towards R-gene evolution in plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19 : 1–9.

- Jourdan E., Ongena M. & Thonart. P. (2008). Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Biotechnology, Agronomie Society Environment*, 12(4) : 437-449.
- Kadri Y. (2008). Caractérisation de la variabilité biologique et pathologique de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Killian et Maire) W. L. Gordon et essai de méthodes de lutte « in vitro ». Thèse de Magister en Science Agronomiques, (El Harrach, Algérie), 66 p.
- Katan T. (1999). Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytoparasitica*, 27(1): 51 – 63.
- Khan A.I., Fu Y.B. & Khan I.A. (2009). Genetic diversity of Pakistani cotton cultivars as revealed by simple sequence repeat markers. *Commun. Biometry and Crop Science*, 4(1) : 21-30.
- Khan A.J., Azam K.M., Razvi S.A. (2001). Pesticide residue analysis of date palm fruits by gas chromatography mass spectrophotometry. 2nd Inter. Conf. on Date Palms. March 25-27, 2001, Al-Ain, United Arab Emirates Univ : 211-215.
- Khan M.A., 2023. Development and evaluation of *Fusarium* wilt resistant cotton varieties: A sustainable approach to disease management. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 14(2) : 112-125.
- Khang C.H., Park S.Y., Lee Y.H. & Kang S.C. (2005). A dual selection based, targeted gene replacement tool for *Magnaporthe grisea* and *Fusarium oxysporum*. *Fungal Genetic and Biology*, 42 : 483–492.
- Kimura M. & Crow J.F. (1964). The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49 : 725-738.
- Kistler H.C. (1997) Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 87 : 474–479.
- Kommedhal T., Abbas H., Burnes P. & Mirocha C. (1988) Prevalence and toxigenicity of *Fusarium* spp. From soils of Norway near the Arctic Circle. *Mycologia*, 80 : 790–794.
- Konan O.N. & Mergeai G. (2007). Possibilité d'amélioration de la principale espèce cultivée de cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) pour la résistance aux nématodes réniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford et Oliveira). *Base*. 11 : 159-171.
- Kouadia A.M.J., Tiénebo E.O., Kouadio K.T., Adja N.A., Abo K. (2023). Morphometric Analysis of Isolated Conidia of Various Species of *Colletotrichum* sp. from Avocado and Mango in Côte d'Ivoire. *Plant Pathology Journal*, 22(1) : 1-16.

- Kouyaté A.B., Koné S., Dembélé S.G. & Famanta M. (2023). Effets de différentes doses d'engrais inorganiques sur le rendement et la performance économique du cotonnier. *International Journal of Biological and chemical Sciences*, 17(7) : 2971-2983.
- Kuldau G.A. & Yates I.E. (2000) Evidence for *Fusarium* endophytes in cultivated and wild plants. *Microbial Endophytes*, 85-117.
- Kumar P., Nimbale S., Sangwan R.S., Budhlakoti N., Singh V., Mishra D.C. & Choudhary R.R.S. (2021). Identification of novel marker-trait associations for lint yield contributing traits in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) using SSRs. *Frontiers in Plant Science*, 12 : 855.
- Lacape J.M., Dessauw D.M., Rajab J.L., Noyer B. & Hau B. (2007). Microsatellite diversity in tetraploid *Gossypium* germplasm: assembling a highly informative genotyping set of cotton SSRs. *Molecular Breeding*, 19 : 45–58.
- Lagace M. (2015). La valorisation des cultivars sous-utilisés dans un contexte de changements climatiques ; potentiel et intégration stratégique. Mémoire de biologie de maître en écologie internationale (M.E.I.), faculté des sciences, Université de Sherbrooke (Québec, Canada), 135 p.
- Laurence M.H., Burgess L.W., Summerell B.A. & Liew E.C.Y. (2012). High levels of diversity in *Fusarium oxysporum* from non-cultivated ecosystems in Australia. *Fungal Biology*, 116 : 289–297.
- Laurence M.H., Burgess L.W., Summerell B.A. & Liew E.C.Y. (2014). Multi-locus phylogenetic analyses reveal cryptic species in *Fusarium*. *Fungal Biology*. 118(9) : 691–703
- Lawson A.J. (2008). Effet de différentes pratiques de tailles sur l'amélioration des performances agronomiques du cotonnier *Gossypium hirsutum* L. Mémoire d'Ingénieur en agronomie. Université de Parakou (Bénin), 66 p.
- Lepoivre P. (2003). Phytopathologie : Bases moléculaires et biologique des pathogènes et fondements des stratégies de lutte. *De boeck*. (Belgique), 125p.
- Leroy T., Heuertz M., Tysklind T. & Schmitt S. (2024). Une nouvelle étude décortique l'origine des mutations génétiques. *International System for Agricultural Science and Technology*. 8336-8369.
- Leslie J.F. & Summerell B.A. (2006) The *Fusarium* laboratory manual. *Environment*, 16: 257–268.

-
- Lessa F.C. & Sievert D.M. (2023). Antibiotic resistance: A global problem and the need to do more. *Clinical infectious Diseases*, 77 : S1-S3.
- Levy B. (2014). Genomic imbalance in products of conception: Single-Nucleotide Polymorphism chromosomal Microarray analysis. *Obstetrics & Gynecology*, 124 : 202-209.
- Li X., Lassner M. & Zhang Y.L. (2002). Deletegene: a fast neutron deletion mutagenesis-based gene knockout system for plants. *Comparative and Functional Genomics* 3(2) : 158-160.
- Li Y.C., Korol A.B., Fahima T., Beiles A. & Nevo E. (2002). Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms. *Molecular Ecology*, 11 : 2453-2465.
- Lievens B., Claes L., Vakalounakis D.J., Vanachter A.C.R.C. & Thomma B.P.H.J. (2007) A robust identification and detection assay to discriminate the cucumber pathogens *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* and f. sp. *radicis-cucumerinum*. *Environmental Microbiology*, 9 : 2145–2161.
- Lievens B., Rep M. & Thomma B.P.H.J. (2008). Recent developments in the molecular discrimination of *formae speciales* of *Fusarium oxysporum*. *Pest Management Science*, 8 : 781–788.
- Liu S., Wu B., Lv S., Shen Z., Li R., Yi G., Li C. & Guo X. (2019). Genetic diversity in *FUB* genes of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* suggests horizontal gene transfer. *Frontiers in Plant Sciences*, 10 : 370 p.
- Lori G., Edel-Hermann V., Gautheron N. & Alabouvette C. (2004) Genetic diversity of pathogenic and nonpathogenic populations of *Fusarium oxysporum* isolated from carnation fields in Argentina. *Phytopathology*, 94 : 661–668.
- Lori G., Petiet P.M., Malbrán I., Mourellos C.A., Wright E.R. & Rivera M.C. (2012). *Fusarium* wilt of cyclamen: Pathogenicity and vegetative compatibility groups structure of the pathogen in Argentina. *Crop Protection*, 36 : 43–48.
- Lucasson A. (2018). Caractérisation et diversité des mécanismes du syndrome de mortalité affectant les juvéniles de *Crassostrea gigas*. Thèse Université de Montpellier, (France), 230 p.
- Luciano P., Jean-Claude L., Matthieu A., Michel Dion. & Harivony R. (2019). Introduction à la microbiologie. *Microbiologie fondamentale et appliquée*, 183 p.

- Luongo L., Vitale S., Haegi A. & Belisario A. (2012). *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* race 2-specific detection. *Journal of Plant Pathology*, 94 : 193-199.
- Ma L.J. (2014). Horizontal chromosome transfer and rational strategies to manage *Fusarium* vascular wilt diseases. *Molecular Plant Pathology*, 15 : 763–766.
- Ma L.J., Geiser D.M., Proctor R.H., Rooney A.P., O'Donnell K. & Trail F. (2013). *Fusarium* pathogenomics. *Annual Review of Microbiology*, 67 : 399–416.
- Ma L.J., van der Does H. C., Borkovich K.A., Coleman J.J., Daboussi M.J. & Di Pietro A. (2010). Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. *Nature*, 464 : 367–373.
- Madrid M.P., Di Pietro A. & Roncero M.I.G. (2003) Class V chitin synthase determines pathogenesis in the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* and mediates resistance to plant defence compounds. *Molecular and Microbiology*, 47 : 257–266.
- Mahdavi G. (1997). Histoire cotonnière de la Cote d'Ivoire. In : Coton et développement, N°21. Edition Sarl, Paris 8^{ème} France: 12-16.
- Mahdi N. (2011). Essai de lutte contre la fusariose vasculaire du Palmier Dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Mémoire de thèse de Doctorat de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. (Alger, Algérie) 142 p.
- Majumdar G., Singh S.B. & Shukla S.K. (2019). Seed production, harvesting, and ginning of cotton. *Cotton Production*, 1 : 145-174.
- Majumdar N. & Mandal N.C. (2018). Effect of different modified growth media on postharvest pathogens. *Research on Crops*, 19(3) : 520-525.
- Mamy S., Michel H. & Bruno B. (2020). Le coton en Afrique de l'Ouest et du Centre : de la révolution agricole à la transition agro-écologique. *Cahiers Agricultures*, 1 : 29-37.
- Mandeel Q., Abbas J. & Saeed A. (1995). Survey of *Fusarium* species in an arid environment of Bahrain: II. Spectrum of species on five isolation media. *Sydowia*, 47 : 223–239.
- Mandeel Q., Al-Laith A. & Mohamed S. (2005). Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2 : 601-607.
- Mardis E.R. (2008). Next-generation DNA sequencing methods. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 9 : 387- 402.
- Martín-Urdíroz M., Roncero M.I.G., González-Reyes J.A. & Ruiz-Roldán C. (2008). ChsVb, a class VII chitin synthase involved in septation, is critical for pathogenicity in *Fusarium oxysporum*. *Eukaryotic Cell*, 7 : 112-121.

- Mauney J. (1984). Anatomy and morphology of cultivated cottons. In "cotton". R.H. Kohel and C.F. Lewis, *American Society of Agronomy*, 24 : 59-81.
- Mbofung G.Y., Hong S.G. & Pryor B.M. (2007). Phylogeny of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* inferred from mitochondrial small subunit, elongation factor 1-alpha, and nuclear ribosomal intergenic spacer sequence data. *Phytopathology*, 97 : 87–98.
- Mburu D. & Hanotte O. (2005). A practical approach to microsatellites genotyping with special reference to livestock population genetics. *ILRI, Nairobi, Kenya*, 82 p.
- McCarty J.C., Deng D.D., Jenkins J.N. & Geng L. (2022). Genetic diversity of day-neutral converted landrace *Gossypium hirsutum* L. accessions using SSR markers. *Euphytica*, 214 : 173 p.
- Mechta N. & Tassadit A. (2015). *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* : effets du milieu de culture sur la croissance mycélienne, la sporulation et la production de l'acide fusarique. *Algerian journal of arid environment*, 5 : 82-90.
- Michelmore R.W., Christopoulou M. & Caldwell K.S. (2013). Impacts of resistance gene genetics, function, and evolution on a durable future. *Annual Review of Phytopathology*, 51 : 291–319.
- Michielse C.B. & Rep M (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular and Plant Pathology*, 10 : 311-324.
- Michielse C.B., van Wijk R., Reijnen L., Cornelissen B.J.C. & Rep M. (2009). Insight into the molecular requirements for pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* through large-scale insertional mutagenesis. *Genome Biology*, 10 : 1–18.
- Monowara R., Tonu N.N., Begum F., Karim M.M. & Sultana N. (2017). Morphological and physiological variation among different isolates of *Alternaria spp.* from Rapeseed-Mustard. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2(5) : 2433-2442.
- Mourichon X. (2003). Effets de foundation et différenciation génétique aux échelles continentale et locale chez *Mycosphaerella fijiensis*, champignon responsable de la maladie des raies noires du bananier. Thèse de Doctorat en Génétique de l'Université de Montpellier, (France), 79 p.
- Mullins E.D., Chen X., Romaine P., Raina R., Geiser D. M. & Kang S. (2001). *Agrobacterium*-mediated transformation of *Fusarium oxysporum*: an efficient tool for insertional mutagenesis and gene transfer. *Phytopathology*, 91 : 173–180.

- Munir H., Rasul F., Ahmad A., Sajid M., Ayub S., Arif M., Iqbal P., Khan A., Fatima Z., Ahmad S. & Khan M.A. (2020). Diverse Molecular characterization of elite cotton cultivars using ISSR markers. *Asian Journal of Biological Sciences*, 4(2) : 249-253.
- Mysore K.S. & Ryu C.M. (2004). Nonhost resistance: how much do we know? *Trends in Plant Science*, 9 : 97–104.
- N’Goran A.R.B., Kouakou H.T., Konan F.K.Y., Camara B., Kouassi N.K. & Koné D. (2016). Effet de la fraction oligosaccharidique de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* sur la protection du cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) contre la fusariose. *Agronomie Africaine*, 28(3) : 1-10.
- N’Goran A.R.B., Yapo S.E., Kouassi K.M., Koffi E., Kouassi K.N., Sekou D., Koné D. & Kouakou T.H. (2014). Stimulation of polyphenols production in cell suspensions of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) by oligosaccharide fraction of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* wilt. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 7: 1570-1576.
- N’Guessan B.R., Adingra K.B.C., Komena B.K. & Ipou I.J. (2019). Facteurs de risques de la modélisation de l’agriculture à base de pesticides dans la sous-préfecture de Tapeguia. *European Scientific Journal*, 15(15) : 378-400.
- Nadeem M.A., Nawaz M.A., Shahid M.Q., Dogan Y., Comertpay G., Yildiz M. & Baloch F.S. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: Current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology, Biotechnological Equipment*, 32(2) : 261-285.
- Najafiniya M. & Sharma P. (2011). Specific PCR-based marker for detection of pathogenic groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* in India. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 9 : 29-34.
- Namiki F., Matsunaga M., Okuda M., Inoue I., Nishi K., Fujita Y. & Tsuge T. (2001). Mutation of an arginine biosynthesis gene causes reduced pathogenicity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Molecular Plant–Microbe Interactions*, 14 : 580–584.
- Nei M. (1972). Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106 : 283-292.
- Nei M. (1978). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(12): 3321-3323
- Nei M. (1987). Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York. USA, 52 p.

- Nirmaladevi D., Venkataramana M., Srivastava R.K., Uppalapati S.R., Gupta V.K., Yli-Mattila T., Clement Tsui K.M., Srinivas C., Niranjana S.R. & Chandra N.S. (2016). Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Scientific Reports*, 6 : 21367.
- Nybohm H. (2004). Comparaison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology*, 13 : 1143-1155.
- O'Donnell K., Rooney A.P., Proctor R.H., Brown D.W., McCormick S.P. & Ward T.J. (2013). Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Genetic Biology*, 52 : 20–31.
- Ochou O.G., Martin T. & Chandre F. (2001). Rapport d'activité 2000, CNRA. Programme coton, Entomologie, 255 p.
- Ollivier L., Sancristobal M., Foulley J.L., Legault C., Laval G., Milan D., Caritez J.C., Burgaud G., Gruand J., Boscher M.Y., Amigues Y., Barret J., Hassenfratz C., Luquet Laboroue M. & Chevalet C. (2004). Analyse de la diversité de quelques races et lignées européennes. *Journées Recherche Porcine*. 36 : 265-274.
- Ortoneda M., Guarro J., Madrid M.P., Caracuel Z., Roncero M.I.G., Mayayo E. & Di Pietro A. (2004) *Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals. *Infection and Immunity*, 72 : 1760–1766.
- Ospina-Giraldo M.D., Mullins E. & Kang S. (2003). Loss of function of the *Fusarium oxysporum* SNF1 gene reduces virulence on cabbage and *Arabidopsis*. *Current Genetic*, 44 : 49–57.
- Palm R. (1996). La classification numérique : principes et application. *Notes de Statistique et d'Information*, Gembloux (Belgique) : 28 p.
- Palmero D., Iglesias C., De Cara M., Lomas T., Santos M. & Tello J. (2009). Species of *Fusarium* isolated from river and sea water of southeastern Spain and pathogenicity on four plant species. *Plant Disease*, 93 : 377–385.
- Param J.S. & Mehpotra R.S. (1980). Biocidal control of *Rhizoctonia hataticola* on Gram by coating seed with *Bacillus* and *Streptomyces* sp. and their influence on plant growth. *Plant and soil*, 56 : 475-488.
- Park D. (1959). Some aspect of the biology of *Fusarium oxysporum* Schl. in soil. *Annals of Botany*, 23 : 35–49.
- Parry G. (1982). Le cotonnier et ses produits. Techniques agricoles et productions tropicales. Maisonneuve & Larose (Ed.). Paris, (France), 502 p.

- Pasquali M., Acquadro A., Balmas V., Migheli Q., Lodovica Gullino M. & Garibaldi A. (2004). Development of PCR primers for a new *Fusarium oxysporum* pathogenic on Paris daisy (*Argyranthemum frutescens* L.). *European Journal of Plant Pathology*, 110 : 7–11.
- Paterson U.N.H., Atterrisseur E.S., Hewitt J.D., Peterson S., Lincoln S.E. & Tanksley S.D. (1988). Résolution de quantitatif caractéristiques dans Mendélien facteurs par en utilisant un complet lien carte de restriction fragment longueur polymorphismes. *Nature*, 335 : 721–726.
- Pitt J.I. & Hocking A.D (2009). Fungi and food spoilage. Springer DordrechtHeidelberg London New York. 3 : 89-122.
- Ploetz R.C. (2001). Phylogenies and reproductive strategies of globally dispersed populations of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. In processing of International workshop on the Banana *Fusarium* wilt disease, Molina AB, Nik Masdek NH, Liew KW (eds). Los Banos: USA: 133-142.
- Ploetz R.C. (2015a). *Fusarium* wilt of banana. *Phytopathology*, 105 : 1512–1521.
- Ploetz R.C. (2015b). Management of *Fusarium* wilt of banana: a review with special reference to tropical race 4. *Crop Protection*, 73 : 7–15.
- Poli A., Gilardi G., Spadaro D., Gullino M. L., Garibaldi A. & Spadaro D. (2012) Molecular characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cichorii* pathogenic on chicory (*Cichorium intybus*). *Phytoparasitica*, 40 : 383–391.
- Powell W.W., Koput K.W. & Smith-Doerr L. (1996). Iterorganizational collaboration and the locus of innovation: Networks of learning in Biotechnology. *Administrative Sciences*, 41, 116 p.
- PR-PICA (Programme Régional de Protection Intégrée du Cotonnier en Afrique) (2018). *Bulletin d'information du PR-PICA* N°16, Juillet 2018, 5 p.
- PR-PICA (Programme Régional de Protection Intégrée du Cotonnier en Afrique) (2018). *Bulletin d'information du PR-PICA* N°15, Mai juin 2018, 5 p.
- PR-PICA. (2017-2018). Evaluation et bilan de la campagne cotonnière 2017-2018 dans les six pays membres du PR-PICA (Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Mali, Sénégal, Togo). Rapport 11^{ème} *Colloque scientifique*, Lomé-Togo, 18 au 20 Avril 2018, 4 p.
- PR-PICA. (2019). Réunion bilan du Programme Régional de Protection Intégrée du Cotonnier en Afrique. Rapport 12^{ème} *Colloque scientifique*, Cotonou - Benin, 10 au 12 avril 2019, 4 p.

- PR-PICA. (Programme régional de Protection Intégrée du Cotonnier en Afrique) (2021).
Bulletin d'information du PR-PICA N°34 de juillet 2021, 5 p
- Rana A., Oliveira M., Khamoui A., Aparicio R. & Rera M. (2017). Promoting Drpl-mediated mitochondrial fission in midlife prolongs healthy lifespan of *Drosophila melanogaster*.
Nature Communications, 8, 448 p.
- Rapilly F. (1968). Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annales des Epiphyties*, 19, 102 p.
- Rathore K.S.; Campbell L.M.; Sherwood S. & Nunes E. (2015). Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Methods in Molecular Biology*, 1224 : 11–23.
- Recorbet G., Steinberg C., Olivain C., Edel V., Trouvelot S. & Dumas-Gaudot E. (2003) Wanted: pathogenesis-related marker molecules for *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist*, 159 : 73–92.
- Rep M. (2005). Small proteins of plant-pathogenic fungi secreted during host colonization. *FEMS Microbiology Letters*, 253 : 19–27.
- Rep M., Meijer M., Houterman P.M., van Der Does H.C. & Cornelissen B.J.C. (2005). *Fusarium oxysporum* evades I-3-mediated resistance without altering the matching avirulence gene. *Molecular Plant–Microbe Interactions*, 18 : 15–23.
- Rep M., van Der Does H.C., Meijer M., van Wijk R., Houterman P.M., Dekker H.L., de Koster C.G. & Cornelissen B.J. (2004). A small, cysteine-rich protein secreted by *Fusarium oxysporum* during colonization of xylem vessels is required for I-3-mediated resistance in tomato. *Molecular and Microbiology*, 53 : 1373–1383.
- Rocha L.O., Laurence M.H., Ludowici V.A., Puno V.I., Lim C.C. & Tesoriero L.A. (2016). Putative effector genes detected in *Fusarium oxysporum* from natural ecosystems of Australia. *Plant Pathology*, 65 : 914–929.
- Rodríguez M.A., Cabrera G. & Godeas A. (2006) Cyclosporine A from a nonpathogenic *Fusarium oxysporum* suppressing *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Applied Microbiology*, 100 : 575–586.
- Rognon X. & Verrier E. (2007). Caractérisation et gestion des ressources génétiques. Les outils et méthodes de la génétique pour la caractérisation, le suivi et la gestion de la variabilité génétique des populations animales. UMR INRA/AgroParisTech «Génétique et Diversité Animales», Rabat, 12-15 mars 2007, 132 p.
- Ronfort J., Jenczewski E. & Muller M.H. (2005). Les flux de gènes et leur impact sur la structure de la diversité génétique. Le cas des prairies. *Fourrages*, 182 : 275-286.

- Rouxel F., Alabouvette C. & Louvet J., (1979). Recherches sur la résistance des sols aux maladies. IV: mise en évidence du rôle des *Fusarium* autochtones dans la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire de melon. *Annal de phytopathologie*, 2 : 199-207.
- Saleem M.A., Qayyum A., Malik W. & Amjid M.W. (2020). Molecular breeding of cotton for Drought stress tolerance. In: (eds. Ahmad, S. and Hasanuzzaman, M.) cotton production and uses. *Springer, Singapore*, 1: 495-508.
- Sasaki K., Nakahara K., Tanaka S., Shigyo M. & Ito S.I. (2015). Genetic and pathogenic variability of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* isolated from onion and Welsh onion in Japan. *Phytopathology*, 105 : 525–532.
- Sautour M., Edel-Hermann V., Steinberg C., Sixt N., Laurent J. & Dalle F. (2012). *Fusarium* species recovered from the water distribution system of a French university hospital. *Int. J. Hyg. Environmental Health*, 215 : 286–292.
- Sayegh M (2009). La résistance du cotonnier *Gossypium hirsutum* à la bactériose cause par *xanthomonas campestris pathovar malvacearum*. Rôle du gène GhLOX1 dans la réaction hypersensible. Thèse de doctorat en Génétique, Institut National Polytechnique de Lorraine-nancy, France. 155p.
- Schi J., Mueller W.C. & Beckman C.H. (1991b). Ultrastructure and histochemistry of lipoidal droplets in vessel contact cells and adjacent parenchyma cells in cotton plants infected by *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 39 : 201-211.
- Schi J., Mueller W.C. & Beckman C.H. (1992). Vessel occlusion and secretory activities of vessel contact cells in resistant or susceptible cotton plants infected with *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 40 : 133-147.
- Schmid-Hempel P. (2011). Evolutionary parasitology: the integrated study of infections. Immunogy, Ecology and Genetics. *Oxford University Press*, 151p.
- Schmidt H., Niessen L. & Vogel R.F. (2004). AFLP analysis of *Fusarium* species in the section *Sporotrichiella* – Evidence for *Fusarium langsethiae* as a new species. *International Journal of Food Microbiology*, 95 : 297-304.
- Schmidt S.M., Houterman P.M., Schreiver I., Ma L., Amyotte S., Chellappan B., Boeren S., Takken F.L.W. & Rep M. (2013). Mites in the promoters of effector genes allow prediction of novel virulence genes in *Fusarium oxysporum*. *BMC Genomics*, 14 : 119 p

- Schoch C.L., Seifert K., Huhndorf S., Robert V., Spoug J.L., Levesque C.A. & Chen W. (2012) Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 109 : 6241–6246.
- Sedra M.H. (2003). Le bayoud du palmier dattier en Afrique du nord. Publication du bureau sous régional de la FAQ pour l’Afrique du nord (SNEA) en protection des plantes, 124 p.
- Sedra M.H. & Djerbi M. (1985). Mise au point d'une méthode rapide et précise d'identification in vitro du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albendii*, agent causal du Bayoud. *Annal de l'Institut National Agronomique de Tunisie*, 2 : 1-12.
- Seifert K.A (2001). Concepts génériques de *Fusarium* et d'anamorphe. *Société américaine de phytopathologie* : 15–28.
- Sekloka E., Lançon J., Zinsou V.A. & Thomas G. (2016). Influences des conditions de cultures sur la production de capsules chez le cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) en condition de culture pluviale au Bénin. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 8 : 1370-6233.
- Semal J. (2009). Traité de pathologie végétale. *Les presses Agronomiques de Gembloux*. 621 p.
- Sement G. (1986). Le cotonnier en Afrique tropicale. Edition Maisonneuve et Larose, 129 p.
- Sement G. (1986). Le cotonnier en Afrique tropicale. Le technicien d’agriculture tropical, G-P Maisonneuve et Larose et L’ACCT, 137 p.
- Seo S., Pokhrel A. & Coleman J.J. (2020). The genome sequence of five genotypes of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*: A resource for studies on *Fusarium* wilt of cotton. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 33 : 138-140
- Sheng Y., Zheng W. & Pei K.M.A.K. (2005). Genetic variation within and among populations of a dominant desert tree haloxylon ammodendron (*Amaranthaceae*) in China. *Annals of Botany*, 96(2) : 245-252.
- Silva F.P.d., Vechiato M.H. & Harakava R. (2014) *EF-1a* gene and IGS rDNA sequencing of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* reveals polyphyletic origin of strains. *Tropical Plant Pathology*, 39 : 64–73.
- Singh R. & Sharma P. (2022). Breeding for *Fusarium* wilt resistance in cotton: Advances and challenges. *Plant Disease Research*, 37(4) : 345-359.

- Skovgaard K., Nirenberg H.I., O'Donnell K. & Rosendahl S. (2001). Evolution of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* races inferred from multigene genealogies. *Phytopathology*, 91(12) : 1231 – 1237.
- Smith A. (2010). La saga de la banane. Vers des filières durables et équitables. *Edition diffusion Charles Léopold Mayer*. Essai n°177. 145 p.
- Sofi T.A., Beig M.A., Dar Gh. H., Ahmad M., Hamid A., Ahangar F.A., Padder B.A. & Shah M.D. (2013). Cultural, morphological, pathogenic and molecular characterization of *Alternaria mali* associated with *Alternaria* leaf blotch of apple. *African Journal of Biotechnology*, 12(4): 370-381.
- Songmao L., Huobing D., Yaqi L., Meimei H., Haixia Y., Yan Z., Weijian Z., Guodong L. & Yingzi Y. (2024). A network of sporogenesis-responsive genes regulates the growth, asexual sporogenesis, pathogenesis and fusaric acid production of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Journal of Fungi*, 10(1) : 1-25
- Soro L. (2022). Entomofaune utile du cotonnier *Gossypium hirsutum* L. : inventaire et effets de quelques facteurs agroécologiques sur la dynamique des populations de prédateurs et de pollinisateurs dans la région du Tchologo au nord de la Côte d'Ivoire. Mémoire de thèse de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, (Côte d'Ivoire), 10 p.
- Soumaré M., Havard M. & Bachelier B. (2020). Le coton en Afrique de l'Ouest et du Centre : de la révolution agricole à la transition agro-écologique. *Cahiers Agricultures*, 29 : 29-37.
- Spanu F., Scherm B., Camboni I., Balmas V., Pani G., Oufensou S., Macciotta N., Pasquali M. & Migheli Q. (2018). FcRav2, a gene with a ROGDI domain involved in *Fusarium* head blight and crown rot on durum wheat caused by *Fusarium culmorum*. *Molecular Plant Pathology*, 19(3) : 677-688.
- Stankovic S., Levic J., Petrovic T., Logrieco A. & Moretti A. (2007). Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. *European Journal of Plant Pathology*, 118 : 165-172.
- Steinberg C., Edel V. & Alabouvette C. (1997). Rôle du mode de formulation sur la survie et l'activité antagoniste d'agents de lutte biologique contre les fusarioses de plantes cultivées. *Cryptogamie Mycologie*, 18(2) : 139-143.
- Stepien L., Koczyk G. & Waskiewicz A. (2011). Genetic and phenotypic variation of *Fusarium proliferatum* isolates from different host species. *Journal of Applied Genetics*, 52 : 487-496.

- Stępień Ł., Lalak-Kańczugowska J., Witaszak N. & Urbaniak M (2019). Fusarium secondary metabolism biosynthetic pathways: so close but so far away. *Co-Evolution of Secondary Metabolites*, 9 :11-37.
- Summerell B.A., Laurence M.H., Liew E.C.Y. & Leslie J.F. (2010). Biogeography and phylogeography of *Fusarium*. *Fungal Diversity*, 44 : 3-13.
- Summerell B.A., Salleh B. & Leslie J.F. (2003). A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant Disease*, 1206 : 117-128.
- Sunilkumar G., Campbell L.M., Puckhaber L., Stipanovic R.D. & Rathore K.S. (2006). Engineering cottonseed for use in human nutrition by tissue-specific reduction of toxic gossypol. *Proceedings of Natliona Academy of Sciences*, 103 : 18054-18059.
- Tahir A., Iqbal I., Talib K.M., Luhuai J., Chen X., Akbar A., Asghar A. & Ali I. (2022). Modern tools for the identification of fungi, including yeasts. *Extremophilic fungi: Ecology, Physiology and Applications*, 41 : 33-51.
- Tang S., Zhonghua T., Tengfei Z., Fang X., Liu F., Liu D., Zhang J., Liu D., Wang S., Zhang K., Shao Q., Tan Z., Andrew H.P. & Zhang Z. (2015). Construction of genetic map and QTL analysis of fiber quality traits for upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Euphytica*, 201 : 195–213.
- Tautz D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research*, 17 : 6463-6471
- Tello-Marquina J.C. & Alabouvette C. (1985). Observation de la persistance dans le sol des microconidies de *Fusarium oxysporum*. *Agronomie*, 4(9) : 123-130.
- Texier P.H. (1996). Le coton oléagineux en Afrique. OCL, Oléagineux, Corps gras, Lipides 3 : 111-113. thaliana. *The Plant Cell*, 18 : 3289–3302.
- Thrane H. (2001). Excavations at Tepe Guran in Luristan. The Bronze Age and Iron Age periods. Hojberg, Jutland Archaeological Society Publications 38. *Journal of Near Eastern Studies*, 63(4) : 314-469.
- Tigist S.G., Sibiya J., Amelework A. & Keneni G. (2023). Agromorphological and Physiological performance of Ethiopian common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes under Different Agroecological Conditions. *Plants*, 12 : 23-42
- Trail F. (2009). For blighted waves of grain: *Fusarium graminearum* in the postgenomics. *Plant Physiology*, 149: 103-110.
- Tramier R. & Bettachini A. (1977). Mise en évidence d'une souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, résistance aux fongicides systémiques. *Annal de phytopathologie*, 6 : 221-231.

- Traoré O. (2008). Les succès de la lutte intégrée contre les ravageurs du cotonnier en Afrique de l'Ouest 67^{ème} réunion plénière de l'ICAC. Ouagadougou (Burkina Faso), 11 p.
- Tyagi P., Gore M.A., Bowman D.T., Campbell B.T., Udall J.A. & Kuraparthy V. (2014). Genetic diversity and population structure in the US Upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Journal of Applied Genetics*, 127: 283-295.
- Tyagi S.A., Verma S.K., Nehra K.I. & Bajya D.R. (2015). Molecular marker based genetic diversity analysis in cotton using RAPD and SSR markers. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 29 : 232-236.
- Ulloa M., Wang C., Saha S., Hutmacher R.B., Stella D.M., Jenkins J.N., Burke J. & Roberts P.A. (2016). Analysis of root-knot nematode and fusarium wilt disease resistance in cotton (*Gossypium spp.*) using chromosome substitution lines from two alien species. *Genetica*, 144 : 167-179.
- Ulloa M., Wang C., Hutmacher R.B., Wright S.D., Davis R.M., Sasaki C.A. & Roberts P.A. (2011). Mapping Fusarium wilt race 1 resistance genes in cotton by inheritance, QTL and sequencing composition. *Molecular Genetics and Genomics*, 286 : 21–36.
- Uma B., Rani T.S. & Podile A.R. (2011). Warriors at the gate that never sleep: non-host resistance in plants. *Journal of Plant Physiology*, 168 : 2141–2152.
- Vergne E. (2007). Analyse des systèmes inductibles et préformés de défense du riz à *Magnaporthe oryzae* au travers de l'expression de gènes. Thèse de Doctorat en biologie intégrative des plantes, Université Montpellier II, (Montpellier, France), 273 p
- Vignal A., Milan D., San Cristobal M. & Eggen A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, 34 : 275-305.
- Vigouroux Y., Mc Mullen M., Hittinger C.T., Houchins K., Schulz L. & Kresovich S. (2002). Identifying genes of agronomic importance in maize by screening microsatellites for evidence of selection during domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99 : 9650–9655
- Vigouroux Y., Mitchell S., Matsuoka Y., Hamblin M., Kresovich S. & Smith J.S.C. (2005). An analysis of genetic diversity across the maize genome using microsatellites. *Genetics*, 169 : 1617-1630.
- Viot C.R. & Wendel J.F. (2023). Evolution of the Cotton Genus, *Gossypium*, and Its Domestication in the Americas. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 42(1) : 1–33.

- Wang C. & Roberts P.A. (2006). A Fusarium wilt resistance gene in *Gossypium barbadense* and its effect on root-knot nematode-wilt disease complex. *Phytopathology* 96 : 727–734.
- Wang C., Ulloa M., Shi X., Yuan X., Saski C., Yu J.Z. & Roberts P.A. (2015). Sequence composition of BAC clones and SSR markers mapped to Upland cotton chromosomes 11 and 21 targeting resistance to soil-borne pathogens. *Frontiers Plant Sciences*, 6, 791 p.
- Wang X.Y., Li X.Y., Gong Z.L., Wang J., Fan L., Zheng J., Liang Y., Guo J., Mamat M. & Ai X. (2018). DNA fingerprinting construction and genetic diversity analysis based on SSR markers for upland cotton in Xinjiang. *Cotton Sciences*, 30 : 308–315.
- Ward J.H. (1963). Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, 58: 236-244.
- Warman N.M. & Aitken E.A.B. (2018). The movement of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Sub-tropical race4) in susceptible cultivars of Banana. *Frontiers Plant Sciences*, 9: 1748.
- Wendel J.F. & Cronn R.C. (2003). Polyploidy and the evolutionary history of cotton. *Advances in Agronomy*, 78 : 139-186.
- Williams A.H., Sharma M., Thatcher L.F., Azam S., Hane J.K., Sperschneider J. & Kidd B.N. (2016). Comparative genomics and prediction of conditionally dispensable sequences in legume-infecting *Fusarium oxysporum* formae speciales facilitates identification of candidate effectors. *BMC Genomics*, 17: 191 p.
- Wright S (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution*. 19 : 395-420.
- Yao F., Koffi M., Abe I., Ahouty B., Simaro S., Konaté I., Traore B., Sokouri E., N'Djetchi M., Konan T. & Sanogo T. A. (2019). Genetic diversity of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties grown in Daloa district in Central-Western Côte d'Ivoire. *African Journal of Agricultural Research*, 14(31) : 1341-1348.
- Yu J., Kohel R. J., Fang D.D., Cho J., Van Deynze A., Ulloa M., Hoffman S.M., Pepper A.E., Stelly D.M., Jenkins J.N., Saha S., Kumpatla S.P., Shah M.R., Hugie W.V. & Percy R.G. (2012). A high-density simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism genetic map of the tetraploid cotton genome. *Genes, Genomes Genetics*, 2 : 43-58.

-
- Yu Y., Yuan D., Liang S., Li X., Wang X., Lin Z. & Zhang X. (2011). Genome structure of cotton revealed by a genome-wide SSR genetic map constructed from a BCI population between *Gossypium hirsutum* and *G. barbadense*. *BMC Genomics*, 12 : 15.
- Zane L., Bargelloni L. & Patarnello T. (2002). Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology*, 11 : 1-16.
- Zerbo K.B.F., Yameogo F., Zan N., Hien A., Bonzi S. & Wonni I. (2024). Impact des maladies sur le rendement du cotonnier au Burkina Faso. *Afrique Science*, 24(5) : 80-92.
- Zhang J., Mace M.E, Stipanovic R.D. & Bell A.A. (1993). Production and fungitoxicity of the terpenoid phytoalexins in cotton inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. *Journal of Phytopathology*, 139(3) : 247 – 252.
- Zhang L., Fletcher A.G., Cheung V., Winston F. & Stargell L.A. (2008). Spn1 regulates the recruitment of Spt6 and the Swi/Snf complex during transcriptional activation by RNA polymerase II. *Molecular and Cellular Biology*, 28(4) : 1393-403.
- Zhang Y., Wang X.F., Li Z.K., Zhang G.Y. & Ma Z.Y. (2011). Assessing genetic diversity of cotton cultivars using genomic and newly developed expressed sequence tag-derived microsatellite markers. *Genetic and Molecular Research*, 10 : 1462-1470.

ANNEXES

ANNEXE 1: COMPOSITIONS DES MILIEUX DE CULTURE**➤ Milieu PDA (Pomme de terre Dextrose Agar)**

Agar	20 g
Flocon de pomme de terre	20 g
Glucose	20 g
Eau distillée	1000 ml

Autoclavage 30 minutes, 120 °C et acidifier avec 250 mg d'acide citrique par litre de milieu

➤ Milieu Czapeck-Dox Agar (CDA)

Na NO ₃	3 g
KH ₂ PO ₄	1 g
KCl	0,5 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,5 g
Fe SO ₄ 7H ₂ O	0,01 g
Saccharose	30 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

Autoclavage 30 minutes, 120 °C

➤ Milieu Malt

Extrait de Malt	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

Autoclavage 30 minutes, 120 °C

ANNEXE 2: COMPOSITION DES REACTIFS ET SOLUTIONS MERES POUR L'EXTRACTION D'ADN FONGIQUE

➤ **EDTA**

Réactifs	MM (g/mol)	Quantité (g)	Molarité (M)	Volume (l)
EDTA, 2NA, 2H ₂ O	372,33	37,233	0,5	0,2

- Porter à pH=8 avec de la soude, ajuster à 200 ml avec de l'eau
- Autoclaver à 120 °C pendant 30 min

➤ **Tris-HCl**

Réactifs	MM (g/mol)	Quantité (g)	Molarité (M)	Volume (l)
Trizma base	121,14	24,228	1	0,2

- Porter à pH=8 avec de la soude, ajuster à 200 ml avec de l'eau
- Autoclaver à 120 °C pendant 30 min

➤ **NaCl**

Réactifs	MM (g/mol)	Quantité (g)	Molarité (M)	Volume (l)
NaCl	58,44	58,44	5	0,2

- Autoclaver à 120 °C pendant 30 min

➤ **Tampon de lyse**

Produit	Stock	Pour 500 ml	Pour 100 ml	Pour 10 ml
Tris HCl (0,1 M final)	pH=8 ; 1 M	50 ml	10 ml	1 ml
NaCl (1,4 M final)	5 M	140 ml	28 ml	2,8 ml
EDTA (20 mM final)	500 Mm	20 ml	4 ml	400 µl
MATAB (2% p/v final)	-	10 g	2 g	0,2 g
PEG 6000 (1% p/v final)	-	5 g	1 g	0,1 g

- Compléter à 500 ml avec de l'eau pure
- Autoclaver à 120 °C pendant 30 min

RESUME

Le cotonnier est une plante tropicale cultivée pour ses fibres et ses graines, qui rencontre d'énormes contraintes liées aux agents phytopathogènes. L'un des facteurs limitant la production de coton en Côte d'Ivoire est la fusariose vasculaire. Cette thèse s'inscrit dans le but de contribuer à relever les défis auquel est confrontée la filière coton de Côte d'Ivoire, particulièrement de rechercher des alternatives plus efficaces pour le développement d'une agriculture durable en utilisant de nouveaux outils moléculaires d'étude de la variabilité génétique du *Fusarium* et de sélection variétale. Spécifiquement, il a été question de connaître la distribution de la fusariose et le pouvoir pathogène des souches de Fov en Côte d'Ivoire, d'évaluer la diversité et la structure génétique des isolats et d'identifier des marqueurs de résistances à la fusariose. Des prospections et des collectes de plants fusariés ont été effectuées dans tout le bassin cotonnier. Cette évaluation a montré une forte présence de la fusariose au Sud du bassin cotonnier. Le matériel fongique obtenu à partir des échantillons de cotonniers présentant des symptômes de la fusariose au champ a été utilisé pour le test d'inoculation en vue d'évaluer le niveau de virulence des vingt-quatre (24) isolats représentatif de notre collection. Ces 24 souches ont été soumises à des analyses au laboratoire et une diversité d'agressivité au sein de la population pathogène a été observée avec trois (3) classes de pathogénicité. De plus, La différenciation génétique des isolats de Fov du bassin cotonnier était faible. Trois groupes génétiques dans la population totale ont été obtenus. Quant au diagnostic racial, il a révélé la présence des deux formes de la race 4 de Fov parmi les isolats ivoiriens. Par ailleurs, la variété CI 128 a été identifiée comme génotype tolérant à la fusariose. Enfin, Le marqueur microsatellite BNL_3932 a été identifié comme potentiel marqueur associé à la résistance de la fusariose chez les variétés de cotonnier ivoirien avec un allèle (QTL) à la taille 254 pb.

Mots clés : Cotonnier, Fusariose, diversité génétique, marqueur microsatellite, Côte d'Ivoire.

ABSTRACT

The cotton plant is a tropical species cultivated for its fibers and seeds. However, it faces significant challenges due to phytopathogenic agents. One of the key factors limiting cotton production in Côte d'Ivoire is vascular wilt. This dissertation aims to address the challenges faced by the Ivorian cotton industry by exploring more effective alternatives for sustainable agriculture through the use of novel molecular tools to study the genetic variability of *Fusarium* and to facilitate varietal selection. Specifically, the study seeks to assess the distribution and pathogenicity of Fov strains in Côte d'Ivoire, evaluate the genetic diversity and structure of the isolates, and identify markers associated with resistance to vascular wilt. Field surveys and collections of infected cotton plants were conducted throughout the cotton-growing regions. This assessment showed a strong presence of fusarium wilt in the south of the cotton basin. Fungal material obtained from cotton samples exhibiting fusarium wilt symptoms was used for inoculation tests to evaluate the virulence levels of 24 representative isolates from our collection. These 24 isolates strains were subjected to analyses in the laboratory and a diversity of aggressiveness within the pathogenic population was observed with there clusters of pathogenicity. In addition, the genetic differentiation of Fov isolates from the cotton basin is low. Three genetic groups in the total population were obtained. As for the racial diagnosis, it revealed the presence of both forms of Fov race 4 among the ivorian isolates. Furthermore, the variety CI128 was identified as a genotype tolerant to Fusarium wilt. Finally, the microsatellite marker BNL_3932 was identified as being associated with resistance to fusarium wilt in Ivorian cotton varieties with an allele (QTL) size of 254 bp.

Keywords: cotton plant, Fusarium wilt, genetic diversity, microsatellite marker, Côte d'Ivoire