

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE  
UNION-DISCIPLINE-TRAVAIL

-----  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique

-----  
**UNIVERSITE  
DE COCODY-ABIDJAN**



**U.F.R. Biosciences**

22 B.P. 582 Abidjan 22  
Tél./Fax : (225) 22 44 03 07 ; (225) 22 44 37 24

**N° d'Ordre : 457 / 2006**

Laboratoire de Botanique

**THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE  
DE COCODY - ABIDJAN**

Présentée à l'UFR Biosciences pour obtenir le titre de

**Docteur en Biologie Végétale**

Spécialité : Phytopathologie

Par :

**ABO Kouabenan**

Thème :

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. *vasinfectum* (Atk.) Sn. & H. ; analyse des relations entre les facteurs de l'environnement des sols et l'expression de la maladie.

Soutenue publiquement, le 30 septembre 2006, devant le jury composé de :

Mme ATINDEHOU KAMANZI Kagoyire, Maître de Conférences, Université de Cocody-Abidjan,	Présidente
M. TRAORE Dossahoua, Professeur Titulaire, Université de Cocody-Abidjan,	Directeur de Thèse
M. ZOUZOU Michel, Maître de Conférences, Université de Cocody-Abidjan,	Rapporteur
M. AKE – ASSI Laurent, Professeur Titulaire, Université de Cocody-Abidjan,	Examineur
M. BABACAUH Koffi Dongo, Maître de Conférences, I.N.P – H.B.,	Examineur
M. STEINBERG Christian, Chargé de Recherche et Titulaire H.D.R., I.N.R.A. de Dijon,	Co-Directeur de Thèse

*S'il devrait être reconnu un mérite à ce travail, aussi minime soit – il, qu'il soit élevé à la gloire de l'Éternel, "Otumfo Nanan Nyanköpon", pour son Amour et sa Miséricorde infinis.*

*A mon épouse Kodjo Awo Angèle  
A mes enfants N'Zoubia September et Dongoh Gérald  
A mes frères, sœurs et oncles*

*A la mémoire de mes parents :*

*† Yao Dongoh*

*† Affia N'zoubia*

## AVANT - PROPOS

Cette étude, intitulée Etude de la fusariose vasculaire du cotonnier, en Côte-d'Ivoire : caractérisation de populations de l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. et H. ; analyse des relations entre les facteurs de l'environnement des sols et l'expression de la maladie'', est le fruit d'une large collaboration impliquant trois Institutions : l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (I.N.P.-H.B.), l'Université de Cocody, en Côte-d'Ivoire et l'Institut National de la Recherche Agronomique (I.N.R.A.) de Dijon, en France.

L'idée de travailler sur ce sujet a germé pendant la campagne cotonnière 1994/1995, mais la mise en œuvre a connu beaucoup de difficultés. Ces difficultés nous ont conduit, naturellement, vers des personnes et Institutions qualifiées, disponibles, sans lesquelles nous n'aurions pas pu obtenir ces résultats. Les résultats obtenus, sans être toutefois exhaustifs, demeurent significatifs et intéressants, pour répondre à des questions essentielles, dans une étude qui se veut, avant tout, préliminaire sur une problématique nouvelle qu'est la fusariose vasculaire du cotonnier, en Côte-d'Ivoire.

C'est pourquoi nous tenons à exprimer notre gratitude à toutes ces personnes qui, d'une manière ou d'une autre, de près ou de loin, nous ont aidé.

M. TRAORE Dossahoua, Professeur Titulaire de Botanique et Biologie Végétale à l'Université de Cocody, notre Directeur de thèse, a bien voulu assurer, sans réserve, avec disponibilité et patience, le suivi scientifique de cette étude.

Dr. Christian STEINBERG, Chargé de Recherches et titulaire de l'Habilitation à Diriger des Recherches (H.D.R.), Co-Directeur de thèse, Dr. Claude ALABOUVETTE, Directeur de Recherches, tous deux à l'I.N.R.A. de Dijon, en France, ont assuré, avec le plus grand dévouement, le suivi scientifique de ce travail, aussi bien en Côte d'Ivoire qu'à Dijon où ils nous ont permis, au-delà de la réalisation des travaux, d'apprendre d'importantes techniques de laboratoire des plus simples aux plus complexes et utiles à une carrière de phytopathologiste.

Mme ATINDEHOU KAMANZI Kagohire, Maître de Conférences à l'U.F.R. Biosciences de l'Université de Cocody-Abidjan, animée d'une grande ouverture scientifique, a accepté, avec la plus grande disponibilité, d'instruire cette thèse et d'en assurer la présidence du jury.

M. BABACAUH Koffi Dongo, Maître de Conférences, Phytopathologiste à l'I.N.P.-H.B., nous a donné un appui scientifique nourri d'un excellent recul, d'une grande et longue expérience d'enseignant et de chercheur en pathologie végétale.

M. AKE – ASSI Laurent, Professeur Titulaire à l'U.F.R. Biosciences de l'Université de Cocody-Abidjan, éminent botaniste qu'il est, nous a honoré en acceptant de participer au jury de thèse ; ses observations nous ont été d'une grande utilité dans la finalisation de ce mémoire.

M. ZOUZOU Michel, Maître de Conférences à l'U.F.R. Biosciences de l'Université de Cocody-Abidjan, associé aux différentes étapes de ce mémoire, et en acceptant, en plus, de participer au jury, nous a nourri de remarques et de conseils très avisés de spécialiste du cotonnier.

M. TANO Yao, Professeur Titulaire à l'U.F.R. Biosciences de l'Université de Cocody, nous a encouragé et soutenu scientifiquement comme chercheur et surtout comme un aîné soucieux de la carrière des plus jeunes.

M. AKE Séverin, Professeur Titulaire à l'U.F.R. Biosciences, nous a apporté l'appui scientifique du spécialiste en pathologie végétale et également le soutien d'un aîné soucieux de partager son savoir immense.

Madame Nadine GAUTHERON, Dr. Véronique EDEL, Mesdames Martine JANISZ, Elisabeth TROUCHE, Barbara BURAKOWSKI, Messieurs Bernard LEBIHAN et Daniel POUHAIR se sont donnés corps et âmes, dans la plus grande disponibilité et sympathie, pour que non seulement nos travaux réussissent dans leur laboratoire, mais aussi pour que nos différents séjours à Dijon soient des plus agréables.

Dr. Keith KLEIN, spécialiste de Génétique des Populations, de l'Université de l'Etat de Minnesota aux Etats-Unis d'Amérique, pendant son séjour pour des recherches à l'I.N.R.A., nous a initié à la notion de "Mating-Type" et a contribué à la caractérisation de nos souches de *Fusarium oxysporum*.

Dr. Ana PEREZ, Dr. Sophie TROUVELOT, Mlle Cécile GUILLEMAUT, Céline JANVIER, Dr. Hiroshi ISHIMOTO et M. Sébastien AIME nous ont manifesté une grande amitié et suscité ainsi une ambiance au bon déroulement de nos travaux à l'I.N.R.A.

Madame Jeannette LAMBERT et toute sa famille, à Dijon, M. Pierre de la VAISSIERE, Maître de Conférences à l'E.N.E.S.A.D. de Dijon et Madame nous ont exprimé, en tous temps et circonstances, leurs soutien et amitié.

Dr. TIE BI Tra, Maître-Assistant à l'I.N.P.-H.B., Responsable du Laboratoire de Pédologie, a analysé gratuitement nos échantillons de sols.

Dr. KAMA Berté et son épouse nous ont aidé, de façon inestimable, en contribuant à l'obtention d'une documentation importante sur la fusariose vasculaire et à la collecte des échantillons de sols en Côte d'Ivoire.

M. NIERE Koffi, Directeur de la Production Agricole à la C.I.D.T. et Dr. OCHOU Ochou Germain, Responsable du Programme Coton au C.N.R.A., manifestant un intérêt certain pour cette étude, ont facilité le travail de terrain et des échanges très fructueux.

Notre reconnaissance va, également, à l'endroit de nos collègues, de nos amis et de nos partenaires de la filière coton qui n'ont jamais cessé de nous soutenir. Qu'il nous soit permis de citer : M. N'GUESSAN Jean Fidèle, Dr. DANHO Mathias, Dr. KONE Daouda Seydou, M. KOUAME N'grouma Lucien, Dr. FONDIO Lassina, Dr. POHE Jean, M. AKAMOU Fataye, M. OURAGA Yougo, M. KOBENAN Thin Ignace, M. NOKPIN Eman, Dr. GNAGO Ayékpa Jean, Dr. AGNEROH ATCHAM Thérèse, Dr. BAH Coumounao Paul, Dr. ZEZE Adolphe, Dr. ANGUI Pascal, M. KOUADIO Kouakou Théodore, M. KOUAKOU Kouadio Michel, M. KOUA Dominique, M. AHOUTY Jean Pierre Marie, M. YEBOUE François de Paul, Dr. DIALLO ATTA Hortense, Dr. BROU Yao Casimir, Dr. HALA N'Klo, Dr. ALLOU Kouassi, Dr. Hubert De FRANQUEVILLE, M. DIABATE Sékou, M. KOUADIO Bouattenin, M. TANO Bernard Firmin, M. KOUAKOU Koffi Patrice, tout le personnel de notre Laboratoire de Phytopathologie à l'I.N.P.-H.B de Yamoussoukro.

Nous remercions, aussi, tous les amis de la 23<sup>ème</sup> promotion de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (E.N.S.A.) de Yamoussoukro, l'Association Ivoirienne des Sciences Agronomiques (A.I.S.A.) et son président pour leur soutien.

Notre séjour, à l'I.N.R.A. à Dijon, n'aurait pas eu lieu si cette heureuse opportunité, que sont les bourses pour les thèses en alternance, ne nous avait pas été offerte par la France, à travers son système de coopération. Nous voudrions, très humblement, saluer cette initiative et remercier, entre autres, Mme AMAN, Mme KOBON, Mlle KAKOU à la Mission de Coopération Française à Abidjan, Mme Sabine BELLISSON au Centre Français pour l'Accueil et les Echanges Internationaux (EGIDE) à Paris.

# TABLE DES MATIERES

<b>SIGNIFICATION DES ABREVIATIONS ET SIGLES</b>	x
<b>LISTES DES FIGURES</b>	xii
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	xiv
<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	1
<b>PREMIERE PARTIE : REVUE DE LITTERATURE</b>	4
<b>CHAPITRE I : CONNAISSANCES GENERALES SUR LE COTONNIER ET SA CULTURE</b>	5
<b>I – CLASSIFICATION ET AIRES DE DISPERSION</b>	5
<b>II - DESCRIPTION GENERALE DE LA PLANTE</b>	7
2-1 Morphologie	7
2-2 Biologie et physiologie	10
2-2-1 Cycle du cotonnier	10
2-2-2 Nutrition du cotonnier	11
<b>III- CULTURE DU COTONNIER ET PRODUCTION DU COTON - GRAINE</b>	11
3-1 Exigences écologiques de la culture	11
3-2 Divisions phytogéographiques de Côte-d’Ivoire et sols de culture du cotonnier	11
3-3 Itinéraire technique du cotonnier	16
3-3-1 Dispositif de plantation et semis	16
3-3-2 Entretien et fumure	16
3-4 Production de coton en Côte d’Ivoire	17
3-4-1 Production et système d’encadrement	17
3-4-2 Variétés de cotonniers cultivées	19
<b>IV- RAVAGEURS ANIMAUX ET MALADIES DU COTONNIER</b>	20
4-1 Ravageurs animaux	20
4-2 Maladies	20
<b>CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES FUSARIOSES VASCULAIRES DUES A <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> ( SCHLECHT.) SN. &amp; H.</b>	25
<b>I- PRESENTATION DE <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i></b>	25
1-1 Evolution du concept taxonomique	25
1-2 Description	27
1-2-1 Genre <i>Fusarium</i> Link	27
1-2-2 <i>Fusarium oxysporum</i> (Schlecht.) Sn. & H.	28
1-2-3 Aspects génétiques de <i>F. oxysporum</i>	33
<b>II- INFLUENCE DES FACTEURS DE L’ENVIRONNEMENT DU SOL SUR L’EXPRESSION DES FUSARIOSES VASCULAIRES</b>	34
2-1 Concepts de base	34
2-2 Facteurs en cause	36
2-2-1 Rôle des facteurs abiotiques du sol	36

2-2-2 Rôle des facteurs biotiques	37
<b>III- MANIFESTATION DE LA FUSARIOSE VASCULAIRE DU COTONNIER</b>	39
<b>IV- ETIOLOGIE, RELATION HOTE PARASITE ET EPIDEMIOLOGIE</b>	41
4-1 Pathogénicité et spécificité parasitaire	41
4-2 Epidémiologie et interactions hôte – parasite	42
4-3 Méthodes de lutte	44
<b>DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES</b>	47
<b>CHAPITRE I : MATERIELS</b>	50
<b>I- MATERIEL BIOLOGIQUE</b>	50
1-1 Matériel végétal	50
1-2 Matériel fongique	50
<b>II- SOLS</b>	53
<b>III- MATERIEL TECHNIQUE</b>	53
3-1 Matériel de laboratoire	53
3-2 Matériel de terrain	55
<b>CHAPITRE II : METHODES</b>	56
<b>I- ANALYSE DES POPULATIONS DE <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i></b>	56
1-1 Prospection des zones de culture du cotonnier	56
1-2 Isolement et identification	56
1-2-1 Isolement à partir de cotonniers malades	56
1-2-2 Isolement à partir du sol	57
1-2-3 Identification	57
1-2-4 Isolement monospore	61
1-3 Pouvoir pathogène des isolats de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> de Côte d’Ivoire	61
1-4 Caractérisation phénotypique et génotypique des isolats de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	63
1-4-1 Caractérisation phénotypique par les groupes de compatibilité végétative	63
1-4-1-1 Principe et objectifs	63
1-4-1-2 Méthode	65
1-4-2 Caractérisation génotypique	67
1-4-2-1 Analyse des types IGS	67
1-4-2-2 Analyse Mating type	76
1-4-2-3 Analyse des résultats	78
<b>II - ANALYSE DES FACTEURS DE L’ENVIRONNEMENT DES SOLS DE CULTURE DU COTONNIER, EN COTE D’IVOIRE</b>	79
2-1 Réceptivité des sols de culture à la fusariose vasculaire	79
2-1-1 Définition et principe	79
2-1-2 Méthodes	81
2-1-2-1 Conditions de l’essai et dispositif expérimental	81
2-1-2-2 Production d’inoculum de Fnl3 et FOV6	81
2-1-2-3 Conditions de culture du lin et du cotonnier	81

2-1-2-4 Inoculation des sols	84
2-1-2-5 Evaluation de l'apparition et de l'évolution de la maladie	84
2-2 Analyses des sols	86
2-2-1 Analyses physico-chimiques	86
2-2-2 Analyse des microflores telluriques	88
2-2-2-1 Principe et objectif	88
2-2-2-2 Flore fongique totale	89
2-2-2-3 Flore bactérienne totale	89
2-2-2-4 Flore fusarienne spécifique	89
2-2-2-5 Test de pathogénicité des isolats de <i>F. oxysporum</i> obtenus des sols sous cotonnier	91
2-2-3 Activité biologique des sols	93
2-2-3-1 Activité déshydrogénase	93
2-2-3-2 Détermination des profils métaboliques des communautés bactériennes des sols	94
<b>TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSIONS</b>	99
<b>CHAPITRE I : RESULTATS</b>	100
<b>I- POUVOIR PATHOGENE DES ISOLATS IVOIRIENS DE <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F. SP. <i>VASINFECTUM</i></b>	100
<b>II- DIVERSITE DES POPULATIONS DE <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F. SP. <i>VASINFECTUM</i></b>	102
2-1 Groupes de compatibilité végétative	102
2-2 Caractérisation génotypique	102
2-2-1 Diversité des types IGS	102
2-2-2 Fréquence des mating types	109
<b>III- RECEPTIVITE DES SOLS A LA FUSARIOSE VASCULAIRE</b>	111
<b>IV- ELEMENTS PHYSICO - CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES DES SOL</b>	113
4-1 Eléments physico-chimiques	113
4-2 Analyse quantitative des microflores telluriques	116
4-2-1 Microflore bactérienne totale	116
4-2-2 Microflore fongique totale	116
4-2-3 Microflore fusarienne	118
4-2-4 Pathogénicité des isolats de <i>F. oxysporum</i> issues des sols de Côte d'Ivoire	120
4-3 Activité biologique des sols	122
4-3-1 Activité déshydrogénase	122
4-3-2 Activité bactérienne mesurée par la méthode Biolog	126
4-4 Relations entre les facteurs biotiques des sols et l'expression de la fusariose vasculaire	135
<b>CHAPITRE II : DISCUSSIONS</b>	136
<b>I- STRUCTURE DES POPULATIONS DE <i>F. OXYSPORUM</i> F.SP. <i>VASINFECTUM</i></b>	136
1-1 Pouvoir pathogène des isolats de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> de Côte d'Ivoire	136



1-2 Mise en évidence de nouveaux groupes au sein des populations pathogènes de <i>Fusarium oxysporum</i>	137
1-3 Comparaison des nouveaux isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> avec ceux déjà décrits et analyse de leurs affinités	138
1-4 Mise en évidence de la clonalité des pathogènes	139
<b>II- ANALYSE DE L'EXPRESSION DE LA MALADIE EN RELATION AVEC L'ENVIRONNEMENT DES SOLS</b>	141
2-1 Réceptivité des sols de culture à la fusariose vasculaire	141
2-2 Relations entre facteurs du sol et expression de la maladie	142
<b>III- RELATIONS ENTRE LA DIVERSITE DES POPULATIONS DE <i>F. OXYSPORUM</i> F. SP. <i>VASINFECTUM</i>, LES ELEMENTS DE L'ENVIRONNEMENT DES SOLS ET L'ECOLOGIE DE LA FUSARIOSE VASCULAIRE DU COTONNIER EN COTE D'IVOIRE</b>	146
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES</b>	148
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	152
<b>INDEX ALPHABÉTIQUE DES TAXONS CITÉS</b>	171
<b>LEXIQUE</b>	174
<b>ANNEXES</b>	180
<b>ANNEXE I : MILIEUX DE CULTURE</b>	181
<b>ANNEXE II : CULTURES DE <i>F. OXYSPORUM</i> F.SP. <i>VASINFECTUM</i>, METTANT EN EVIDENCE LA FORMATION D'HETEROCARYONS ENTRE DEUX SOUCHES MUTANTES</b>	184
<b>ANNEXE III : PROTOCOLE DE PRODUCTION D'INOCULUM DE <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> SUR TALC</b>	185
<b>ANNEXES IV : SUBSTRATS DE CARBONE RENCONTRES DANS LES PLAQUES DE MICROTITRATION BIOLOG</b>	187
<b>ANNEXE V : MESURE DU POUVOIR PATHOGENE DES ISOLATS DE FOV DE COTE D'IVOIRE</b>	191
<b>ANNEXE VI : ANALYSES STATISTIQUES</b>	193
<b>ANNEXE VII : ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES SOLS</b>	207
<b>ANNEXE VIII : CLASSES DE PATHOGENICITE DES ISOLATS DE <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> ISOLES DES SOLS DE COTE D'IVOIRE (BOUAKE, DALOA, BEOUMI ET KORHOGO)</b>	208
<b>ANNEXE IX : ARTICLE PUBLIE DANS LE CADRE DE LA THESE</b>	210

## SIGNIFICATION DES ABREVIATIONS ET SIGLES

<i>Alu</i>	: Enzyme de restriction produite par <i>Arthrobacter luteus</i>
A.D.N.	: Acide Désoxyribonucléique
A.MO.VA.	: Analysis of Molecular Variance
AN.O.VA.	: Analysis Of Variance
A.PRO.COT.-C.I.	: Association Professionnelle des sociétés Cotonnières de Côte d'Ivoire
A.R.N.	: Acide Ribonucléique
A.T.C.C.	: American Type Culture Collection, Manassas
A.U.D.P.C.	: Area Under Disease Progression Curve
A.W.C.D.	: Average Well Color Development
B.B.A.	: Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft, Berlin, Germany
B.ET.	: Bromure d'Ethidium
B.S.A.	: Bovine Serum Albumine
C.B.S.	: Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands
C.E.I.	: Communauté des Etats Indépendants
C.F.U.	: Colony Forming Unit
C.I.D.T.	: Compagnie Ivoirienne pour le Développement des Textiles
C.N.R.A.	: Centre National de recherche Agronomique
C.P.C.S.	: Commission de Pédologie et de Cartographie des Sols
D.C.G.Tx	: Direction et Contrôle des Grands Travaux
dN.T.P.	: désoxyNucléotides TriPhosphates
D.O.	: Densité Optique
E.D.T.A.	: Ethylène – Diamino – Tetra - Acétique
E.N.E.S.A.D.	: Etablissement National d'Enseignement Supérieur Agronomique de Dijon
E.N.S.A.	: Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie
FOV	: <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>
f. sp.	: forme spéciale
G.N.	: Gram Négatif
<i>het</i>	: hétérocaryon (gène)
H.S.I.	: Heterocaryon Self Incompatible
<i>Hae</i>	: Enzyme de restriction produite par <i>Haemophilus aegyptius</i>
<i>Hinf</i>	: Enzyme de restriction produite par <i>Haemophilus influenzae</i>
Hy	: Hypoxanthine
I.C.	: Ivoire Coton
I.DES.SA.	: Institut Des Savanes
I.G.S.	: InterGenic Spacer
I.M.I.	: International Mycological Institute, Surrey, UK
I.N.P-H.B.	: Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny
I.N.R.A.	: Institut National de la Recherche Agronomique
I.R.	: Indice de Rabougrissement
I.R.C.T.	: Institut de Recherche du Coton et des Textiles exotiques
I.T.S.	: Internal Transcribed Spacer

K.P.S.	: Chlorate de Potassium + P.D.A.
L.C.C.I.	: La Compagnie Cotonnière Ivoirienne
L.P.G.A.	: Levure Peptone Glucose Agar
M.P.	: Milieu paysan
<i>Msp</i>	: Enzyme de restriction produite par <i>Moraxella species</i>
<i>Nit</i>	: Nitrate non utilizing mutants
N.R.R.L.	: Northern Regional Research Lab., Peoria.
N.T.SYS.	: Numerical Taxonomy and multivariate analysis System
O.R.S.T.O.M.	: Office de la Recherche Scientifique des Territoires d’Outre-Mer
P.C.R.	: Polymerase Chain Reaction
P.D.A.	: Potato Dextrose Agar
P.O.	: Poste d’Observation
Qsp	: Quantité suffisante pour
R.F.L.P.	: Restriction Fragment Length Polymorphism
<i>Scrf</i>	: Enzyme de restriction produite par <i>Streptococcus cremonis</i>
S.D.S.	: Sodium Dodécyl Sulfate
SO.FA.CO.	: Société africaine de Fabrication, de formulation et de Conditionnement
<i>Rsa</i>	: Enzyme de restriction produite par <i>Rhodopseudomonas sphaeroides</i>
T.A.E.	: Trisma base – Acétate de sodium – EDTA (Tampon)
<i>Taq</i>	: Enzyme polymérase produite par <i>Thermus aquaticus</i>
T.T.C.	: TriphénylTetrazolium Chloride
T.T.F.	: Triphényl Tetrazolium Formazan
V.C.G.	: Vegetative Compatibility Group
Vf	: Volume final
<i>vic</i>	: Vegetative incompatibility (gène)
W.I.	: wilt Index
<i>Xho</i>	: Enzyme de restriction produite par <i>Xanthomonas holcicola</i>

## LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Figure 1 : Espèces cultivées de <i>Gossypium</i> sp.	6
Figure 2. Plant de cotonnier ( <i>Gossypium hirsutum</i> ) et ses organes dans un champ à Korhogo	9
Figure 3 : Formations végétales de Côte d'Ivoire	13
Figure 4 : Types de sols de Côte d'Ivoire	15
Figure 5 : Domaines d'intervention des sociétés de développement du coton en zone cotonnière de Côte d'Ivoire	18
Figure 6 : Zones d'apparition de la fusariose vasculaire du cotonnier en Côte d'Ivoire	23
Figure 7 : Champ de cotonnier sain, en milieu paysan, à Kounahiri	24
Figure 8 : Champ de cotonnier gravement atteint de fusariose, en milieu paysan, à Béoumi	24
Figure 9 : Aspect microscopique de <i>Fusarium oxysporum</i>	32
Figure 10 : Symptômes de la fusariose vasculaire du cotonnier	40
Figure 11 : Zones cotonnières prospectées dans le cadre de l'étude	58
Figure 12 : Représentation schématique d'une unité d'ADN ribosomique de champignon	69
Figure 13 : Dispositif de semis en barquettes et de conduite des plants de lin en chambre climatisée	85
Figure 14 : Dispositif de culture de plants de cotonniers, en chambre climatisée, pour le test de pathogénicité des isolats de <i>F. oxysporum</i> obtenus des sols de Côte d'Ivoire	92
Figure 15 : Indices de flétrissement et de rabougrissement de 17 isolats de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> de Côte d'Ivoire	101
Figure 16 : Profils de restriction de fragments d'ADNr de souches de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> amplifiés par PCR, digérés par des enzymes de restriction et analysés en gel d'agarose	104
Figure 17 : Distribution des types IGS dans un dendrogramme	108
Figure 18 : Mortalité des plants de lin après inoculation à différentes doses de Foln dans 5 sols	112
Figure 19 : Nombre de bactéries par gramme de sol des différents sols analysés	117
Figure 20 : Nombre de champignons par gramme de sol des différents sols analysés	117
Figure 21 : Quantité totale de <i>Fusarium</i> par gramme de sol sec analysé	119
Figure 22 : Fréquence des isolats de <i>F. oxysporum</i> et de leurs origines en fonction des classes de mortalité	121
Figure 23 : Tubes présentant la couleur du formazan rouge, à différentes teintes, exprimant l'activité respiratoire des différents sols	123
Figure 24 : Activité déshydrogénase des sols, sans glucose, à 0 heure et 24 heures d'incubation	124

Figure 25 : Activité déshydrogénase des sols après apport de glucose à différents temps d'incubation	124
Figure 26 : Plaques Biolog présentant la couleur du formazan rouge, à différentes intensités, exprimant l'activité métabolique bactérienne en fonction du substrat inoculé	127
Figure 27 : Courbes d'évolution de l'A.W.C.D. des sols de Bouaké, de Daloa, de Béoumi et de Korhogo	128
Figure 28 : Activité des sols en fonction du substrat amines/ amides	131
Figure 29 : Activité des sols en fonction du substrat amino-acides	131
Figure 30 : Activité des sols en fonction du substrat carbohydrates	131
Figure 31 : Activité des sols en fonction du substrat acides carboxyliques	132
Figure 32 : Activité des sols en fonction du substrat polymères	132
Figure 33 : Activité des sols en fonction du substrat "miscellaneous"	132
Figure 34 : Activité biologique du sol de Bouaké, sur les différents substrats	134
Figure 35 : Activité biologique du sol de Daloa, sur les différents substrats	134
Figure 36 : Activité biologique du sol de Béoumi, sur les différents substrats	134
Figure 37 : Activité biologique du sol de Korhogo, sur les différents substrats	134

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I :	Synthèse de l'évolution du concept taxonomique chez <i>Fusarium</i>	26
Tableau II :	Morphotypes chez <i>F. oxysporum</i>	30
Tableau III :	Nouveaux isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> de Côte d'Ivoire	51
Tableau IV :	Souches de la collection internationale de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	52
Tableau V :	Localités prospectées	57
Tableau VI :	Caractéristiques des mutants selon les sources d'azote utilisées	66
Tableau VII :	Conditions standard d'une réaction d'amplification par P.C.R. et concentrations des différents composants de la réaction	73
Tableau VIII :	Conditions P.C.R. PNFO - PN22 (IGS)	73
Tableau IX :	Doses d'inoculum calculées pour F0ln3B5	83
Tableau X :	Doses d'inoculum calculées pour FOV6	83
Tableau XI :	Localités de prélèvement des sols pour les analyses physico – chimiques	87
Tableau XII :	Temps d'incubation et conditions du test selon les différents sols	95
Tableau XIII :	Tailles des fragments de restriction révélés dans l'analyse de l'IGS par P.C.R.-R.F.L.P.	105
Tableau XIV :	Types IGS et profils des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> révélés par l'analyse P.C.R. / R.F.L.P.	106
Tableau XV :	Groupes d'isolats de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i> selon leurs caractéristiques génotypiques et phénotypiques	110
Tableau XVI :	Rapports pondéraux des éléments indicateurs de fertilité ou de stabilité	115
Tableau XVII :	Comparaison des quantités moyennes des flores fusariennes des sols, selon les localités de prélèvement et selon des espèces identifiées	119

## INTRODUCTION GENERALE

Le cotonnier est l'une des cultures d'exportation les plus importantes de la Côte d'Ivoire. Pour les populations rurales du Nord et du Centre du pays, il est la base de divers systèmes de culture et constitue la principale source de revenu. La campagne agricole 2000/2001 a enregistré 402.916 tonnes de coton-graine, sur une superficie de 307.569 ha occupant 137.000 paysans (Amani, 2002). Celle de 2004/2005 a concerné, près de 200.000 paysans pour une superficie de 328.336 ha avec une production de 321.772 tonnes, procurant un revenu brut d'environ 58 milliards de F. C.F.A. aux producteurs (A.PRO.COT.-C.I., 2005).

Cependant des contraintes à une bonne expression des productions cotonnières existent. En dehors des ravageurs animaux (insectes et autres invertébrés), on notera des affections dues à des agents phytopathogènes. Les agents pathogènes responsables des maladies du cotonnier sont aussi bien des champignons, des bactéries, des virus ou des mycoplasmes (Parry, 1982). Nous signalons, comme maladies, la fonte de semis due à *Rhizoctonia solani* Kuehn ou à *Pythium* spp., la nécrose de la tige causée par *Sclerotium rolfsii* Sac., les macules foliaires causées par *Alternaria* spp., la stigmatomycose ou pourriture des capsules due aux *Nematospora* spp., la pourriture des capsules due à *Diplodia gossypina* Cke, les lésions d'anthracnose sur les capsules dues à *Colletotrichum* spp., la trachéomycose ou wilt ou encore fusariose vaculaire du cotonnier causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. & H. (C.I.R.A.D., 1994).

Cette dernière serait, potentiellement, la maladie la plus importante sur le cotonnier (Smith et Snyder, 1975 ; Kappelman, 1983 ; Baird et Carling, 1998). Les pertes de récoltes, occasionnées par la fusariose, sont estimées à 2 % par an en moyenne (Hillocks, 1984). Les dommages peuvent être plus importants, surtout lorsque les conditions pédoclimatiques sont favorables. En effet, elles varient en fonction des facteurs environnementaux, du niveau de résistance des variétés cultivées, du potentiel d'inoculum dans le sol, de la présence de nématodes, de l'utilisation des engrais chimiques et de l'application de traitements phytosanitaires. Par conséquent, les pertes de récoltes les plus importantes sont enregistrées dans les régions où les pratiques culturales et les moyens de contrôle sont déficients (Hillock, 1984).

Les fusarioses sont causées par les champignons du genre *Fusarium* Link. D'après Roger (1953), ce genre constitue le plus important de la famille des tuberculariaceae, à la fois par le nombre et l'extension de ses espèces et par le rôle pathogène de certaines d'entre elles. Les actions pathogènes générales des *Fusarium* et les altérations qui en découlent peuvent se classer, selon le même auteur, en trois catégories : les chancres, les pourritures et les trachéomycoses ou maladies vasculaires. Les fusarioses vasculaires sont déterminées par les espèces possédant une action parasitaire spécifique sur les vaisseaux conducteurs qu'elles obstruent et font brunir.

Selon Rouxel (1978), les populations de *Fusarium oxysporum*, agents de fusarioses vasculaires, sont douées d'une ubiquité remarquable. On les rencontre, en effet, sous toutes les latitudes et dans pratiquement tous les types de sols. De plus, malgré leur spécialisation parasitaire très étroite, des formes spéciales différentes attaquent un nombre élevé d'hôtes, affectant aussi bien des monocotylédones que des dicotylédones, des plantes annuelles que des plantes pérennes (Armstrong et Armstrong 1981).

D'après Gordon (1993), *F. oxysporum* est une espèce asexuée ; c'est-à-dire une unité taxonomique et biologique à part entière qui est dominée par une reproduction asexuée. Comme de nombreux autres champignons filamenteux, les souches de *F. oxysporum* peuvent former des hétérocaryons, par anastomose ou fusion d'hyphes (Leslie, 1993). Deux souches appartenant au même groupe de compatibilité végétative ou VCG possèdent des allèles identiques à chaque locus et sont donc capables de former un hétérocaryon stable. Grâce aux travaux initiés par Puhalla (1985), les VCG ont été beaucoup utilisés pour caractériser des souches de *F. oxysporum*, essentiellement des souches pathogènes (Kistler *et al.*, 1998).

*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. & H., responsable de la fusariose vasculaire du cotonnier, s'appelait, anciennement, *Fusarium vasinfectum* Atk. (synonyme de *F. malvacearum* Taub.) et appartenait à la section *Elegans*, sous-section *Oxysporum* (Roger, 1953). Sa nouvelle position taxonomique, depuis les travaux de Snyder et Hansen en fait désormais une forme spéciale au sein de l'espèce *Fusarium oxysporum* (Messiaen et Cassini, 1968).

D'après Lagièrre (1966), la fusariose du cotonnier est présente dans la majorité des pays cotonniers. La maladie fut signalée, en 1933 au Congo (République Démocratique du Congo), en 1950 en Centrafrique. Selon cet auteur, elle serait absente du Tchad, du Cameroun, du Dahomey (Bénin), du Togo, de la Côte d'Ivoire, de la Haute Volta (Burkina Faso), du Niger et du Mali. Follin (1988) signale que l'apparition de la fusariose vasculaire du cotonnier reste limitée en Afrique francophone à la Côte d'Ivoire et à la Centrafrique. Les premières affections, en Côte d'Ivoire, se seraient manifestées aux environs des années 1983 / 1984, dans une plantation paysanne, à Daoukro, dans le Centre-Est forestier du pays.

Les affections vasculaires dues aux champignons du sol, notamment à *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, sont difficiles à contrôler par les méthodes classiques de lutte (par l'usage de produits agro-chimiques). Seule la lutte génétique, par la sélection de variétés résistantes, est prometteuse, mais nécessite, cependant et préalablement à sa mise en œuvre, de connaître les exigences écologiques du pathogène.

La situation de la fusariose vasculaire du cotonnier, en Côte d'Ivoire, est devenue très préoccupante. En effet, seulement présente, au début de son apparition, que sur les postes d'observation et d'expérimentation des Instituts de recherche et sociétés de développement de cotonniers, elle connaît, ces dernières campagnes agricoles, une explosion et une extension importante en milieu paysan.



La situation épidémiologique actuelle de la maladie, l'inexistence de moyens adéquats de lutte, le poids économique du cotonnier pour les populations paysannes sont autant d'éléments qui justifient la présente étude.

Notre objectif est de déterminer l'origine génétique et/ou anthropique (échanges commerciaux, mobilité humaine) de cette épidémie ainsi que son développement (conditions pédoclimatiques, pratiques culturales, rôle de la microflore tellurique indigène) dans les régions productrices. En d'autres termes, cette étude doit nous permettre de comprendre les mécanismes impliqués dans les relations entre les facteurs de l'environnement du sol et l'expression de la maladie, de mettre à la disposition du généticien sélectionneur des informations sur la structure des populations pathogènes de ce champignon et d'envisager, à terme, une lutte intégrée et efficace.

Le présent mémoire sera articulé autour de trois axes :

- une revue de littérature permettant de comprendre le contexte général de l'étude ;
- une approche méthodologique donnant un aperçu des méthodes et matériels utilisés pour réaliser le travail ;
- des résultats et des discussions portant : (i) sur la diversité des populations pathogènes de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* et (ii) sur la réceptivité des sols de Côte d'Ivoire à la maladie ainsi que la description des facteurs environnementaux (physiques, chimiques et biologiques) qui les caractérisent.

PREMIERE PARTIE :  
**REVUE DE LITTERATURE**

# CHAPITRE I : CONNAISSANCES GÉNÉRALES SUR LE COTONNIER ET SA CULTURE

## I – CLASSIFICATION ET AIRES DE DISPERSION

La position taxonomique du cotonnier est la suivante :

Embranchement	: Spermaphytes
Sous-embranchement	: Angiospermes
Classe	: Dicotylédones
Sous-classe	: Dialypétales
Ordre	: Malvales
Famille	: Malvaceae
Tribu	: Hibisceae
Genre	: <i>Gossypium</i>

Le nombre chromosomique de base du cotonnier (*Gossypium* L.) est  $n = 13$ . Les premières études cytologiques et de botanique ont permis de classer les espèces en deux grands groupes (Parry, 1982 ; Ministère de la Coopération et du Développement, 1991) :

- les espèces diploïdes, au nombre de 40 environ, avec  $2n = 26$  ;
- les espèces tétraploïdes, au nombre de 6, avec  $2n = 52$ .

- Espèces diploïdes

Parmi ces espèces, deux sont le plus souvent citées. Il s'agit de *Gossypium herbaceum* L. et *Gossypium arboreum* L. (figure 1).

*Gossypium herbaceum* a de petites capsules rondes, les feuilles aux lobes arrondies et les bractées aux dents peu marquées.

*Gossypium arboreum* a des capsules allongées, les feuilles aux lobes profondément marquées.

- Espèces tétraploïdes

Les espèces couramment utilisées en culture cotonnière sont *Gossypium barbadense* L. et *Gossypium hirsutum* L. (figure 1).

*Gossypium barbadense* a des capsules allongées, fortement pustulées, des feuilles lisses, des fleurs à colonne staminale longue avec le stigmate qui dépasse largement les étamines ; des taches rouges sont observées à la base des pétales jaunes.

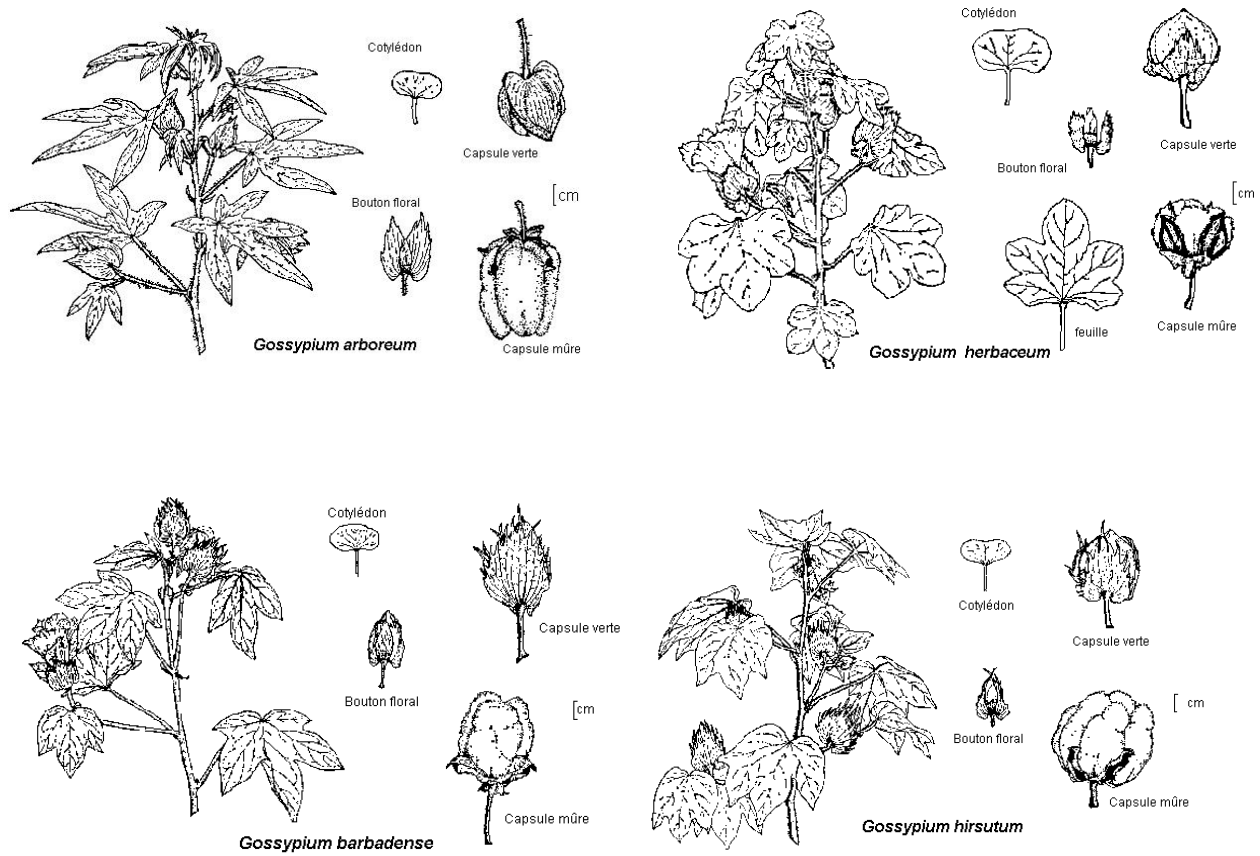


Figure 1 : Espèces cultivées de *Gossypium* sp. (C.I.R.A.D., 1994)

*Gossypium hirsutum* a des capsules plutôt rondes et lisses, des fleurs à colonne staminale courte ; le stigmate se situe au niveau des étamines ; les pétales sont de couleur blanc à crème ; les feuilles sont velues à très velues.

*Gossypium hirsutum* assure 90 % de la production mondiale de coton quand *G. barbadense* assure 5 %. Les deux espèces diploïdes *G. herbaceum* et *G. arboreum* représentent, ensemble, moins de 5 % de la production.

Les centres de diversification des espèces de cotonnier sont la presqu'île du Yucatan (Mexique et Guatemala) pour *G. hirsutum*, les contreforts andins de l'Equateur et du Pérou pour *G. barbadense*, et le Sud de l'Afrique pour *G. herbaceum* ; cette dernière espèce a été domestiquée, probablement, dans le Sud de l'Arabie. *Gossypium arboreum* serait apparue au moment de l'extension de *G. herbaceum*, vers l'Inde. Les origines géographiques de ces espèces ont valu les dénominations de "cotonniers de l'ancien monde" aux types diploïdes et "cotonniers du nouveau monde" aux tétraploïdes (Ministère de la Coopération et du Développement, 1991). *G. anomalum*, *G. triphyllum*, *G. barbosanum*, *G. capitis-viridis* (qui n'existe qu'en herbier) sont des espèces sauvages africaines (Parry, 1982, Aké-Assi, communication personnelle). Il y aurait, environ, une trentaine d'espèces sauvages impropres à tout usage textile, mais dont l'importance est avérée en génétique, pour la sélection de caractères en vue de l'amélioration du cotonnier cultivé (Parry, 1982).

## II - DESCRIPTION GENERALE DE LA PLANTE

### 2-1 Morphologie

Selon Demol (1992), la plante a une morphologie simple et se présente de la manière suivante :

#### \* Racines

La radicule se transforme en racine principale, de longueur variable, qui peut atteindre 3 m de longueur dans le sol.

#### \* Port et ramifications

La tige principale (figure 2) est érigée, sa croissance est terminale et continue. Habituellement, les ramifications végétatives sont basales. Les ramifications fructifères sont plus en hauteur.

### \* Feuilles

On observe, chez le cotonnier, plusieurs types de feuilles (figure 2) :

- les feuilles cotylédonaire se composent d'un limbe en forme de rognon irrégulier et d'un pétiole ;
- les deux premières feuilles sont à limbe généralement entier ou peu denté, lancéolé ;
- les feuilles supérieures présentent un assez grand polymorphisme sur une même plante; elles sont palmatilobées et apparaissent sur la tige principale selon une spirale régulière.

A l'aisselle de la feuille, il existe deux bourgeons axillaires dont un se développe en donnant naissance à une branche, l'autre restant en réserve au cas où le premier avorterait.

### \* Fleurs

Le bouton floral (figure 2) apparaît sur les ramifications sympodiales sous forme de petites structures vertes pyramidales appelées "square". A son épanouissement, la fleur se compose :

- d'un pédoncule, plus ou moins long, inséré sur une branche fructifère (branche fertile) ;
- de trois bractées dentées ;
- d'un calice gamosépale formé de cinq sépales soudés ;
- d'une corolle dialypétale composée de cinq pétales de coloration blanc crème ;
- d'un androcée, monadelphé, est composé d'au-moins dix d'étamines à anthère uniloculaire avec du pollen jaune, sphérique et échinulé ;
- d'un gynécée qui comprend un ovaire supère constitué de 3 à 5 carpelles comprenant chacun 6 à 12 ovules.

### \* Fruits

Ce sont des capsules (figure 2). La forme et la grosseur de ces capsules sont caractéristiques de chaque variété. A l'intérieur, se développent les graines, au nombre de 6 à 12 par loge, sur lesquelles croissent les fibres. Elles sont de forme ovoïde ou piriforme et recouvertes de longs poils appelés soies ou lint. Elles portent 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 Parry (1982), la graine contient, à l'ouverture de la capsule, des substances de réserves, dont la composition, en matière sèche, est : protéines (13, 9 %), lipides (12, 6 %), oligo-saccharides (2,7 %), sucres réducteurs (0,66 %), matière sèche restante (70 %).

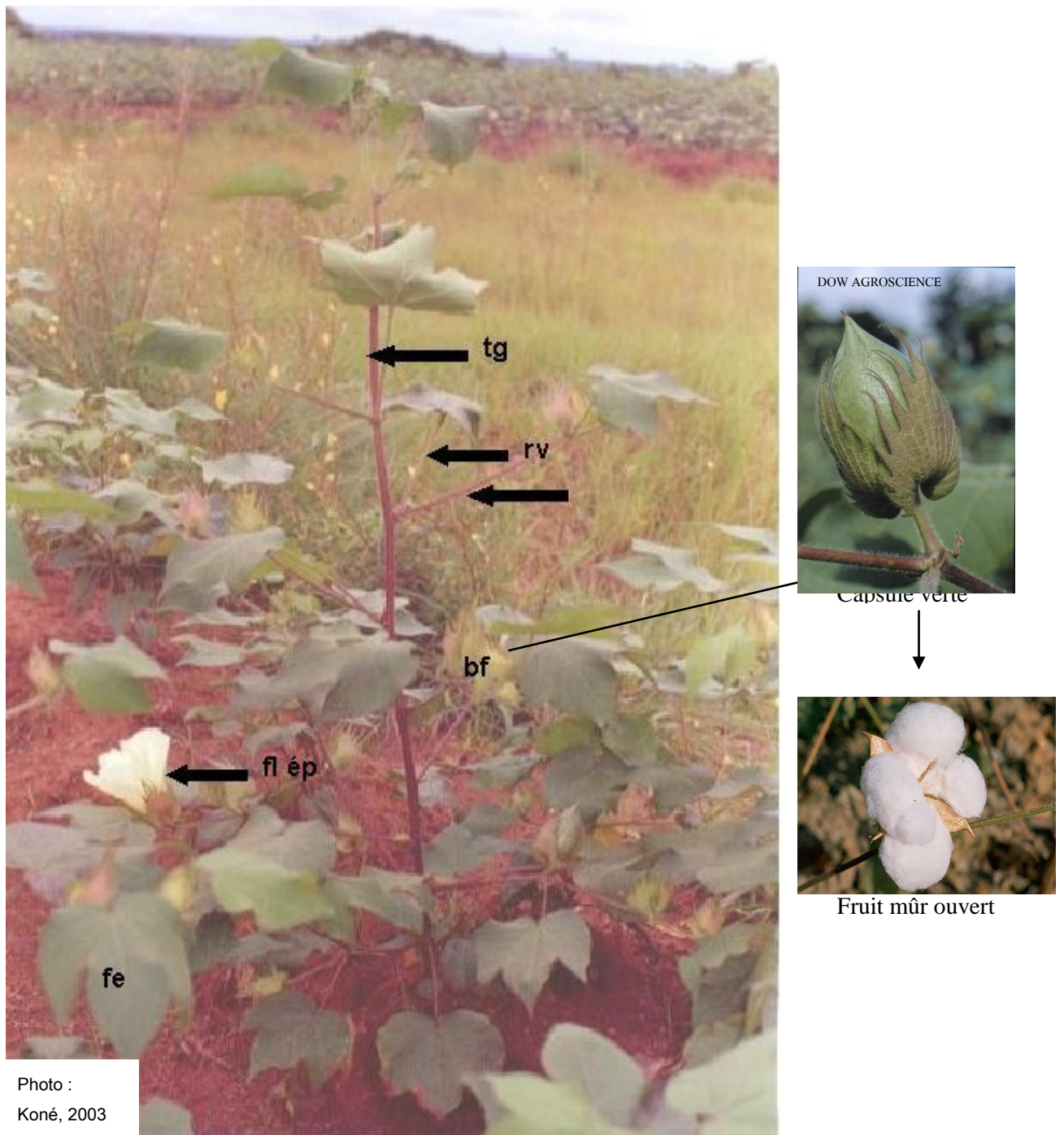


Figure 2 : Plant de cotonnier (*Gossypium hirsutum*) et ses organes dans un champ à Korhogo (Koné, 2003 modifiée)

Organes observables sur la plante : feuille trilobée (**fe**), fleur épanouie (**fl ép**), bouton floral (**bf**), rameau fructifère (**rf**), rameau végétatif (**rv**), tige (**tg**).

## \* Glandes

Le cotonnier renferme deux sortes de glandes : les glandes internes et les glandes externes.

Les glandes internes sont réparties dans tout le plant. Elles sont situées à plus ou moins grande profondeur dans les tissus, en dehors du bois. On les trouve également dans la graine. Ce sont des glandes ovoïdes bordées de cellules qui libèrent des composés rougeâtres ou jaunâtres. Le gossypol et des composés chimiques voisins proviennent de ces glandes. Le gossypol un pigment toxique qui pose des problèmes particuliers lorsque le rôle alimentaire de la plante est à considérer.

Les glandes externes ou nectaires, qui sont en rapport avec la fleur, sécrètent un suc qui attire certains insectes.

## 2-2 Biologie et physiologie

Le cotonnier est une plante pluriannuelle, mais qui doit être adaptée aux conditions d'une culture annuelle. Ce mode de culture est adapté pour répondre à de nombreuses contraintes qui sont liées à la nécessité de rompre les cycles du parasitisme, d'introduire la culture dans une rotation et de permettre son extension dans des régions où le cotonnier ne supporterait pas les rigueurs de l'hiver ou de la saison sèche en zone tropicale (Parry, 1982 ; Demol, 1992).

### 2-2-1 Cycle du cotonnier

On peut décomposer le cycle du cotonnier en cinq phases bien distinctes (Ministère de la Coopération et du Développement, 1991) :

- phase de la levée (6 - 10 jours) : de la germination à l'étalement des cotylédons ;
- phase plantule (20 - 25 jours) : de l'étalement des cotylédons au stade 3 - 4 feuilles ;
- phase de préfloraison (30 - 35 jours) : du stade 3 - 4 feuilles au début de la floraison ;
- phase de floraison (50 - 70 jours) ;
- phase de maturation des capsules (50 - 80 jours).

Au total, la durée du cycle est de 166 jours dans les conditions les plus favorables et de 205 jours dans un milieu moins propice. La durée du cycle varie également en fonction des variétés.



## 2-2-2 Nutrition du cotonnier

La nutrition du cotonnier est assurée par une alimentation en carbone, en éléments minéraux et en eau (Demol, 1992).

L'alimentation carbonée provient de la photosynthèse. L'alimentation minérale est assurée par l'apport de très nombreux éléments minéraux. Six éléments (N, P, K, S, Ca et Mg) ainsi que quelques oligo-éléments (Bo, Cl, Zn, Fe, Mn, Mo, et Cu) retiennent l'attention de l'agronome ; chacun d'eux ayant un rôle bien spécifique dans la physiologie de la plante.

Les besoins en eau varient en fonction du stade de développement de la plante et des conditions climatiques, essentiellement de l'intensité lumineuse et du taux d'humidité de l'air, qui règnent à chaque étape de son cycle. En théorie, 400 à 500 mm d'eau devraient être suffisants pour permettre au cotonnier de réaliser son cycle ; mais en pratique, à cause des diverses pertes, on compte environ 700 mm

## III- CULTURE DU COTONNIER ET PRODUCTION DU COTON - GRAINE

### 3-1 Exigences écologiques de la culture

La température minimale à laquelle débute la germination des graines est 12 à 13 °C pour *Gossypium barbadense* et 14 à 15 °C pour *G. hirsutum*. En dessous de ces températures, toute végétation s'arrête jusqu'à 4 °C. Si l'on dépasse ce seuil, il y a d'abord destruction des feuilles puis celle de la plante elle-même (Ministère de la Coopération et du Développement, 1991).

Les besoins en eau du cotonnier ont déjà été mentionnés. Concernant la lumière, le cotonnier exige des régions ensoleillées, surtout pour les phases de fructification et de maturation.

Le cotonnier a besoin de sols homogènes, profonds, perméables, frais dans leur sous-sol et riches en matières nutritives. Il préfère des sols limoneux, argilo-sableux ou sablo-argileux. Les terres extrêmement humides ne conviennent pas à sa culture. Le pH optimum se situe entre 6 et 7 (Ministère de la Coopération et du Développement, 1991).

### 3-2 Divisions phytogéographiques de Côte-d'Ivoire et sols de culture du cotonnier

Le territoire ivoirien comprend des zones agro - écologiques reflétant une certaine concordance entre la zonalité climatique, pédologique et floristique (Ndabalishye, 1995).

En effet, selon Guillaumet et Adjanohoun (1971) et Monnier (1983), la Côte d'Ivoire a été subdivisée en domaines et secteurs basés non seulement sur les formations qui prédominent dans le paysage, mais aussi sur leur dynamisme actuel, ce qui amène à distinguer le domaine guinéen au Sud et le domaine soudanais au Centre et au Nord.

Les types de végétations rencontrés sont illustrés par la figure 3. Le domaine soudanais, qui se superpose, plus ou moins, à la zone d'exploitation économique du cotonnier, se subdivise en secteurs sub-soudanais et soudanais. Le premier, le plus important, s'étend de la limite Nord de la zone guinéenne aux frontières du Mali et du Burkina Faso. Le secteur présumé soudanais n'entame que très peu cette zone subsoudanaise à l'extrême Nord du pays, suivant une ligne Férédougou (au Nord d'Odienné), Ferkessédougou, Nassian (au Sud de la réserve de Bouna), Farako. Le secteur subsoudanais est soumis au climat tropical subhumide (subsoudanais de transition) et caractérisé par une pluviométrie qui oscille entre 1.100 mm et 1.600 mm et une végétation de savane, forêt claire, îlots de forêt dense sèche (secteur sub-soudanais), de savane et forêt claire (secteur soudanais).

Les sols de la Côte d'Ivoire, très influencés par le climat, se situent dans l'ordre des sols évolués sur place et se répartissent, globalement, entre le sous-ordre ferrugineux tropical, caractérisé par la libération du fer, et le sous-ordre ferrallitique caractérisé par la double libération du fer et de l'alumine (Déclert, 1990).

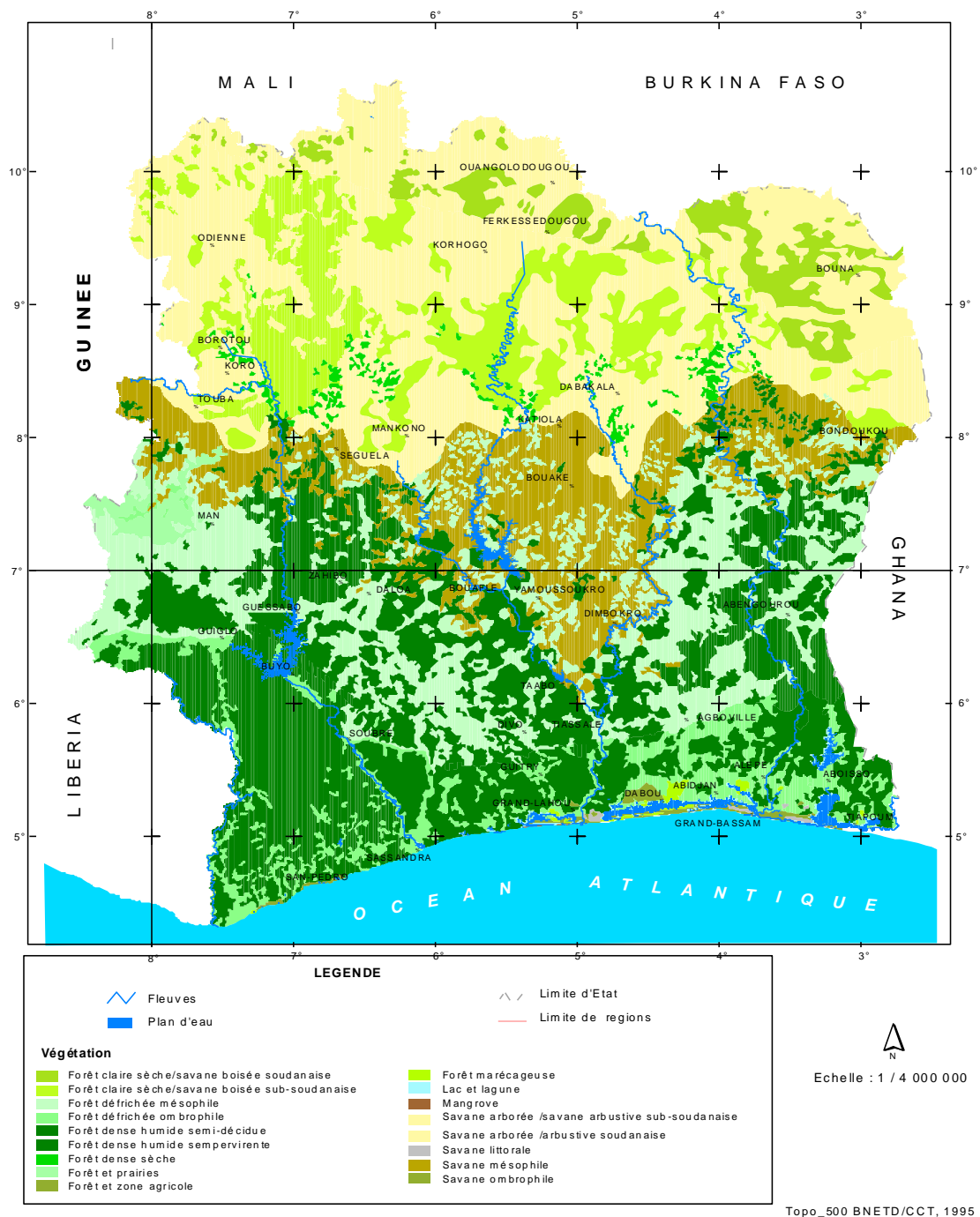


Figure 3 : Formations végétales de Côte d'Ivoire

D'après la classification française réaménagée (Monnier, 1978 ; Perraud, 1971), les sols de la Côte d'Ivoire comprennent (figure 4) :

- les sols hydromorphes,
- les sols sur roches basiques,
- les sols ferrugineux tropicaux,
- les sols ferrallitiques.

Au nord, ils ont vocation pour toutes les cultures annuelles irrigables, avec des bas-fonds encore plus larges et tout aussi mécanisables.

Dans les sols sur roches basiques, les éléments grossiers sont constitués de fragments de roches plus ou moins altérés et ferruginisés et de petites concrétions noires de type "plomb de chasse". Leur fertilité dépend surtout de la densité des éléments grossiers et du degré d'induration. Ils occupent principalement les chaînes de collines du complexe volcano - sédimentaire, et ils sont fréquemment juxtaposés avec des cuirasses.

Les sols ferrugineux tropicaux sont caractérisés par un horizon humifère sableux, épais et gris, un horizon beige clair friable et un horizon d'accumulation riche en argile et fortement concrétionné. Ces sols, très médiocrement fertiles, dominent la Région de Bouna et le couloir du N'Zi.

Les sols ferrallitiques couvrent la majeure partie de la Côte d'Ivoire. Ils se subdivisent en trois sous-classes selon le niveau de désaturation du complexe absorbant de l'horizon B :

- les sols moyennement et faiblement désaturés avec : bases échangeables de 1 à 8 méq par 100 g de sol, taux de saturation de 20 à 80 %, pH de 4,5 à 6,5. Cette classe, localisée essentiellement dans le Centre, le Nord et le Nord-Est et en haute zone guinéenne, présente un horizon gravillonnaire important et une grande fréquence de concrétionnements avec également de nombreuses zones à cuirasses.
- Les sols fortement désaturés : avec bases échangeables inférieures à 1 méq/ 100 g de sol, taux de saturation inférieur à 20 % et pH inférieur à 5,5 (D.C.G.TX., 1967). Cette sous-classe couvre la basse zone guinéenne et remonte à l'Ouest entre le fleuve Sassandra et la frontière avec la Guinée. L'horizon humifère est peu épais et l'horizon gravillonnaire peu développé. La profondeur de ces sols peut atteindre plusieurs mètres.

La région productrice du coton, principalement la zone Nord et Centre du pays, est caractérisée par une dominance des sols ferrallitiques avec, à quelques endroits, des enclaves de sols sur roches basiques et des sols ferrugineux (Ndabalishye, 1995). D'après Echiman *et al.* (1992), ces sols sont de fertilité moyenne, de perméabilité et de drainage satisfaisants.

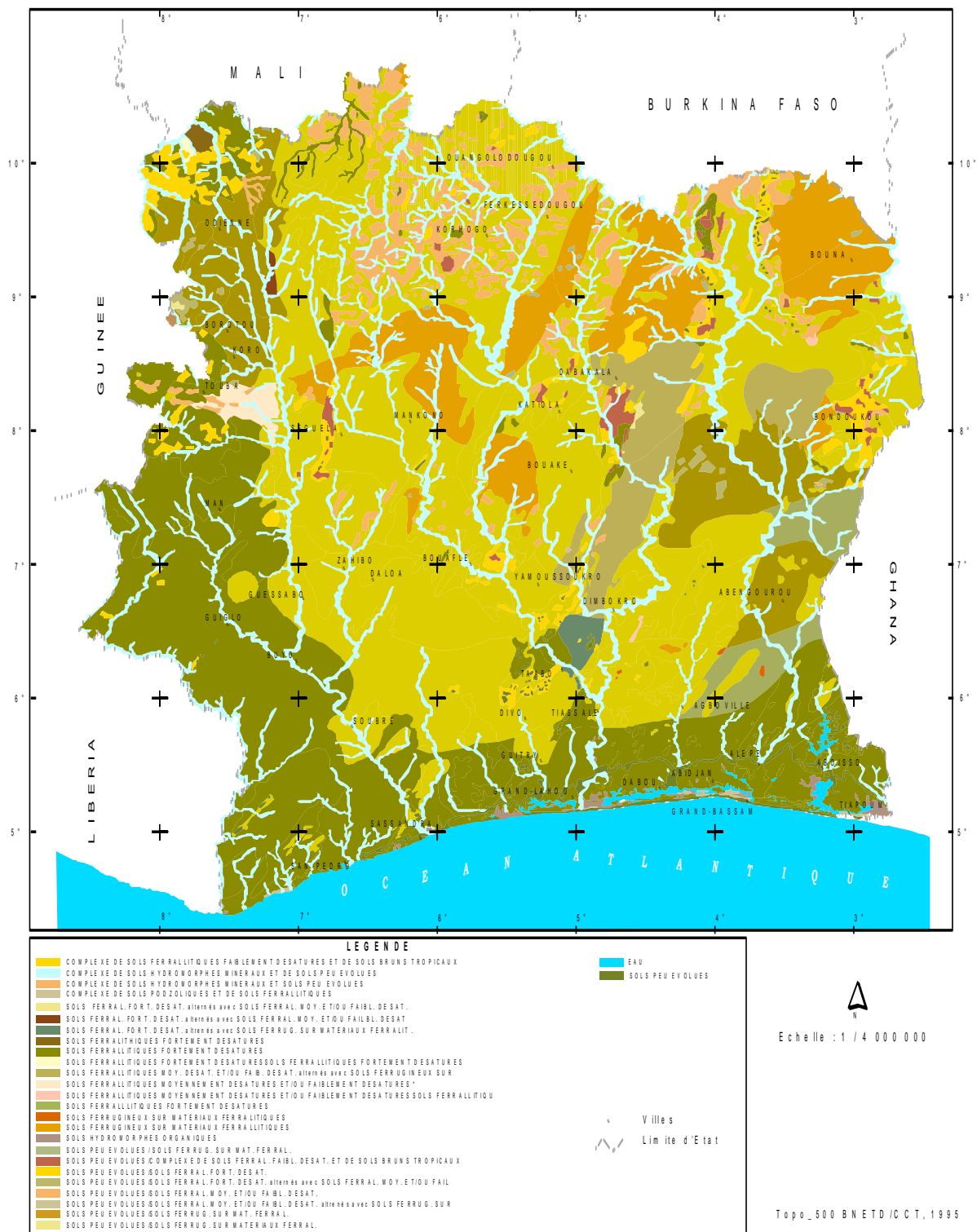


Figure 4 : Types de sols de Côte d'Ivoire

### 3-3 Itinéraire technique du cotonnier

#### 3-3-1 Dispositif de plantation et semis

Le dispositif de plantation adopté, presque partout, est l'espacement de 80 cm à 1 m entre lignes, en faisant varier l'espacement entre les plants. Ce dernier ne doit pas être inférieur à 20 cm car compliquerait les travaux de désherbage (Ministère de la Coopération et du Développement, 1991).

Le semis doit être fait à une période telle que la récolte coïncide avec la saison sèche. La période des semis est ainsi liée au régime des pluies et aux conditions parasitaires. Le semis se fait soit à la main, soit mécaniquement, en poquet ou en ligne (sillon), à plat ou sur billons. La densité de semis peut varier considérablement suivant la variété, l'espèce, la richesse du sol, l'emploi ou non de moyens mécaniques. Elle se situe, en culture pure, entre les limites extrêmes de 25 000 à 100 000 plants à l'hectare. En Côte d'Ivoire, la densité adoptée est 70 000 pieds à l'hectare (C.I.D.T., 1997).

#### 3-3-2 Entretien et fumure

Le premier sarclage a lieu au moment du démariage, c'est-à-dire entre 15 à 30 jours après le semis. Le démariage se fait à 1 ou 2 plants selon la densité choisie. Le second sarclage se fait en début de floraison. L'utilisation de désherbants sélectifs se généralise en culture mécanique et est, de plus en plus, courant en culture manuelle.

La fumure a pour rôle de corriger les carences ou les déficiences naturelles des sols ou celles qui peuvent apparaître par une culture intensive. Les engrais vulgarisés, en Côte d'Ivoire, sont de deux types (C.I.D.T., 1997) :

- engrais ternaires N.P.K. titrant :

- 10 % d'azote, 18 % d'acide phosphorique, 18 % de potasse, 6 % de soufre et 1 % de boracine ;
- 15 % d'azote, 15 % d'acide phosphorique, 15 % de potasse, 6 % de soufre et 1 % de boracine ;

- engrais azoté titrant 46 % d'azote (Urée).

Les doses conseillées, quel que soit le type de culture, sont les suivantes :

- N.P.K. (engrais de fond) :

- dose normale : 200 kg/ha,
- complément : 100 kg/ha (facultatif).

- Urée (engrais complémentaire) :

- dose normale : 50 kg/ha,
- complément : 50 kg/ha (facultatif).

### 3-4 Production de coton en Côte d'Ivoire

#### 3-4-1 Production et système d'encadrement

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. Le coton est à la base des systèmes de culture pratiqués. Il représente 40 %, en moyenne, dans les assolements, pour 60 % de cultures vivrières. La production de coton-graine a connu une évolution remarquable. Elle est passée de 30. 000 tonnes, en 1970/1971 à 261. 000 tonnes à la campagne 1990/1991, avant d'atteindre des niveaux record, en 1999/2000 et 2002/2003 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. Le chiffre d'affaires global, généré par la filière, pour la campagne 2004/2005, est de l'ordre de 100 milliards de F. C.F.A. (Amani, 2002 ; A.PRO.COT.-C.I., 2005).

L'encadrement de la production cotonnière en Côte d'Ivoire était assuré par la Compagnie Ivoirienne pour le Développement des Textiles (C.I.D.T.), depuis sa création, en 1974 jusqu'à 1998, année de sa privatisation. L'encadrement de la production de coton-graine et sa commercialisation sont, depuis lors, assurés par trois sociétés : la C.I.D.T. résiduelle, Ivoire Coton (I.C.) et La société de Coton de Côte d'Ivoire (L.C.C.I.) dont les champs d'action s'étendent dans l'ensemble, sur environ 188 000 km<sup>2</sup> (C.I.D.T., 1997 ; Ministère de l'Agriculture et des Ressources Animales, 1999). La répartition des zones de culture, par société cotonnière, est illustrée par la figure 5.

La zone de culture du cotonnier couvre environ 25 Départements du Centre et du Nord de la Côte d'Ivoire, caractérisés par une végétation de savane, en général, et un système de culture de type traditionnel, amélioré, dans certains cas, par l'utilisation de matériel plus ou moins moderne (traction animale, matériel motorisé).

L'encadrement des paysans producteurs de coton est fonction des thèmes techniques conçus et développés par la C.I.D.T. en collaboration avec l'ex I.DES SA. devenu C.N.R.A.

De nombreuses variétés de cotonnier mises au point par l'I.DES SA. sont vulgarisées par les sociétés cotonnières. Les semences sont offertes aux producteurs par ces dernières qui les produisent sur leurs propres fermes semencières.

La recherche-développement en Agronomie et en Protection Phytosanitaire s'exprime à travers des expérimentations multilocales sur postes d'observation (P.O.) et en milieu réel. Cette activité est réalisée par le service Recherche-Développement des sociétés cotonnières et le C.N.R.A. Elle a pour cadre des postes d'observation et des localités de tests en milieu paysan (M.P.). Les expérimentations en Défense des Cultures ont porté, jusque là, essentiellement, sur les insectes ravageurs du cotonnier. Des observations sur la fusariose vasculaire du cotonnier sont réalisées, depuis plusieurs campagnes, mais n'ont pas encore été traduites en programme ou actions de recherche.

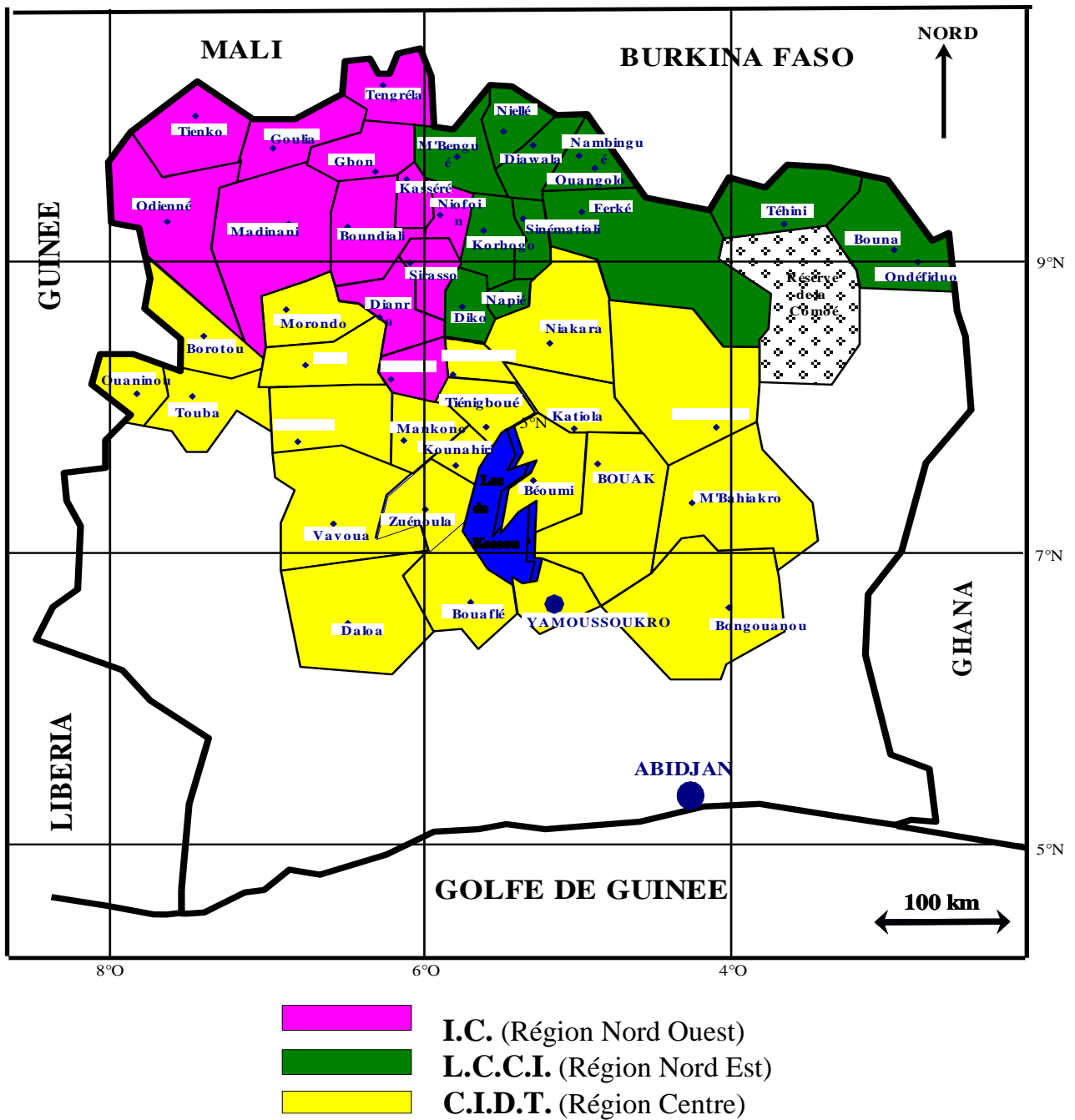


Figure 5 : Domaines d'intervention des sociétés de développement du coton en zone cotonnière de Côte d'Ivoire

Source : Amani (2002)



### 3-4-2 Variétés de cotonniers cultivées

Jusqu'en 1962, les cotonniers cultivés en Côte d'Ivoire étaient des variétés locales ou améliorées de *Gossypium barbadense*. Depuis 1962, la variété Allen de *G. hirsutum* a été introduite dans la culture cotonnière. Elle a donné, par croisement ou hybridation, des variétés améliorées et plus adaptées aux conditions pédoclimatiques de la Côte d'Ivoire. Parmi ces variétés mises au point, on notera l'existence d'une variété sans gossypol, la variété Glandless (Echiman *et al.*, 1992).

Les variétés vulgarisées sont souvent caractérisées à partir d'objectifs technologiques dont la qualité de la fibre. Ainsi par exemple, on a défini des groupes de variétés en fonction de la longueur de la fibre :

- variétés à fibres moyennes (ISA 205 K, ISA 268 A, N'TA 88-6) ;
- variétés dites à moyennes soies longues (ISA 319 A, ISA 319 C).

Le type couramment utilisé est la variété ISA 205 mise au point par l'ex Institut Des Savanes (I.DES.SA.) selon Echiman *et al.* (1992).

## IV- RAVAGEURS ANIMAUX ET MALADIES DU COTONNIER

### 4-1 Ravageurs animaux

Ils sont constitués essentiellement par des arthropodes (insectes, acariens, myriapodes) qui menacent constamment les cultures. Un inventaire mondial énumère 1326 espèces d'insectes vivant aux dépens du cotonnier, dont 480 pour l'Afrique tropicale, parmi lesquelles 150 sont nuisibles pour la culture du cotonnier (Delhove *et al.*, 1992).

On citera, entre autres ravageurs, des Acariens (*Polyphagotarsonemus latus* Banks, *Tetranychus cinnabarinus* Boisd.), des Myriapodes (*Peridontopyge spinosissima* Silv.), des Insectes répartis dans divers ordres tels que : Isoptères, Orthoptères, Thysanoptères, Hemiptères, Lépidoptères, Coléoptères. On note aussi la présence de nématodes qui pourraient jouer un rôle important dans l'ouverture des voies de pénétration de l'agent du wilt du cotonnier (Delhove *et al.*, 1992). Les Achatines (*Collistopela pellucida* Putzeys et *Achatina weynsi* Dautz.) sont aussi citées comme animaux nuisibles sur cotonnier.

### 4-2 Maladies

Les agents pathogènes responsables des maladies du cotonnier sont aussi bien des champignons, des bactéries, des virus ou des mycoplasmes (Delhove *et al.*, 1992). On remarque toutefois que les problèmes engendrés sont moins d'acuité que ceux connus avec les insectes. Nous signalons, ci-après, quelques affections dues à des champignons phytopathogènes.

- La fonte de semis due à *Rhizoctonia solani* Kuehn.

Cette maladie se manifeste généralement peu de temps après la levée. Les jeunes plants atteints se flétrissent et présentent, au niveau du collet, une zone nécrotique brunâtre qui tend à anneler la tige. Les fontes de semis et autres maladies des racines et du collet sont courantes chez le cotonnier et sont attribuées à divers champignons du genre : *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Colletotrichum*, *Armillaria*.

- La nécrose de la tige causée par *Sclerotium rolfsii* Sac.

Les cotonniers atteints dépérissent. La partie inférieure de la tige, souvent enterrée par le buttage, est nécrosée sur tout le pourtour. En surface des tissus malades, on trouve un feutrage blanchâtre qui porte des sclérotés du champignon parasite.

- Les macules foliaires causées par *Alternaria* sp.

Elles sont souvent petites, grisâtres et entourées d'une auréole violacée. Les dégâts sont très faibles et ne justifient aucune intervention spéciale.

- La stigmatomycose ou pourriture des capsules due aux *Nematospora* sp.

Cette maladie est causée par des champignons du type levuriforme *Nematospora gossypii* Ash. & Now et *Nematospora coryli* Peg. Ces organismes ne sont pas capables de pénétrer eux-mêmes dans les fruits du cotonnier ; ils sont introduits par des piqûres de certains insectes tels que *Dysdercus* spp.

- La pourriture des capsules due à *Diplodia gossypina* Cke

Les capsules atteintes, par ce champignon, prennent une coloration brun-noir. Les capsules s'ouvrent prématurément ; les fibres qu'elles contiennent sont altérées et grisâtres.

- Les lésions d'anthracnose sur les capsules dues à *Colletotrichum* spp.

Les attaques de ce champignon se caractérisent par la présence de lésions chancreuses, brun noirâtre, en dépression. 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 du cotonnier causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. & H.

Les dommages causés par la fusariose vasculaire peuvent être très importants, surtout lorsque les conditions pédoclimatiques sont favorables. Des observations faites par l'ex I.DES.SA. et par le service Recherche-Développement de la C.I.D.T. indiquent que la maladie est apparue la première fois en milieu paysan, à Daoukro, pendant la campagne 1983/1984 ; mais les campagnes suivantes, elle n'y a plus fait son apparition. Notons que ces phénomènes de disparition de la fusariose vasculaire, après une première apparition, ont été souvent signalés. La maladie a été, au moins une fois, signalée dans les localités suivantes :

- Daoukro (milieu paysan) ;
- Bouaké (Station C.N.R.A.) ;
- Béoumi (milieux paysans) ;
- Brobo (Stations Rhône Poulenc et SO.FA.CO.) ;
- Foro-Foro (Station C.N.R.A.) ;
- Kounahiri (milieux paysans) ;

- Tiéningboué (P.O. et milieux paysans) ;
- Mankono (milieux paysans) ;
- M'Bengué (P.O.) ;
- Napié (P.O.).

Aujourd'hui, les localités où l'on peut rencontrer la fusariose vasculaire, en permanence (figure 6), sont Bouaké (Station du C.N.R.A.), Brobo (Stations Rhône Poulenc et SO.FA.CO.), Foro-Foro (Station C.N.R.A.), Tiéningboué (P.O. et milieux paysans), Béoumi (en milieux paysans), Kounahiri (en milieux paysans). Il est remarqué que la persistance de la maladie est souvent liée à la culture continue du cotonnier. La maladie est devenue, ainsi, préoccupante, ces dernières années, en Côte d'Ivoire, par son explosion et son extension en milieux paysans. Les figures 7 et 8 illustrent, respectivement, un champ de cotonnier sain à Kounahiri et un autre, à Béoumi, présentant des foyers de fusariose, tous deux mis en place dans la même période.

Cette maladie, objet de notre étude, sera traitée davantage dans le chapitre II

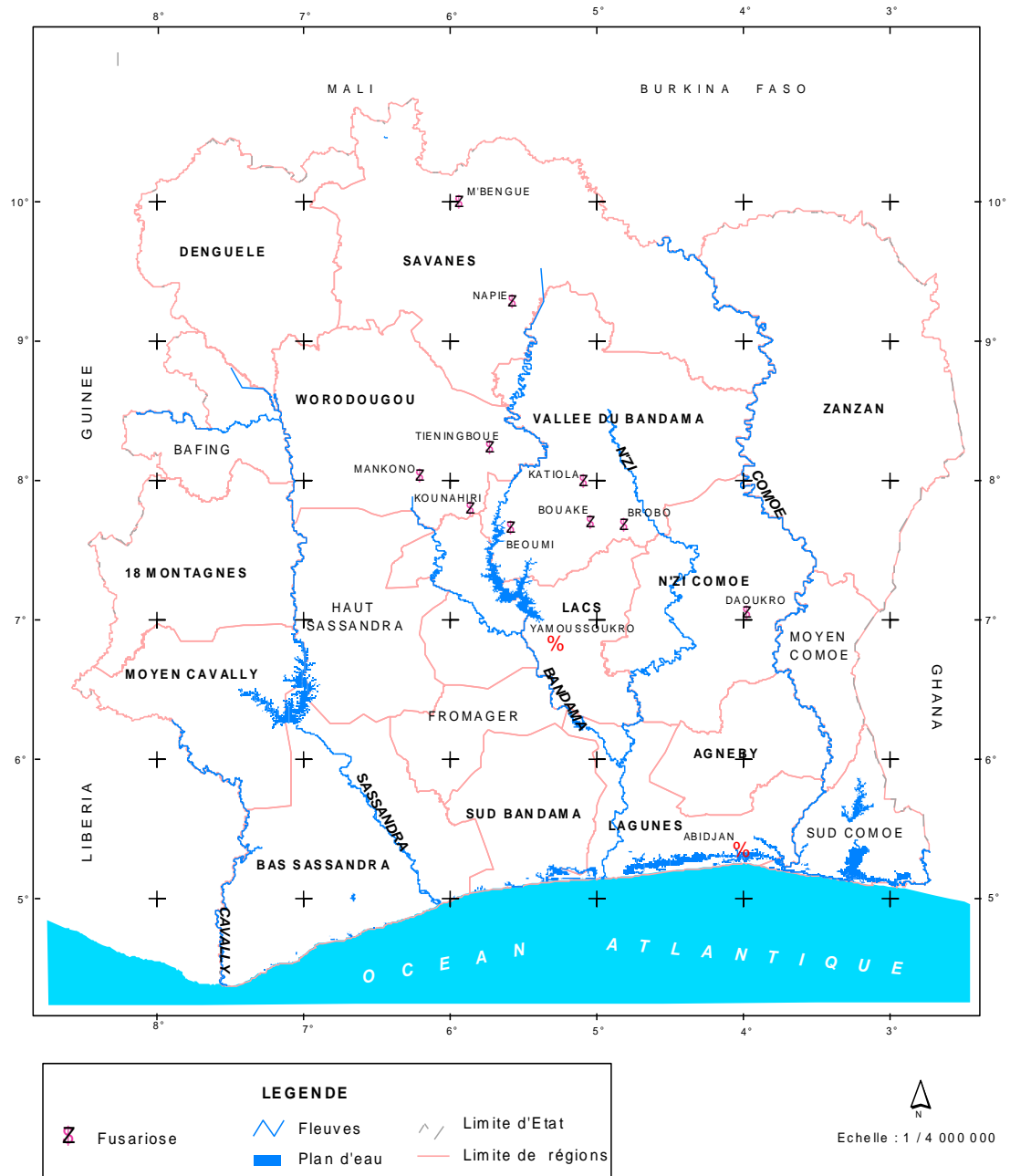


Figure 6 : Zones d'apparition de la fusariose vasculaire du cotonnier en Côte d'Ivoire



Figure 7 : Champ de cotonnier sain, en milieu paysan, à Kounahiri



Figure 8 : Champ de cotonnier gravement atteint de fusariose, en milieu paysan, à Béoumi

## CHAPITRE II : GENERALITES SUR LES FUSARIOSES VASCULAIRES DUES A *FUSARIUM OXYSPORUM* (SCHLECHT.) SN. & H.

### I- PRESENTATION DE *FUSARIUM OXYSPORUM*

#### 1-1 Evolution du concept taxonomique

La classification des espèces du genre *Fusarium* a connu de nombreux bouleversements (Messiaen et Cassini, 1968). Nous rapportons, dans les lignes qui suivent, les différents systèmes de classifications qui se sont succédés dans l'histoire.

##### ➤ Systématique de Wollenweber

De 1910 à 1935, après une période de confusion sur de nombreuses espèces, les conceptions, régnant dans le monde sur la systématique des *Fusarium*, ont été données par les travaux de Wollenweber Reinking. Dans sa systématique publiée en 1935, le genre était divisé en 16 sections et 65 espèces (tableau I). L'utilisateur de cet outil se trouve d'abord placé devant une clé des sections (analogues à des sous genres). Cette clé est basée sur des caractères culturaux (présence ou absence de sporodochia, pionnotes, sclérotés) et sur des mensurations de conidies, classées suivant leur nombre de cloisons.

Cette clé a été taxée de présenter quelques points d'illogisme (caractères culturaux variables, mensurations fastidieuses de conidies etc.).

##### ➤ Systématique proposée par Snyder et Hansen

Dès 1935, la systématique de Wollenweber a été remise en question en ce qui concerne les distinctions spécifiques, mais en reconnaissant la valeur des sections (Messiaen et Cassini, 1968).

Snyder et Hansen (1940), cités par Messiaen et Cassini (1968), formulent des objections et prennent comme premier sujet d'études la section *Elegans*, démontrant que les distinctions spécifiques de Wollenweber, à l'intérieur de celle-ci, étaient sans valeur ; une souche déterminée comme appartenant à une espèce pouvant facilement, par mutation, prendre les caractères d'une autre. Cette variabilité, mise en évidence par de très nombreux ensemencements monospores successifs, restait cependant dans le cadre de la section.

Snyder et Hansen proposèrent alors de considérer l'ensemble des formes appartenant à la section *Elegans* comme une seule espèce, *Fusarium oxysporum*, à la place de 10 espèces dont les plus marquants étaient *F. orthoceras*, *F. conglutinans*, *F. bulbigenum* et *F. oxysporum*. Les mêmes auteurs regroupèrent en une seule espèce toutes les formes appartenant à la section *Martiella* (*F. solani*). En 1954, un travail analogue aboutissait à refondre la systématique des sections restantes (Messiaen et Cassini, 1968).

Tableau I : Synthèse de l'évolution du concept taxonomique chez *Fusarium*

Sections de Wollenweber et de Reinking (1935)	Espèces de Snyder et Hansen (1940)	Système de Nelson <i>et al.</i> (1983)		Nouvelles espèces décrites depuis 1983 ou modification <sup>b</sup> du système de Nelson <i>et al.</i>	Formes sexuées connues <sup>j</sup>
		Sections	Espèces		
<i>Submicrocera</i>					<i>Nectria</i> spp.
<i>Pseudomicrocera</i>					
<i>Macroconia</i>	<i>F. episphaeria</i>				<i>Nectria episphaeria</i>
<i>Eupionnotes</i>		<i>Eupionnotes</i>	<i>F. aquaeductum</i> <i>F. merismoides</i> <i>F. dimerum</i>		aucune
<i>Spicarioides</i>	<i>F. rigidiuscula</i>	<i>Spicarioides</i>	<i>F. decemcellulare</i>		<i>Nectria rigidiuscula</i>
<i>Arachnites</i>	<i>F. nivale</i>	<i>Arachnites</i>	<i>F. nivale</i>	<i>Microdochium nivale</i> <sup>b</sup>	<i>Monographella nivalis</i>
<i>Sporotrichiella</i>	<i>F. tricinctum</i>	<i>Sporotrichiella</i>	<i>F. tricinctum</i> <i>F. poae</i> <i>F. sporotrichioides</i> <i>F. chlamydosporum</i>		<i>Gibberella tricincta</i> aucune
<i>Roseum</i>	<i>F. roseum</i>	<i>Roseum</i>	<i>F. avenaceum</i> (don't <i>F. arthrosporioides</i> ) <i>F. graminum</i>		<i>Gibberella avenacea</i> aucune
<i>Arthrosporiella</i>		<i>Arthrosporiella</i>	<i>F. semitectum</i> <i>F. camptoceras</i>	<i>F. polyphialidicum</i> <sup>c</sup>	
<i>Gibbosum</i>		<i>Gibbosum</i>	<i>F. equiseti</i> <i>F. acuminatum</i> <i>F. scirpi</i> <i>F. longipes</i>		<i>Gibberella intricans</i> <i>Gibberella acuminata</i> aucune
<i>Discolor</i>		<i>Discolor</i>	<i>F. heterosporum</i> <i>F. reticulatum</i> <i>F. sambucinum</i> <i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i>		<i>Gibberella gordonii</i> <i>Gibberella cyanea</i> <i>Gibberella pulicaris</i> <i>Gibberella zeae</i> aucune
<i>Lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>	<i>Lateritium</i>	<i>F. lateritium</i> <i>F. udum</i> <sup>a</sup>		<i>Gibberella baccata</i> <i>Gibberella indica</i>
<i>Liseola</i>	<i>F. moniliforme</i>	<i>Liseola</i>	<i>F. moniliforme</i> <i>F. proliferatum</i> <i>F. subglutinans</i> (dont <i>F. sacchari</i> )  <i>F. anthophilum</i>	<i>F. globosum</i> <sup>d</sup>	<i>Gibberella fujikuroi</i>  aucune
<i>Elegans</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>Elegans</i>	<i>F. oxysporum</i> (dont <i>F. redolens</i> )		aucune
<i>Martiella</i>	<i>F. solani</i>	<i>Martiella</i> –	<i>F. solani</i>		<i>Nectria haematococca</i>
<i>Ventricosum</i>		<i>Ventricosum</i>		<i>F. nygamae</i> <sup>e</sup> <i>F. dlamini</i> <sup>f</sup> <i>F. beomiforme</i> <sup>g</sup> <i>F. napiforme</i> <sup>h</sup> <i>F. babinda</i> <sup>i</sup>	<i>Gibberella fujikuroi</i> aucune

(<sup>a</sup>) *F. udum* est considérée comme une espèce incertaine placée dans la section *Lateritium* ou *Elegans*.

(<sup>b</sup>) *F. nivale* a été exclue du genre *Fusarium* et redéfinie en *Microdochium nivale*.

(<sup>c, d, e, f, g, h, i, j</sup>) Synthèse de Edel (1999), d'après les travaux de Marasas *et al.* (1986), de Rheeder *et al.* (1996), de Burgess et Trimboli (1986), de Marasas *et al.* (1985), de Nelson *et al.* (1987), de Marasas *et al.* (1987), de Summerel *et al.* (1995), de Nelson *et al.* (1983), de Gams et de Nirenberg (1989) et de Leslie (1995).



Le genre *Fusarium* se trouve ainsi réduit à 10 espèces (ou plutôt 9, car après avoir admis en 1945 *F. ciliatum* comme "espèce douteuse", Snyder n'y fait plus allusion dans ses publications ultérieures).

A l'intérieur de chacune de ces espèces, les variations morphologiques souvent importantes n'ont aucune valeur taxonomique, puisque par mutation ou recombinaison sexuelle les diverses formes peuvent expérimentalement dériver les unes des autres.

Par contre, expérimentalement, pour *F. oxysporum* et *F. solani* des formes spécialisées présentant une virulence particulière pour telle ou telle plante peuvent être distinguées, comme *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* race I qui n'attaque pas les variétés de tomate pourvues du gène 1, alors que la race II peut les envahir.

Ces formes spécialisées ou races ne sont aucunement reconnaissables par l'observation morphologique, seul l'inoculation et le comportement à l'égard de l'hôte peuvent déterminer leur identité.

La classification de Snyder et Hansen a reçu l'agrément de la plupart des spécialistes pour *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*. Le regroupement en une seule espèce de *F. roseum* des quatre sections *Roseum*, *Arthrosporiella*, *Gibbosum* et *Discolor*, a, par contre, soulevé des critiques. Gordon (1952) adopte un système mixte, suivant Snyder et Hansen pour *F. oxysporum*, maintenant *F. coeruleum* à côté de *F. solani* dans la section *Martiella* et conservant à la place de *F. roseum* les quatre sections de Wollenweber subdivisées en une quinzaine d'espèces et formes. Le tableau I résume l'évolution de la classification de *Fusarium*.

➤ Recherche d'une attitude pratique face à ces contradictions

Un chercheur qui étudie les *Fusarium* peut hésiter entre les deux systèmes. Il apparaît que celui qui s'occupe des *Fusarium* de façon occasionnelle ou d'un point de vue plus phytopathologique que systématique n'hésite pas : c'est le système de Snyder et Hansen qu'il choisit (Messiaen et Cassini, 1968).

En s'appuyant sur cette logique, nous retenons l'agent de la fusariose vasculaire du cotonnier, appartient à la classe des Adelomycètes, à l'ordre des Hyphales ou Moniliales, à la famille des Tuberculariaceae, au genre *Fusarium* et à l'espèce *Fusarium oxysporum*.

## 1-2 Description

### 1-2-1 Genre *Fusarium* Link

Selon Roger (1953), les *Fusarium* possèdent un appareil végétatif incolore ou faiblement teinté, mais apparaissant souvent coloré lorsque le mycélium ou les organes fructifères sont examinés en masse. Ils donnent des fructifications à la fois variées et très

polymorphes. Les conidies hyalines naissent sur des conidiophores cloisonnés, incolores, irrégulièrement rameux, souvent verticillés ou dendroïdes, et agrégés en massifs compacts ; elles peuvent être, suivant leur taille, de deux sortes : les microconidies et les macroconidies. Les premières sont petites, ovoïdes uni ou bicellulaires, se formant quelquefois en chaînes ; les secondes, plus caractéristiques du genre, comprennent un nombre très variable de cellules ; elles sont fusoïdes, droites ou beaucoup plus souvent arquées en faux, aiguës à l'extrémité libre et pourvues d'un onglet plus ou moins différencié à leur point d'insertion à la base. Les conidies s'attachent souvent aux conidiophores par groupes en tête des conidiophores ; elles se trouvent parfois réunies en petites masses humides, glaireuses, mucilagineuses, appelées pionnotes, aspect visible surtout dans les cultures pures. En outre, il se forme, dans certaines conditions, avec une facilité plus ou moins grande, selon les espèces, des chlamydo-spores isolées ou groupées en chaînes, à membrane colorée, plus ou moins brune, épaisse, lisse ou ornementée ; elles naissent sur le mycélium ou bien sur les macroconidies, elles sont intercalaires, terminales.

D'après Messiaen et Cassini (1968), Booth (1977), certaines espèces du genre *Fusarium* représentent les formes conidiennes d'Ascomycètes Hypocreaceae des genres *Nectria*, *Hypomyces*, *Calonectria*, *Gibberella* etc. Les périthèces restent assez peu fréquemment produits eu égard à l'extension des fructifications conidiennes. De très nombreux *Fusarium*, par contre, ne les forment jamais.

#### 1-2-2 *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) Sn. & H.

La description que nous présentons a été donnée par Messiaen et Cassini (1968), Messiaen et Lafon (1970), Booth (1977), Nelson *et al.* (1983) complétée par celle de Burnet (1984), Windels (1992), Singh *et al.* (1991), Assigbetsé (1993).

Le mycélium, les sporodochia (masses de macroconidies) et le milieu sous-jacent peuvent présenter des colorations allant de l'orangé au violet. Certaines souches ne présentent ni sporodochium, ni pigmentation. Certaines sont dépourvues de sporodochium, mais produisent un pigment mauve ou violet avec quelquefois des sclérotés bleu-violet. D'autres, enfin, produisent des sporodochia crèmes, roses, ou orangés, avec ou sans pigmentation rose du milieu. L'aspect cultural de *F. oxysporum* sur P.D.A. correspond à un mycélium aérien de croissance rapide et de couleur variable allant du blanc au rose ou violet.

Cependant, l'aspect des souches peut fréquemment varier d'une culture à une autre après repiquage successifs, voire dans une même culture où des secteurs de couleurs ou d'aspect différents peuvent apparaître.

En effet, chez *F. oxysporum*, la morphologie du thalle est sujette à de fortes variations selon Burgess *et al.* (1989). Une telle variabilité est également de règle chez *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (FOV) selon Souop (1986). La variabilité dans la morphologie mycélienne est un phénomène commun chez les formes spécialisées de *F. oxysporum* (Burgess *et al.*, 1994). Les variations portent sur les caractères culturaux (aspect du mycélium aérien,

pigmentation du thalle) et des organes fructifères (sporodochies). Elles créent ainsi des difficultés de maintien en culture du phénotype sauvage des isolats. Ces variations apparaissent même au sein des descendants par conidies d'un même clone.

Les variations culturelles chez les formes spécialisées de *F. oxysporum* ont conduit Booth (1971) et Nelson *et al.* (1983) à distinguer des morphotypes différents fondés sur leur aspect duveteux, sporodochial, cotonneux, pionnotal, ras musqueux et sclérotial (tableau II). Cette diversité des morphotypes se rencontre chez l'ensemble des formes spéciales, incluant la forme spéciale *vasinfectum* (Nelson *et al.*, 1981 ; Assigbetsé, 1989). On a ainsi observé des reversions notamment du type sporodochial vers le type pionnotal, duveteux ou ras et vice versa. Selon Follin et Laville (1966), le morphotype pionnotal peut aussi reverser vers le morphotype sporodochial après un seul passage sur l'hôte. En outre, pour ces auteurs, le type ras muqueux constituerait l'étape de senescence des cultures et par conséquent la fin de leur évolution morphologique.

Tableau II : 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 sclérotés 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

Ces différences morphologiques entre souches, selon Messiaen et Lafon (1970), sont totalement indépendantes de la virulence et de la spécificité.

Au niveau microscopique, *Fusarium oxysporum* se caractérise par des microconidies abondantes généralement unicellulaires, ovales ou réniformes, produites en fausses têtes sur des conidiophores monophialides courts avec des dimensions de 5 - 12 X 2,2 - 3 µm. Les macroconidies fusiformes, également abondantes, comportent 4 à 6 cellules dont une cellule apicale plus mince que les autres et une cellule basale en forme de pied (figure 9). Elles mesurent 27 - 60 X 3 - 5 µm. Les chlamydospores sont présentes, globuleuses, solitaires ou en paires, intercalaires ou apicales (Booth, 1977 ; Nelson *et al.*, 1983 ; Singh *et al.*, 1991).

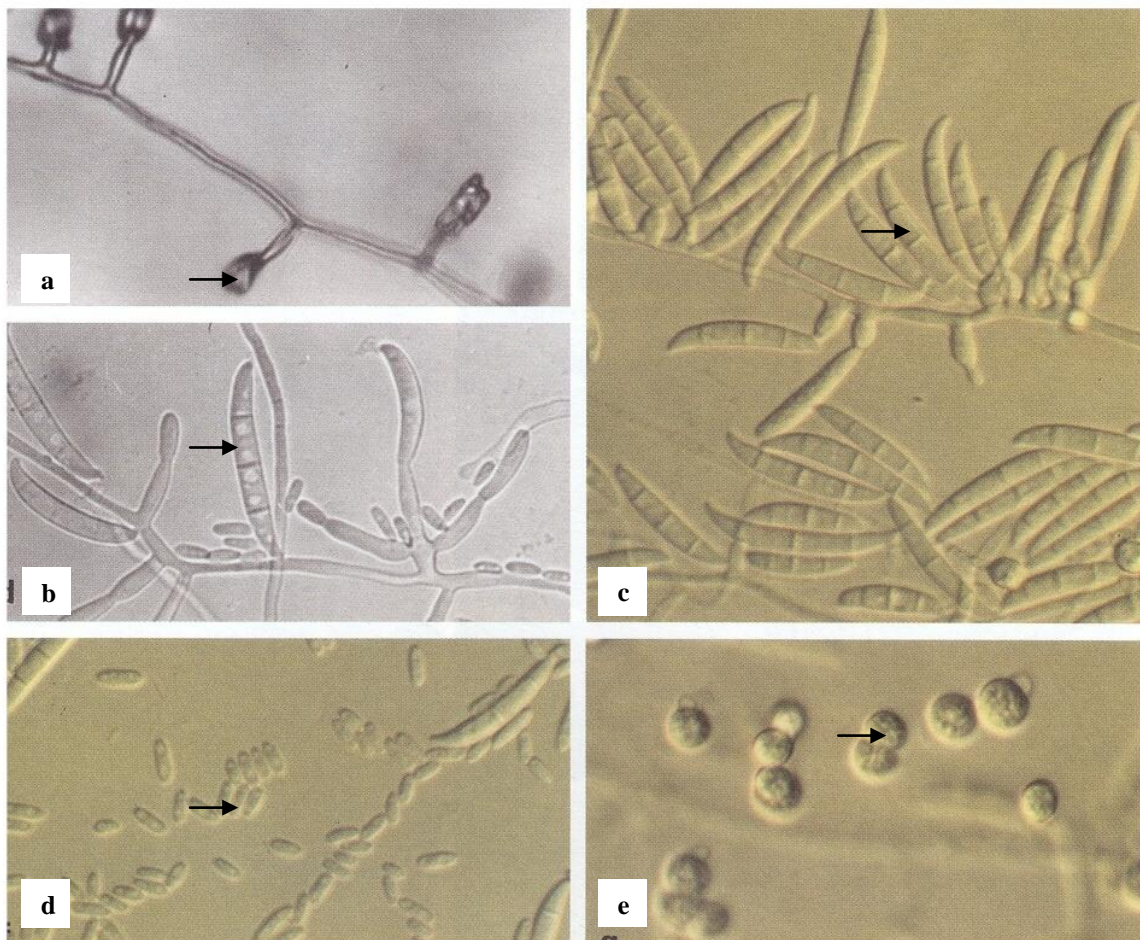


Figure 9 : Aspect microscopique de *Fusarium oxysporum* d'après Singh *et al.* (1991).

(a) : microconidies produites en fausses têtes sur des conidiophores monophialides (X 200), (b) et (c) : macroconidies et macroconidiophores monophialides (X 750), (d) : microconidies (X 660), (e) : chlamydospores (660).

### 1-2-3 Aspects génétiques de *F. oxysporum*

Aucune forme sexuée de *F. oxysporum* n'a encore été observée, ni en conditions naturelles ni au laboratoire. Or une espèce, au sens biologique du terme, est définie par rapport à la reproduction sexuée. Le concept d'espèce morphologique, chez *Fusarium*, est donc d'autant plus vrai pour *F. oxysporum* que cette espèce ne peut être délimitée que par ce critère biologique. Des études de populations de phylogénie récentes confirment cette délimitation morphologique de *F. oxysporum*. Il s'agirait bien d'une unité taxonomique et biologique, à part entière, qui est dominée par une reproduction asexuée (Edel, 1999 ; Gordon, 1993).

Les conidies et les cellules mycéliennes de *F. oxysporum* sont essentiellement uninuclées (Puhalla, 1981). Le génome nucléaire est haploïde et varie selon les souches tant au niveau de la taille que du nombre de chromosomes. Il est constitué de 5 à 14 chromosomes qui représentent, au total, 15 à 59 Mb (Momol et Kistler, 1992 ; Kim *et al.*, 1993 ; Boehm *et al.*, 1994). La taille du génome est généralement comprise entre 14 et 47 Mb, et le nombre de chromosomes entre 6 et 21 (Carlile et Watkinson, 1995 ; Walz, 1995). Kistler et Miao (1992) ont suggéré que le degré de polymorphisme chromosomique, important dans de nombreuses espèces fongiques, était lié à leur mode de reproduction. Chez les champignons imparfaits tels que *F. oxysporum*, l'absence de méiose qui, lorsqu'elle existe, permet d'éliminer les aberrations chromosomiques, conduirait à un polymorphisme important.

Le génome mitochondrial correspond à une molécule d'ADN circulaire d'environ 50 Kb (Marriot *et al.*, 1984). L'association non aléatoire entre des génotypes nucléaires et des génotypes mitochondriaux confirme le mode de reproduction essentiellement ou exclusivement asexué de *F. oxysporum* (Gordon, 1993). Les mitochondries peuvent également contenir des ADN plasmidiques linéaires ou circulaires, dont le rôle est encore peu connu (Samac et Leong, 1989 ; Momol et Kistler, 1992).

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 (Daboussi et Langin, 1994 ; Langin *et al.*, 1995). Les transposons sont nombreux dans certaines souches de *F. oxysporum* où ils peuvent constituer jusqu'à 5 % du génome (Daboussi et Langin, 1994). Ils pourraient être à l'origine de la grande variabilité du caryotype par des réarrangements chromosomiques (Mighelli *et al.*, 2000).

Le génome de *F. oxysporum* contient également de nombreuses autres séquences répétées dont la fonction est inconnue, mais dont le nombre et les positions sont généralement très variables entre souches (Kistler *et al.*, 1991 ; Elias *et al.*, 1993). Ce polymorphisme en fait, d'ailleurs, un bon outil de caractérisation. L'ensemble des séquences répétées représente une proportion importante du génome de *F. oxysporum* pouvant aller jusqu'à 20 %.

Comme de nombreux autres champignons filamenteux, des échanges de matériel génétique entre individus peuvent néanmoins se produire au cours du phénomène biologique connu sous le terme de “ parasexualité”. Pour que de tels échanges puissent se produire, il faut que les filaments mycéliens de deux individus puissent s’anastomoser, conduisant à la fusion de deux cellules et à la formation d’une cellule hétérocaryotique (généralement dicaryote) rassemblant les noyaux (haploïdes) des deux cellules initiales. Il peut alors se produire des recombinaisons mitotiques entre fragments de chromosomes des deux noyaux. *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* est un haploïde et le nombre de chromosomes du noyau est  $n=4$  (Aist et Williams, 1972 cités par Assigbetsé, 1993).

Les souches de *F. oxysporum* peuvent donc former des hétérocaryons par anastomose ou fusion d’hyphes. Ce phénomène de parasexualité est gouverné par plusieurs loci d’incompatibilité végétative appelés *vic* ou *het* (Leslie, 1993). Chez les populations de *Fusarium*, la compatibilité végétative est sous le contrôle de 8 à 10 gènes et toute altération de l’un d’entre eux conduit à la suppression de la compatibilité. Lorsque les hyphes de deux individus sont capables de s’anastomoser, on dit que ces individus sont végétativement compatibles. Deux souches, appartenant au même groupe de compatibilité végétative ou VCG, possèdent des allèles identiques à chaque locus *vic* et sont donc capables de former un hétérocaryon stable. Grâce aux travaux initiés par Puhalla (1985), les VCG ont, souvent, été utilisés pour caractériser des populations de *F. oxysporum*, essentiellement des souches pathogènes (Kistler *et al.*, 1998).

La recherche de l’existence de la compatibilité végétative entre souches présente donc un double intérêt ; d’une part, elle permet de déterminer l’existence d’un brassage potentiel de gènes, problème lié à l’évolution des populations ; d’autre part, elle constitue un indice d’une certaine proximité génétique entre souches (Cove, 1976 ; Puhalla, 1981 ; Correll *et al.*, 1986 ; Correll *et al.*, 1987 ; Katan et Katan, 1988 ; Assigbetsé, 1993 ; Katan, 1999 ; Edel, 1999).

## **II- INFLUENCE DES FACTEURS DE L’ENVIRONNEMENT DU SOL SUR L’EXPRESSION DES FUSARIOSES VASCULAIRES**

### 2-1 Concepts de base

Il a été montré, à travers de nombreuses études, que l’expression de la fusariose dépend, d’une part, de la réceptivité de la plante (une plante réceptive correspondant à une plante hôte sensible exprimant les symptômes indicateurs d’une infection par le pathogène), et également de divers facteurs directement liés au sol (Louvet *et al.*, 1976 ; Rouxel *et al.*, 1977 ; Alabouvette *et al.*, 1982 ; Wildman, 1995). En effet, outre les propriétés d’une plante hôte à tolérer ou exprimer la maladie, on note l’existence de facteurs édaphiques de nature physique, chimique ou biologique qui jouent un rôle capital dans l’expression de la fusariose.



Ces phénomènes ont conduit à des notions comme résistance du sol, réceptivité du sol, potentiel infectieux du sol etc. Nous donnerons, au vu de la littérature, un aperçu sur ces différentes notions.

D'après Alabouvette *et al.* (1982), les *Fusarium oxysporum*, agents de trachéomycoses, sont des champignons menant une vie active dans les sols avant de pénétrer dans les racines de leurs hôtes. De ce fait, la gravité des maladies qu'ils occasionnent est fonction d'interactions qui s'exercent non seulement au niveau des plantes mais également dans les sols. Baker *et al.* (1967), Baker (1968), puis Louvet (1973) ont présenté, sous forme schématique, les principaux facteurs qui conditionnent le niveau des dégâts provoqués par les champignons pathogènes telluriques. Alabouvette *et al.* (1982) présentent la formule condensée suivante:

**Niveau de maladie = f (infectivité du sol, réceptivité de la culture)**

L'expression «infectivité du sol» employée ici dans le sens donné à «inoculum potential» par Zentmeyer *et al.* (1944), à «soil infectivity» par Hornby (1975) et à «potentiel infectieux du sol» par Bouhot (1980), désigne la capacité d'un sol, naturellement infesté, à provoquer une maladie plus ou moins grave. Cette infectivité du sol peut se décomposer en deux types d'éléments : d'une part l'inoculum caractérisé par sa densité, ses capacités saprophytiques et infectieuses, d'autre part les effets de l'environnement sol qui modulent l'activité de l'agent infectieux. Alabouvette *et al.* (1982), ainsi, définissent la réceptivité d'un sol comme sa capacité à permettre l'installation, le développement et la conservation de l'agent infectieux ainsi que l'expression de son pouvoir pathogène, sur une population de plantes hôtes.

Cette notion souligne le fait que pour les maladies d'origine tellurique, le sol est un intermédiaire obligatoire entre l'agent pathogène et la plante, ce qui peut être exprimé par la formule suivante:

**Niveau de maladie = f (inoculum, réceptivité du sol, réceptivité de la culture)**

Pour un hôte et un inoculum précis, la gravité de la maladie est directement fonction de la réceptivité du sol. Concrètement, on constate que dans certains sols, la présence d'un très faible nombre de *F. oxysporum* pathogènes suffit à provoquer des dégâts importants de fusariose vasculaire alors que, dans d'autres sols, la maladie ne se manifeste pas même en présence d'une forte concentration d'inoculum (Alabouvette *et al.*, 1979). Dans le premier cas, les sols sont qualifiés de sensibles (conducive en Anglais) et dans le second de résistants (suppressivité en Anglais). Entre ces deux extrêmes, il existe toute une gamme de comportements intermédiaires.

## 2-2 Facteurs en cause

### 2-2-1 Rôle des facteurs abiotiques du sol

La plupart des premières études sur la résistance des sols aux maladies ont mis l'accent sur les facteurs abiotiques. Par exemple, Walker et Snyder (1933), cités par Alabouvette *et al.* (1996), montrent que l'incidence de la fusariose vasculaire du pois est réduite dans les sols argileux en comparaison avec les sols sableux. Dans le même sens, Hancock (1979) indique que la résistance des sols à la maladie due à *Pythium ultimum* est associée à des sols de différents niveaux de texture.

La résistance des sols peut être due à son pH ou à sa composition chimique. Ainsi, la résistance des sols à la maladie des crucifères, due à *Plasmodiophora brassicae*, a lieu dans des sols à pH supérieur à 7 (Walker et Snyder cités par Alabouvette *et al.*, 1996). Les mêmes observations ont été faites au sujet du flétrissement bactérien des solanaceae en Guadeloupe (Rat, 1979). A l'inverse, la résistance à la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre due à *Fusarium solani* var *coeruleum* n'est observée que dans les sols à pH inférieur à 5,3 (Tivoli *et al.*, 1990).

Selon Alabouvette *et al.* (1996), il est souvent difficile de comparer des données obtenues dans différentes approches expérimentales. Une des approches consiste à corrélérer les incidences des maladies obtenues aux champs ou quelquefois des données après inoculation artificielle de sol, avec les caractéristiques physico-chimiques des sols. Cette approche descriptive et corrélative a révélé que le type d'argile était un important facteur dans la résistance des sols aux fusarioses vasculaires (Stotzky *et al.*, 1961 ; Ploetz, 1994). En Amérique Centrale, les sols sur lesquels on pouvait produire pendant longtemps la banane, malgré la présence de l'agent pathogène (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*), étaient riches en argiles de la famille des montmorillonites, alors que les sols à courte durée de production ne contenaient pas ce type d'argile. Une autre approche est de modifier les caractéristiques du sol pour induire des variations de niveau de résistance. Des modifications de pH ont été faites pour démontrer le rôle de ce facteur dans les mécanismes de résistance des sols aux fusarioses vasculaires (Scher et Baker, 1980, Scher et Baker, 1982) et l'addition de différents types d'argile ont permis d'induire la résistance dans des sols sensibles (Amir et Alabouvette, 1993 ; Höper *et al.*, 1995 ; Stotzky, 1986).

L'interprétation de ce type de résultats doit être faite avec beaucoup de précautions, car les caractéristiques du sol sont interdépendantes et il est difficile d'attribuer à une caractéristique mesurée la part relative, directe ou indirecte, qu'elle prend dans la modulation de l'expression de l'activité infectieuse du pathogène (Alabouvette *et al.*, 1996, Höper et Alabouvette, 1996).

La texture du sol pourrait exercer, par ailleurs, au moins deux types d'influence sur les micro-organismes : une interaction directe entre les particules du sol et les microorganismes et un effet indirect à travers l'influence de la texture sur la structure du sol, l'aération du sol et

le potentiel de l'eau, et la disponibilité des bases échangeables (Stotzky, 1986 ; Robert et Chenu, 1992). Cependant des fractions de limon pourraient contenir des structures minérales de l'argile (exemple : micas). La fraction d'argile est supposée avoir le rôle majeur. Il est généralement admis que les argiles favorisent l'activité bactérienne et sont moins favorables à celle des champignons (Alabouvette *et al.*, 1996 ; Höper *et al.*, 1995).

La structure du sol est importante, spécialement pour la répartition de la taille des pores, qui détermine l'espace habitable par les bactéries, les champignons et les prédateurs. Ayant une structure instable, les sols limoneux sont plus susceptibles à la compaction que les sols sableux. Les maladies dues à *Aphanomyces*, *Phytophthora*, *Verticillium* et *Fusarium solani* sont importantes dans les sols à forte densité ou compactés (Cook et Papendick, 1972, Fulton *et al.*, 1961 & Miller et Burke, 1974).

L'influence des éléments physiques du sol sur la sévérité des maladies est liée aux conditions environnementales des sols *in situ* (Cook et Papendick, 1972 & Stolzy *et al.*, 1965). Les sols riches en matières organiques ont tendance à être résistants, par exemple, à la pourriture des racines du blé due à *Fusarium* sp. Par contre, la pourriture noire des racines de tabac apparaît être indépendante de la matière organique (Broadbent et Baker, 1974, Broadbent et Baker, 1975 ; Papendick et Cook, 1974 ; Lucas et Nignon, 1987).

Malgré le nombre important d'études sur les interactions entre macroéléments comme l'azote et l'incidence de la maladie, il est admis que le rôle des microéléments reste très important, malheureusement, il n'est pas suffisamment pris en compte (Höper *et al.*, 1995).

#### 2-2-2 Rôle des facteurs biotiques

La résistance des sols aux maladies et en particulier aux fusarioses vasculaires est fondamentalement de nature microbiologique (Alabouvette *et al.*, 1984 & Abadie, 1995). Il a été démontré que la résistance de ces sols est supprimée consécutivement à des traitements biocides tel qu'un traitement thermique ou une application de bromure de méthyle (Louvét *et al.*, 1976 ; Scher et Baker, 1980). Cette résistance peut être transmise en mélangeant une faible quantité de sol résistant à un sol sensible préalablement traité ou non à la chaleur. Seuls les microorganismes capables de se multiplier sont responsables du transfert de cette résistance à un sol sensible (Abadie, 1995).

Deux sols ont été particulièrement étudiés : le sol de Châteaurenard en France résistant à la fusariose du melon (Alabouvette, 1986) et le sol de Salinas Valley en Californie, résistant à la fusariose de l'œillet (Scher et Baker, 1980). Cependant, de nombreux exemples de sols résistants à une maladie, qu'elle soit causée par des champignons telluriques (pourriture racinaire du pois due à *Aphanomyces euteiches*, fontes de semis dues à *Pythium* spp., fusarioses vasculaires de nombreuses espèces végétales dues aux formes spéciales de *F. oxysporum*, ...), mais également des bactéries (flétrissement bactérien de la tomate dû à *Ralstonia solanacearum*), des actinomycètes (nécroses sur pomme de terre dues à *Streptomyces scabies*) ou des nématodes (kystes sur betterave dus à *Heterodera schachtii*) ont

été décrits (Rouxel, 1991). Dans tous les cas, la population de microorganismes pathogènes impliqués est présente dans le sol, mais son activité infectieuse ne peut pas s'exprimer car la microflore ou certaines de ses composantes la contraignent.

Cette mise en évidence du rôle de la microflore dans les mécanismes de résistance des sols a stimulé les recherches visant à identifier les microorganismes antagonistes et à en étudier leur mode d'action. Ainsi, il a été mis en évidence que la résistance des sols au piétin échaudage du blé (take-all decline) résultait de l'activité antibiotique exercée par des bactéries du groupe des *Pseudomonas* fluorescents à l'encontre de *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*, responsable de la maladie (Weller *et al.* 2002). La présence, dans un sol maraîcher, de populations de *F. oxysporum* non pathogènes, mais inductrices de réactions de défense chez le melon réduit significativement la gravité de la maladie due à *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, conférant, au sol, un niveau de résistance à la fusariose compatible avec la culture de cette plante (Larkin *et al.*, 1993). Des champignons appartenant au genre *Trichoderma*, aux espèces *Verticillium biguttatum*, *Coniothyrium minitans* diminuent l'inoculum primaire des pathogènes (*Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, etc.) par leur activité mycoparasitaire et contribuent ainsi à la résistance des sols aux maladies causées par ces pathogènes (Whipps, 1997).

Mais même lorsque certaines populations microbiennes antagonistes de l'agent pathogène ont été mises en évidence dans certains sols résistants, leur rôle ne peut être pris en considération indépendamment du rôle de l'ensemble de la microflore saprophyte des sols. Ainsi Cook et Baker (1983) définissent deux types de résistance : la résistance générale et la résistance spécifique. La résistance générale ferait intervenir l'activité de la biomasse microbienne totale et la résistance spécifique, quant à elle, serait liée à l'activité antagoniste d'une population microbienne particulière vis-à-vis de l'agent pathogène. En général, ces microorganismes ont été isolés, sélectionnés pour leur activité antagoniste directe et leur compétence saprophytique pour être utilisés comme agent de lutte biologique dans des conditions contrôlées de type cultures hors sol, sous serre, en maraîchage, mais beaucoup plus rarement en plein champ (Fokkema, 1996). Aussi, le suivi de la dynamique de l'agent pathogène introduit dans le sol est un élément important à prendre en compte pour l'interprétation des résultats relatifs aux mesures de la réceptivité des sols (Abadie, 1995).

Cependant, il faut souligner que malgré le rôle prépondérant des facteurs biotiques, l'influence des caractéristiques physico-chimiques ne peut être exclue. Ces constituants abiotiques jouent un rôle dans les équilibres microbiens, responsables eux – mêmes de la résistance aux maladies (Abadie, 1995 ; Amir et Alabouvette, 1993). Dans ces conditions, puisque l'éradication du pathogène n'est pas possible et l'inoculation, au champ, d'agents de lutte biologique n'étant pas toujours réalisable pour limiter l'expression de l'activité infectieuse du pathogène, l'alternative consiste à modifier l'environnement abiotique de telle sorte qu'il favorise les communautés microbiennes bénéfiques au détriments des populations d'agents pathogènes.

Cette démarche est actuellement prise en compte dans le cadre d'un concept émergeant, visant à promouvoir la qualité des sols (Soil Health des anglo-saxons) sur la base d'une redéfinition d'un ensemble de pratiques culturales compatibles avec une agriculture durable et respectueuse de l'environnement (choix des rotations, cultures intermédiaires, travail superficiel du sol, gestion des résidus, ...) et grâce auxquelles la résistance des sols aux maladies serait améliorée (Abawi et Widmer, 2000 ; Alabouvette *et al.*, 2004 ; Steinberg *et al.*, 2002 ; Van Bruggen et Semenov, 2000).

### III- MANIFESTATION DE LA FUSARIOSE VASCULAIRE DU COTONNIER

Les Fusarioses vasculaires sont causées par *Fusarium oxysporum*, caractérisée par une spécialisation parasitaire très étroite. En effet, au sein de cette espèce, des "formes spéciales" (f.sp.) ont été définies sur la base d'une spécificité d'hôte identique pour tous les isolats, souches ou populations de *F. oxysporum* capable de causer une trachéomycose ou des nécroses de racines sur une espèce végétale donnée. De nombreux isolats, souches et populations de *F. oxysporum* sont considérés comme des champignons non pathogènes, par défaut, car ils ne provoquent de symptômes de fusariose sur aucune des espèces végétales testées au jour de leur identification. Néanmoins, leur caractère pathogène peut être révélé lors d'une confrontation ultérieure avec une nouvelle espèce végétale apparaissant alors comme l'espèce hôte à laquelle ils sont inféodés. De plus, on ne peut exclure qu'au cours d'événements génétiques intervenant au cours de l'évolution de l'espèce *F. oxysporum*, des mutations ou des recombinaisons conduisent à l'apparition du caractère de pathogénicité chez des individus, aboutissant à l'émergence d'une nouvelle forme spéciale. C'est pourquoi, le nombre de formes spéciales décrites évolue constamment. Soixante six (66) formes spéciales (f.sp.) étaient décrites en 1968 (Messiaen et Cassini, 1968), 76 en 1981 (Armstrong & Armstrong 1981, Cook & Baker, 1983, Edel, 1999) et près d'une centaine à ce jour (<http://194.131.255.3/cabipages/Name/NAMES.ASP> et <http://NT.ars-grin.gov/>)

*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* est ainsi l'agent causal de la fusariose vasculaire du cotonnier (Atk.) Sn. & H.(Meyer, 1967 ; Messiaen et Cassini, 1968 ; Parry, 1982).

La description des symptômes, présentée ici, a été faite par Lagièrre (1966) et C.I.R.A.D. (1994). Il indique que la fusariose peut atteindre les plantules, des jeunes plants, ou des cotonniers plus âgés. Les plants parasités peu après la levée meurent rapidement. Ceux atteints à un stade plus avancé sont rarement groupés en une tache ; ils semblent plutôt légèrement dispersés. Ils peuvent mourir ou rester rabougris avec des entre-noeuds courts ; quelquefois, de nouvelles pousses naissent aux noeuds inférieurs. En examinant des cotonniers fusariés après le stade plantule, on note le jaunissement des feuilles et le brunissement des vaisseaux ligneux (figure 10). Le limbe devient convexe, les nervures jaunissent et paraissent plus claires ou bien rougissent, puis le limbe jaunit. Le jaunissement et la nécrose progressent entre les nervures et en fin d'évolution, les feuilles tombent.



**a**



**c**



**b**



**d**



**e**

Figure 10 : Symptômes de la fusariose vasculaire du cotonnier :

**a/** chlorose et nécrose sur feuille, **b/** flétrissement généralisé du plant, **c/** flétrissement généralisé avancé avec des feuilles desséchées, **d/** coupe longitudinale d'une tige montrant le brunissement des vaisseaux dû au champignon, **e/** coupe transversale d'une tige montrant la section brunie, signe de l'infection par le champignon.

Source : C.I.R.A.D. (1994)

Le phénomène débute par les feuilles basses, les plus âgées. Les vaisseaux ligneux jaunissent, brunissent et noircissent et cette coloration est continue. Elle est bien visible en levant l'écorce de la tige et elle ne peut être confondue ni avec les ponctuations noirâtres dispersées dans le bois ni avec le noircissement de la moelle. La coloration typique des vaisseaux est marquée au point d'insertion du pétiole d'une feuille atteinte. Ces feuilles jaunissantes sont souvent flasques pendant la journée ; mais ce flétrissement est réversible. En fin d'évolution, la flaccidité est permanente et le pétiole se sépare aisément de la tige. Le méristème terminal d'une tige défoliée meurt et la nécrose des tissus gagne vers le bas. Le plant tout entier ou seulement en partie est intéressé par ces symptômes. Les nouvelles pousses présentent aussi quelques fois les symptômes caractéristiques ; leur capacité de production est toujours très faible. Le flétrissement graduel du cotonnier est de règle.

#### IV- ETIOLOGIE, RELATION HOTE PARASITE ET EPIDEMIOLOGIE

##### 4-1 Pathogénicité et spécificité parasitaire

*Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. & H. était, anciennement, connu sous le nom d'espèce de *Fusarium vasinfectum* Atk. (synonyme de *F. malvacearum* Taub.) et appartenait, ainsi, à la section *Elegans* et à la sous-section *Oxysporum* (Roger, 1953 ; Messiaen & Cassini, 1968). De manière surprenante, pour un *F. oxysporum* appartenant à une forme spéciale caractérisant sa spécificité d'hôte, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* s'attaque, également, à d'autres plantes cultivées de genres différents de *Gossypium*. On notera, entre autres, le tabac (*Nicotiana tabacum*), *Physalis alkekengi* et certaines légumineuses (*Cassia tora*, *Glycine max*).

Des différences dans la virulence et des variations dans l'agressivité se manifestent fréquemment chez les formes spécialisées de *F. oxysporum*. Armstrong et Armstrong (1958, 1960, 1978, 1980) et Ibrahim (1966) ont rapporté l'existence chez *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* des différences de virulence entre souches vis-à-vis de différents cultivars appartenant à diverses espèces de *Gossypium* (*G. hirsutum*, *G. barbadense*, *G. arboreum*). Ils ont ainsi défini six races physiologiques sur la base d'infections réalisées sur les espèces de cotonnier et d'autres espèces de plantes telles que le tabac (*Nicotiana tabacum*), le gombo (*Abelmoschus esculentus*) et la luzerne (*Medicago sativa*). Ces races sévissent pour la plupart dans des zones géographiques bien délimitées.

La **race 1** est très répandue aux U.S.A. et en Afrique de l'Est ; elle attaque les cultivars de *G. hirsutum* et le cultivar Sakel de *G. barbadense*.

La **race 2** sévit également également aux U.S.A. et se distingue de la race 1 en attaquant le tabac.

Quant à la **race 3**, elle est répandue en Egypte et au Soudan où elle provoque des dégâts sur les cultivars de *G. arboreum* et sur le cultivar Sakel de *G. barbadense*.

La **race 4** sévit en Inde et en C.E.I. (Communauté des Etats Indépendants : ex Union Soviétique) et n'attaque que les cultivars de *G.arboreum*.

La **race 5** attaque le cultivar Ashmouni de *G. barbadense*.

La **race 6** est décrite au Paraguay et au Brésil où elle présente les mêmes comportements parasitaires que les races 1 et 2, mais elle n'attaque pas les plantes non hôtes (à l'instar des races 1 et 2).

Il faut cependant noter qu'en infection artificielle, Fov est capable d'infecter une large gamme de plantes appartenant à diverses familles de l'ordre des malvales (des malvaceae, des sterculiaceae, et des tiliaceae), ce qui justifie d'ailleurs son ancienne dénomination de *F. malvacearum* (Wood et Ebbels, 1972).

#### 4-2 Epidémiologie et interactions hôte – parasite

##### ➤ Infection et épidémiologie

La température a une très grande influence sur la croissance de l'espèce fongique et principalement sur les possibilités de réalisation de l'infection ; les températures de l'air, mais surtout celles du sol, exerçant une action profonde, réglant en grande partie le pouvoir pathogène du cryptogame, et faisant aussi varier la capacité de résistance de la plante.

En culture pure, la croissance apparaît très lente à 10 °C et maximum entre 28 et 30 °C ; elle cesse en général à partir de 38 °C. La germination des spores et leur développement ultérieur s'effectuent très vite, surtout dans les milieux à réaction acide (Roger, 1953).

Dans les conditions naturelles, l'infection se trouve surtout subordonnée à la température du sol. Elle s'opère facilement et avec rapidité entre 20 et 30 °C, au-dessus, les chances de contamination diminuent et deviennent presque nulles. La température de l'air influe beaucoup moins, mais elle possède, cependant, une action sur la rapidité d'invasion des parties aériennes ; leur envahissement apparaît bien plus considérable à haute température et cesse pratiquement vers 22 à 24°C (Roger, 1953).

La nature et la composition des sols agissent beaucoup sur l'extension de la maladie. Dans tous les pays où cette espèce constitue une affection grave du cotonnier, on observe le wilt surtout dans les terres pauvres en potasse, ou bien dans celles fournissant une nutrition non adaptée aux exigences de la plante, ou déséquilibrée.

Selon Parry (1982), la transmission de l'agent pathogène peut s'opérer par le sol qui contient ses spores et ses formes résistantes de conservation, les chlamydospores. La contamination des terres est presque permanente, puisque cet organisme y existe naturellement et parvient à y vivre en saprophyte.

Les facteurs favorisant la dissémination de Fov, notamment par la propagation des spores, sont très diversifiés (Nelson, 1981) ; on peut les résumer par les éléments suivants :



- l'homme par le déplacement des débris végétaux et des sols infestés vers des zones non infestées ;
- l'eau par l'irrigation, le "splashing" et le ruissellement ;
- le vent par le transport de particules de terre contaminées par des spores ;
- les semences contaminées, par les importations et les échanges de matériel végétal.

Par ailleurs, la présence de nématodes, comme c'est le cas souvent de *Meloidogyne*, est un important facteur d'aggravation de la maladie (Starr *et al.*, 1989).

Selon Nelson *et al.* (1981) et Snyder & Shirley (1981), la transmission de Fov par les semences infestées demeure la principale voie de propagation de la maladie. La pénétration du champignon dans la plante s'effectue par des blessures ou par des ouvertures naturelles du système racinaire (Beckman & Talboys, 1981). Vingt quatre (24) heures après la pénétration, le mycélium est décelé dans les vaisseaux de la plante (Shi *et al.*, 1991a). Dans le système vasculaire, la propagation du parasite se fait surtout par les spores qui sont entraînées par le flux de sève ascendante. Elles sont arrêtées au niveau des plaques de perforation des vaisseaux qu'elles ne peuvent traverser. A ce niveau, les spores germent, le mycélium traverse les parois cellulaires au niveau des perforations et produit de nouvelles spores dans le vaisseau adjacent (Dimond, 1970). Tous les types de spores (microconidies, macroconidies et chlamydospores) sont présents dans les vaisseaux du xylème de cotonnier infecté (Shi *et al.*, 1991a). La contamination du système vasculaire se produit ainsi de proche en proche. Les hyphes se répandent latéralement à travers les ponctuations des parois des vaisseaux. A terme, la plante est totalement envahie par le champignon qui peut également atteindre les fruits (Ebbels, 1975 cité par Assigbetsé, 1993).

#### ➤ Interactions hôte – parasite

De nombreux travaux, très contradictoires parfois, ont été réalisés dans le but de déterminer l'implication de substances fongiques dans la pathogénèse. Certaines des tendances qui se dégagent sont évoquées dans cette analyse.

Ebbels (1975) et Assigbetsé (1993) ont mis en évidence le rôle d'une toxine, l'acide fusarique, dans l'induction des symptômes de fusariose. Son implication, dans la pathogénie, n'est cependant pas encore très élucidée. En effet, Ebbels (1975) pense que l'acide fusarique change les propriétés de perméabilité de la membrane plasmique des cellules des feuilles, les rendant ainsi incapables de renouveler les pertes en eau dues à la transpiration. Selon Charoudattan (1969), Kuo & scheffer (1964), l'acide fusarique n'interviendrait pas seul dans le déterminisme du flétrissement, puisque ayant été identifié à la fois chez les souches pathogènes et non pathogènes de *F. oxysporum*. D'autres auteurs ont associé l'apparition des symptômes à l'activité de certaines enzymes hydrolytiques (pectinases, cellulases) et à l'occlusion des vaisseaux par les tyloses, les dépôts de gels et/ ou par l'accumulation de filaments mycéliens (Pegg, 1981 ; Shi *et al.*, 1991b ; Shi *et al.*, 1993). Bien que l'implication directe des enzymes dans la pathogénie soit encore sujette à controverse, Pegg (1981) a

démontré que leur activité, dans les plantes sensibles, était supérieure à celle mesurée dans les plantes résistantes.

L'infection du cotonnier par Fov est associée à des réactions de défense variables selon les cultivars. Ces réactions se manifestent tant à l'échelle cellulaire que moléculaire. A l'échelle cellulaire, diverses réactions sont rapportées dans la littérature. Elles concernent :

- les papilles, caractérisées par une accumulation de callose ( $\beta$  1.3 glucane) et ou de lignine (Beckman *et al.*, 1981) ;
- les dépôts de lignines au voisinage du mycélium (Bugbee, 1970 ; Talboys, 1972) ;
- la subérification des parois des cellules de l'endoderme (Beckman et Talboys, 1981) ;
- des dépôts de gels et de gommes (Vandermolen *et al.*, 1977) ;
- des tapissements pariétaux au niveau des perforations et contre la couche S3 des vaisseaux (Robb *et al.*, 1987) ;
- la différenciation de tylose (Bugbee, 1970).

Les réactions biochimiques concernent les modifications du contenu phénolique des cellules (Davis et Dimond, 1954 cités par Mace *et al.*, 1972) et la synthèse de phytoalexines (Mace *et al.*, 1985). Kaufman *et al.* (1981) ont démontré, chez le cotonnier, l'implication d'une phytoalexine, le gossypol (un aldéhyde terpenoïde) dans la résistance de certains cultivars à la fusariose. Harrison et Beckman (1982) indiquent que chez le cotonnier infecté, les phytoalexines sont produites par les cellules de contact du parenchyme vasculaire. En plus, elles sont produites plus rapidement et en plus grande quantité chez les plants résistants que chez les plants sensibles.

Selon Assigbetsé (1993), plusieurs réactions de défense ont été décrites, mais aucune n'a été réellement démontrée comme impliquée dans la résistance à la fusariose. Par ailleurs, le déterminisme génétique de la résistance à la fusariose reste toujours mal connu et peu de travaux en font état.

#### 4-3 Méthodes de lutte

Différentes méthodes existent pour lutter contre la fusariose du cotonnier (Assigbetsé, 1993).

##### ➤ **Méthodes prophylactiques**

Elles consistent en la production de semences saines, la destruction des débris de récolte par brûlis et la mise en quarantaine des semences importées.

➤ **Méthodes agronomiques**

Elles consistent en une jachère de longue durée, une rotation culturale avec des cultures non hôtes. L'effet de l'éradication, par ces techniques, ne paraît pas toujours efficace, car Fov, même en l'absence de cotonnier, peut survivre à l'état saprophytique dans les débris végétaux et dans la rhizosphère des plantes non hôtes.

➤ **Méthodes chimiques**

Elles reposent sur le traitement des semences avant le semis et la fumigation des sols infestés par le complexe Fov / nématodes afin de réduire l'incidence de ces dernières sur la fusariose (Hillocks, 1984). Cette pratique s'avère cependant trop onéreuse pour beaucoup de pays producteurs de coton et même polluante lorsqu'elle est basée sur l'utilisation de fumigants tels que le bromure de méthyle.

➤ **Méthodes génétiques**

Elles consistent en la recherche de variétés résistantes. De hauts niveaux de résistance existent chez certains cultivars de *G. barbadense*.

➤ **Lutte biologique et prémunition**

Elles reposent, d'une part, sur l'utilisation de micro-organismes antagonistes révélés efficaces pour lutter contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *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).

## CONCLUSION PARTIELLE

Le cotonnier, *Gossypium* spp, l'une des malvaceae cultivées les plus importantes, connaît un essor remarquable, depuis sa vulgarisation par l'Etat de Côte d'Ivoire, dans le Nord du pays. Cette évolution est due, entre autres, à l'effort d'encadrement et de recherche sur cette plante, mais aussi aux conditions pédo-climatiques favorables.

Il convient de noter, toutefois, que les efforts constants pour le progrès de cette culture sont quelquefois entravés par des contraintes, notamment, parasitaires. Les plus importantes, traditionnellement, sont le fait d'insectes et acariens ravageurs. Les maladies ont été, de ce fait, reléguées au second plan compte tenu de leurs aspects peu spectaculaires ou des dégâts jusqu'alors peu importants. Cependant la trachéomycose due à *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* s'annonce comme la plus importante affection fongique sur la culture.

Depuis son apparition sur poste d'observation dans les années 83/84, elle connaît une progression très inquiétante vu son apparition fulgurante en plantations paysannes. Les méthodes classiques de lutte par usage de pesticides sont connues peu efficaces et moins économiques. L'usage de variétés résistantes reste la voie la plus sûre. De ce fait, une meilleure connaissance de la structure des populations pathogènes s'avère nécessaire. L'analyse des facteurs de l'environnement des cultures est également un élément essentiel pour la compréhension de l'écologie de la maladie.

Après cette analyse de données bibliographiques sur la culture cotonnière en Côte d'Ivoire, les contraintes à son évolution souhaitée et surtout sur les caractéristiques de *F. oxyporum*, agent de trachéomycose, nous présentons dans la deuxième partie, qui va suivre, les méthodes et matériels utilisés pour la caractérisation des populations de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* de Côte d'Ivoire et pour l'analyse des relations entre la maladie et les facteurs de l'environnement du sol. Les méthodes utilisées, dans chaque section du travail, seront présentées en détail. Les résultats qui en découlent seront exposés et discutés dans une troisième partie.

A rectangular box with a marbled, grey and white patterned background. The text is centered within this box.

DEUXIEME PARTIE :  
**MATERIELS ET METHODES**

## INTRODUCTION

Cette deuxième partie de l'étude est liée à la problématique déjà développée et aux objectifs que nous voulons atteindre. La fusariose vasculaire du cotonnier est une maladie assez récente en Côte d'Ivoire, mais qui n'est pas suffisamment étudiée par rapport aux conditions environnementales locales, conditions qui, du reste, influencent son expression. Il ressort, fondamentalement, de ce qui précède que d'une part, la maladie s'est déclarée dans différentes localités de la zone de production cotonnière, mais qu'elle n'est pas présente partout et d'autre part, que le niveau de maladie dépend de trois facteurs : l'inoculum, la réceptivité de la plante et la réceptivité du sol.

Dans le premier chapitre, nous allons exposer l'essentiel du matériel qui a été utilisé pour conduire cette étude. Dans le second chapitre, les différentes méthodes seront énoncées. Nous allons, dans un premier temps, nous intéresser à la composante "inoculum" de la fusariose vasculaire du cotonnier pour comprendre son rôle dans le développement de la maladie ces dernières années en Côte d'Ivoire. Deux hypothèses sont, alors, analysées.

- (i) Si cette expansion de la maladie relève d'une épidémie liée à la dispersion d'un pathogène se développant à partir d'un foyer initial ou bien de l'explosion de plusieurs foyers indépendants. Pour répondre à cette question, des FOV doivent être isolés à partir de plantes malades issues des régions affectées par la maladie, ces isolats doivent être caractérisés et comparés afin d'évaluer leur diversité. Une absence de diversité militerait pour le développement clonal d'une population à partir d'un foyer initial. Une grande diversité, à l'inverse impliquerait l'existence possible de plusieurs foyers causés soit par des souches d'origines différentes, soit par l'évolution, par le biais de mutations-recombinaisons, d'une population clonale originelle, sous l'influence des conditions environnementales locales.
- (ii) Si les isolats de FOV exprimant leur activité infectieuse en Côte d'Ivoire sont génétiquement proches ou différentes des souches pathogènes identifiées dans les régions cotonnières à l'extérieur de la Côte d'Ivoire. La comparaison des isolats ivoiriens et non ivoiriens pourrait permettre de supposer soit une introduction de l'agent pathogène, soit un développement concomitant en Côte d'Ivoire et dans d'autres régions du monde des populations de FOV, soit à l'inverse, une évolution particulière de la population originale. Pour essayer de répondre à cette question, une collection de souches de FOV d'origines internationales doit être constituée

La démarche que nous avons suivie pour atteindre ces objectifs est la suivante : une campagne d'inventaire a été réalisée pour constituer une collection de FOV Ivoiriens et parallèlement des demandes ont été formulées auprès de chercheurs et de curateurs de

diverses collections internationales afin de rassembler des FOV de toutes les origines possibles.

Tous les isolats obtenus (ivoiriens et autres) ont été caractérisés à l'aide de méthodes phénotypique (compatibilité végétative) et génotypiques (diversité de l'espace intergénique (IGS) au niveau de l'ADNr, occurrence de gènes de sexualité (mating type).

Dans un second volet de la démarche, nous nous intéressons à la composante "réceptivité du sol". Cette dernière composante est très complexe, car elle intègre tous les facteurs abiotiques telluriques, tous les facteurs biotiques, c'est-à-dire la diversité, la densité et les activités des communautés microbiennes du sol, et les interactions entre facteurs abiotiques et biotiques. En outre, il faut prendre en compte les facteurs environnementaux (pratiques culturales, itinéraires techniques, météorologie, ...).

Dans une première approche, et dans le cadre de ce travail, nous ne prendrons pas en compte les facteurs environnementaux et nous travaillerons en serre, en conditions contrôlées. En effet, ayant constaté le développement de la maladie dans certains sols alors que dans d'autres sols, la fusariose ne s'était pas manifestée, nous souhaitons savoir si l'absence de maladie était due à une absence de pathogène ou à une résistance du sol à l'expression de la maladie malgré la présence du pathogène. Si la résistance de sols ivoiriens est avérée, nous essayerons de déterminer des causes à cette résistance. La connaissance de facteurs impliqués dans la résistance apparaît comme une première étape dans la réflexion sur les modifications à apporter aux sols sensibles à la maladie pour les faire évoluer vers un niveau de résistance compatible avec une culture économiquement intéressante du cotonnier. Pour progresser vers cet objectif, la démarche que nous avons suivie a été de collecter des sols dans les régions productrices de coton. Ces sols ont été testés pour leur niveau de résistance à la maladie à l'aide de bio-essais conduits en serre et un certain nombre de paramètres biologiques ont été mesurés afin d'essayer de mettre en relation ces paramètres et le degré de résistance.

## CHAPITRE I : MATERIELS

La conduite de cette étude a nécessité l'utilisation de nombreux matériels très diversifiés composés de matériel biologique, de sols et de matériel technique de laboratoire ou de terrain. Dans ce chapitre, nous présentons l'essentiel de ces matériels.

### I- MATERIEL BIOLOGIQUE

#### 1-1 Matériel végétal

Deux espèces végétales ont été utilisées dans cette étude pour réaliser des inoculations. Il s'agit, d'une part, de deux variétés de cotonnier (ISA 205 K et GL7, variété sans glande), vulgarisées par les sociétés cotonnières, appartenant à l'espèce *Gossypium hirsutum* L., qui nous ont été fournies par la Cellule Semences de la Compagnie Ivoirienne pour le Développement des Textiles (C.I.D.T.) et le Laboratoire de Génétique de la Station Coton du Centre National de Recherche Agronomique (C.N.R.A.), à Bouaké et d'autre part, de la variété de lin "Opaline" appartenant à l'espèce *Linum usitatissimum* L. fournie par le Service des serres de l'I.N.R.A. de Dijon.

#### 1-2 Matériel fongique

Des souches de l'agent pathogène, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. & H., ont été utilisées dans les différentes études de caractérisation. Certaines, au nombre de 17, ont été collectionnées en Côte d'Ivoire ; 29 autres ont été empruntées à des laboratoires internationaux (tableaux III et IV).

Par ailleurs, la souche F0ln3B5 de *F. oxysporum* f.sp. *lini* (Bolley) Sn. & H., agent de la fusariose vasculaire du lin, a été utilisé dans le test de réceptivité des sols. Elle a aussi servi de témoin dans les analyses P.C.R., tout comme les souches F0ln2 et Fo47 de *Fusarium oxysporum*. Cette dernière, reconnue comme non pathogène, a été utilisée comme témoin dans différents tests d'inoculation. Ces souches ont été fournies par le Laboratoire de Biochimie, Biologie Cellulaire et Ecologie des Interactions Plantes Microorganismes de l'I.N.R.A. de Dijon.



Tableau III : Nouveaux isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* de Côte d'Ivoire

Noms et N° des isolats	Dates d'isolement	Lieux de prélèvement	Variétés de cotonnier ou sols
FOV 1	Nov. 1994	Bouaké, station C.N.R.A.	GL7
FOV 2	Sept. 1995	Bouaké, station C.N.R.A.	GL7
FOV 3	Sept. 1995	Bouaké, station C.N.R.A.	N3BURK
FOV 4	Déc. 1994	Tiéningboué/P.O.	GL7
FOV 5	Nov. 1995	Tiéningboué/M.P.	ISA205K
FOV 6	Sept. 1995	Bouaké, station C.N.R.A.	sol et GL7
FOV 7	Nov. 1995	Tiéningboué/M.P.	sol et ISA205K
FOV 8	Oct. 1996	Kounahiri/Golipra/M.P.	ISA319A
FOV 9	Oct. 1996	Béoumi/M.P.	ISA205K
FOV 10	Oct. 1996	Béoumi/M.P.	ISA319A
FOV 11	Oct. 1996	Tiéningboué/M.P.	ISA205K
FOV 12	Oct. 1996	Tiéningboué/P.O.	Ess. Variétal1
FOV 13	Oct. 1996	Tiéningboué/P.O.	Ess. Variétal2
FOV 14	Oct. 1996	Béoumi/M.P.	ISA205K
FOV 15	Oct. 1996	Béoumi/M.P.	ISA319A
FOV 16	Oct. 1996	Kounahiri/Golipra/M.P.	ISA319A
FOV 17	Oct. 1996	Tiéningboué/M.P.	ISA319A

- M..P. : Milieu paysan

- P.O. : Poste d'observation

- Ess. : essai (variété non indiquée)

N.B. : Ces isolats ont été tous monospores, mais dans cette étude, nous utiliserons le terme d'isolat au lieu de souche pour cette nouvelle collection ivoirienne, cela avant leur typage à l'aide de critères phénotypiques et génotypiques (VCG, type IGS, Mating Type). Le but étant de les distinguer de la collection internationale déjà caractérisée.

Tableau IV : Souches de la collection internationale de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

N° de souche	N° d'origine et collection	Races physiologiques	VCG	Origines géographiques des isolats	Laboratoires d'origine des souches
FOV 18	VCG 0117	a	0117	Bénin	<b>Australie</b> Wayne O'Neill Farming Systems Institute. Plant Pathology Bulding. DPI, 80 Meiers Road, Indooroopilly, Qld. 4068 Australia
FOV 19	IMI 141112	4	0114	U.S.A.	
FOV 20	IMI 141 146	1	0111	U.S.A.	
FOV 21	IMI 141148	2	0112	U.S.A.	
FOV 22	IMI 195 176			Tanzanie	
FOV 23	IMI 292 248	1	0112	Tanzanie	
FOV 24	IMI 325 576	5		Soudan	
FOV 25	IMI 338 126	6		Brésil	
FOV 26	Fov11	a	0112	Tanzanie	<b>France</b> Diana Fernandez Laboratoire de Phytopathologie Tropicale, ORSTOM, B.P.5045 Montpellier, France
FOV 27	ATCC 16612	3	0113	Egypte	
FOV 28	MH3	3	0113	Israël	
FOV 29	ATCC 16613	4	0114	Inde	
FOV 30	CH1-26	4	0114	Chine	
FOV 31	CYSA	a	0115	Côte d'Ivoire	
FOV 32	CIAN	a	01110	Côte d'Ivoire	
FOV 33	NRRL 31667	3		Egypte	
FOV 34	NRRL 25434	4	0114	Inde	<b>Etats-Unis d'Amérique</b> Kerry O'Donnell, Microbial Genomics and Bioprocessing Research Unit, 1815 North University Street Peoria, Illinois 61604, U.S.A.
FOV 35	NRRL 25420	1	0111	U.S.A.	
FOV 36	NRRL 25427	2	0112	U.S.A.	
FOV 37	NRRL 25430	3	0113	Egypte	
FOV 38	NRRL 31662	4	0114	Inde	
FOV 39	NRRL 25437	6	0116	Brésil	
FOV 40	NRRL 25432	5		Soudan	
FOV 41	NRRL 25422	1		U.S.A.	
FOV 42	NRRL 25431	5		Soudan	
FOV 43	NRRL 25429	3		Egypte	
FOV 44	NRRL 25421	2		Egypte	
FOV 45	NRRL 25424	2	0112	U.S.A.	
FOV 46	NRRL 25425	2	0112	U.S.A.	
FOV 47	NRRL 25436	4	0114	Inde	
FOV 48	NRRL 25435	4	0114	Inde	

**NB** : FOV 27 = FOV 37 et FOV 29 = Fov 38

VCG. : Vegetative Compatibility Group (= Groupe de Compatibilité Végétative)

## II- SOLS

Divers substrats ont été utilisés dans cette étude. Un substrat stérile, composé de 2/3 de terre de jachère prélevée sur le site l'I.N.P.-H.B. et de 1/3 de sable de rivière, a servi à faire les premiers tests d'obtention d'isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* et l'évaluation de leur pouvoir pathogène. La terre stérile des serres, substrat de type industriel, a été utilisée pour la culture des plants de cotonnier en chambre climatisée pour l'évaluation des isolats de *F. oxysporum* obtenus à partir des sols de Côte d'Ivoire. Un troisième type de sols a été utilisé, soit, pour planter du lin et du cotonnier afin d'évaluer leur réceptivité à la fusariose vasculaire, soit pour faire diverses analyses (analyses des éléments physico-chimiques, des flores telluriques, de l'activité biologique). Ces sols ont été prélevés dans diverses régions de production de coton, en Côte d'Ivoire, notamment, à Bouaké et à Béoumi (zone de présence de la fusariose vasculaire du cotonnier), à Daloa et à Korhogo (zone où la fusariose est absente) et enfin, un sol résistant de France a été prélevé à Dijon, pour servir de témoin dans certains de nos tests.

## III- MATERIEL TECHNIQUE

### 3-1 Matériel de laboratoire

#### ➤ Milieux de culture

Ces milieux de cultures sont des substrats classiques d'isolement (Malt et P.D.A. de "Sigma Chemical"), de milieux de conservation (Pomme de terre - Dextrose liquide + silicagel, huile de vaseline, glycérol) et de milieux de caractérisation de mutants (milieu minimum + chlorate de potassium, les milieux nitrate, nitrite et hypoxanthine). Les compositions de ces milieux sont indiquées en annexe I.

#### ➤ Produits et matériel de biologie moléculaire

L'extraction de l'ADN des champignons a nécessité l'usage de divers produits qui sont des solutions d'isopropanol, d'éthanol et de tampons. Les réactions de P.C.R. et de R.F.L.P. ont mis en œuvre des produits qui se résument en : tampons, oligonucléotides, amorces, enzyme polymérase de l'ADN (*Taq* polymérase) fournis par la société Q-BIOgène, Evry-France, des enzymes de restriction (*Alu* I, *Hae* III, *Hinf* I, *Msp* I, *Rsa* I, *ScrF* I, et *Xho* I) de "Appligène" et "Biolabs", deux marqueurs de poids moléculaire, 1kb DNA Ladder et Marker 8 de "MBI Fermentas". D'autres matériels spécifiques sont à noter. Il s'agit d'une salle stérile équipée de lampes U.V., de matériels de micro-centrifugation, de microtubes de type Eppendorf, de congélateurs pour la conservation des produits, de bain -mari, de

thermocycleur, de cuves et générateurs d'électrophorèse, de gels d'agarose (agar "Routine" et agar haute résolution "Nusieve"), d'équipement de photographie de type BioPrint, etc.

➤ Enceintes et matériels de culture

Les laboratoires sont équipés en diverses enceintes de culture qui sont de deux types : d'une part, les étuves à températures variables de marque MEMMECT, des enceintes climatiques à températures, à taux humidité et durées d'éclairage variables, de marque FACIS et d'autres part, des salles climatisées. Les premières ont été utilisées pour la culture des champignons et les secondes pour les différents tests d'inoculation en conditions contrôlées. Les cultures de plants pour les différentes inoculations ont été faites dans des pots individuels de 500 ml en polyéthylène, dans des barquettes en polyéthylène composées de 16 ou 48 alvéoles de 75 ml.

➤ Broyeurs

Le broyage de sol pour les différents tests a été fait, soit avec un mortier et un pilon en porcelaine, soit à l'aide d'un broyeur électrique de type "Planétaire" (marque FRITSCH).

➤ 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 MEMMECT, 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° chore) ou avec de l'hypochlorure de calcium (20 %). L'isolement des champignons et leurs cultures sont faits dans des hôtes à flux laminaire équipées de lampes U.V. (de marque SUPCRIS, FluFrance) et à proximité d'un Bec Bunsen.

➤ Matériel de Centrifugation

Certaines opérations de décantation de suspensions de spores, d'A.D.N. ou de sols ont fait appel à des micro-centrifugeuses.

➤ Matériel d'homogénéisation

L'homogénéisation de solutions ou de suspensions s'est faite avec divers matériels : agitateurs magnétiques (de Assistent – Reamix), homogénéisateur à haute vitesse à cadran de type "ORANGINA, homogénéisateur 3 dimensions de marque TURBULA, enceinte à agitateur de marque INFORS ou simplement à la main.

➤ Verrerie

Pour la culture des champignons, nous avons utilisé diverses verreries 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, etc. Ce matériel est aussi confectionné en d'autres matériaux, le plastique par exemple, et dont on a fait régulièrement usage dans cette étude.

➤ Matériel d'observation

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

### 3-2 Matériels de terrain

Le matériel de terrain se compose, essentiellement, d'outils de prélèvement de sols, de plants de cotonnier, de sacs d'emballage et d'outil d'observation. Il s'agit de pelles, truelles, de sécateurs, de machettes, de sacs en polyéthylène ou en jute, de seaux, de loupe, d'alcool, etc.

## **CHAPITRE II : METHODES**

### **I- ANALYSE DES POPULATIONS DE *FUSARIUM OXYSPORUM***

#### 1-1 Prospection des zones de culture du cotonnier

Une prospection de champs de cotonniers et de jachères, dont le précédent cultural était le cotonnier, a eu lieu dans la zone de culture de cette plante en Côte d'Ivoire. Depuis 1994, les localités indiquées au tableau V et dans la figure 11 ont été visitées pour apprécier, d'une part, la présence de la maladie et d'autre part, pour prélever des échantillons de plants malades et de sols. Lorsque les champs de cotonniers ne présentaient pas de symptômes caractéristiques de la fusariose vasculaire, nous prélevions uniquement le sol. Les plants étaient mis dans des grands sacs en polyéthylène ou en jute. Les sols étaient prélevés à une profondeur maximale de 30 cm, entre les plants de cotonnier, sur billons ou sur sol plat, selon les modes de préparation des terrains de culture. Pour les sols sans fusariose, il est fait, pour chaque parcelle visitée, 10 prélèvements partiels et pour les parcelles à fusariose, ils sont faits à l'endroit où les plants malades sont arrachés. Les sols ont été transportés dans des sacs en polyéthylène de 5 litres. Le prélèvement s'est fait, toujours, à la pelle ou à la truelle et les instruments ont été nettoyés à l'eau, séchés et flambés à l'alcool, en passant d'une parcelle à une autre.

#### 1-2 Isolement et identification

##### 1-2-1 Isolement à partir de cotonniers malades

Des plants de cotonniers malades, c'est-à-dire présentant des brunissements au niveau des vaisseaux de la tige (symptômes caractéristiques de la trachéomycose 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 10 – 15 % et dans 3 bains successifs d'eau distillée stérile. Ils sont ensuite déposés aseptiquement sur milieu malt acide (malt : 10 g, agar : 15g, eau déminéralisée : 1000 ml, autoclavage à 121°C pendant 15 min, puis apport de 250 mg/l d'acide citrique dans le milieu en surfusion avant le coulage des boîtes de Pétri) à raison de 3 à 5 fragments /boîte de  $\phi$  90 mm). Les boîtes de Pétri sont placées en incubation à 25°C à l'obscurité dans une étuve.

Tableau V : Localités prospectées

Régions géographiques	Localités	Echantillons
<b>Région Centre</b>	Station C.N.R.A. Bouaké	cotonniers GL7, N3BURK, sols
	Station SO.FA.CO. Brobo	sols de jachère
<b>Région Centre</b> (Zone Nord-Ouest du Lac de Kossou)	M.P. Mankono	sols
	M.P. Sahrala	sols
	P.O. Tieningboué	cotonniers GL7, sols
	M.P. Tiéningboué	cotonniers ISA 205K, ISA 319A, sols
<b>Région Centre</b> (Zone Ouest du Lac de Kossou)	M.P. Golipra (Kounahiri)	cotonniers ISA 319A, sols
<b>Région Centre</b> (Zone Est du Lac de Kossou)	M.P. Béoumi	cotonniers ISA 205K, sols
	M.P. Kokoflé-bac / Foutounou (Béoumi)	cotonniers ISA 319A, sols
	M.P. Bodokro (Béoumi)	cotonniers ISA 205K, sols
<b>Région Centre - Ouest</b>	Daloa (M.P. Tchéblégué, Bribouo, Gbétitapia)	sols
<b>Région Nord</b>	M.P. Sinématiali, Nongotchénékaha	sols
	M.P. Korhogo, Mbengué, Dokaha	sols
	M.P. Boundiali, Niofoin, Kasséré	sols

MP : Milieu paysan

PO : Poste d'observation

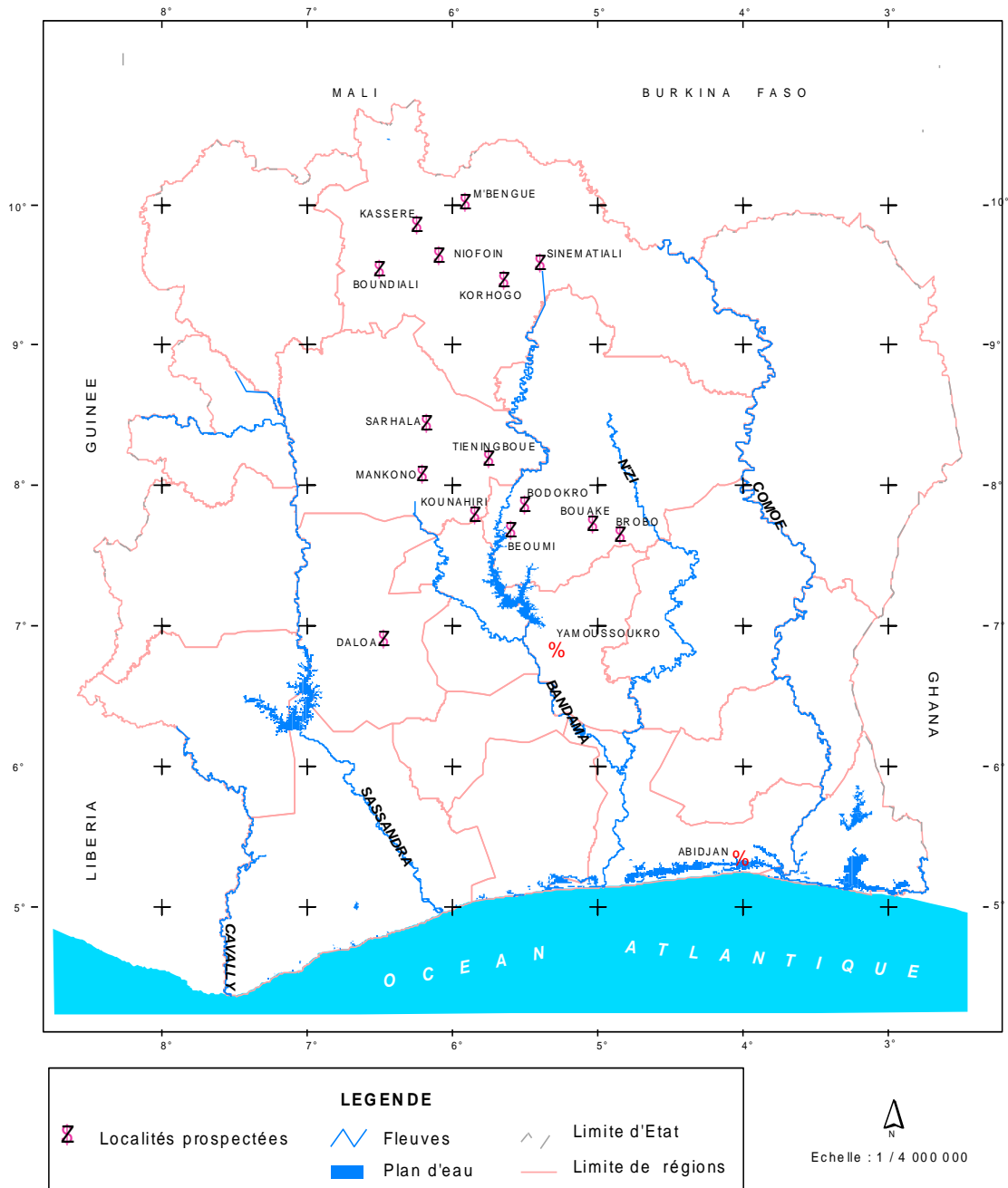


Figure 11 : Zones cotonnières prospectées dans le cadre de l'étude



### 1-2-2 Isolement à partir du sol

Les échantillons de sols subissent un traitement après leur prélèvement au champ. En effet, ils sont séchés à l'air libre ou à l'étuve à 25 °C puis broyés au mortier et tamisés (maille de 2 mm).

La technique d'isolement utilisée est celle dite des suspensions - dilutions. Dans cette technique, on dispose de fioles d'Erlenmeyer (en général 6) contenant 90 ml d'eau distillée stérile. Dans la première fiole, on met 10g de sol sec, broyé et tamisé. Cette solution (la suspension mère) a une concentration de  $10^{-1}$ . Après homogénéisation à l'aide d'un agitateur magnétique pendant environ 10 mn, on prélève 10 ml de cette suspension qu'on ajoute au 90 ml d'eau de la deuxième fiole qui aura une concentration de  $10^{-2}$ . L'opération est répétée jusqu'à la dernière fiole qui aura  $10^{-6}$  comme concentration. De chaque dilution, on prélèvera 1 ml de la suspension homogénéisée qu'on mettra dans une boîte de pétri. On coule ensuite le milieu malt acide maintenu en surfusion entre 40 et 45 °C dans la boîte. Un mouvement horizontal en forme de "8" ou "∞", sur la paillasse de la hotte, permet d'obtenir une bonne répartition de la suspension de sol dans le milieu de culture.

Après 3 à 4 jours d'incubation à 25 °C, à l'obscurité, dans une étuve, les colonies qui apparaissent sont identifiées et purifiées.

### 1-2-3 Identification

Nous ne nous sommes intéressés qu'à *F. oxysporum*. Toutes les colonies susceptibles de correspondre à *F. oxysporum*, originaires d'extraits de sol ou de fragments de plantes, sont repiquées sur milieu P.D.A. (Potato Dextrose Agar, 39g/l ; cf annexe I). Ce milieu est classiquement utilisé pour l'identification des champignons. Les clés de détermination utilisent, en général, les critères morphologiques présentés par les champignons sur ce milieu pour permettre leur identification (Messiaen et Cassini, 1968 ; Booth, 1977 ; Nelson *et al.*, 1983 ; Burgess *et al.*, 1994). Les principaux caractères d'identification retenus sont :

- caractères culturels (couleur, pigmentation, aspect du mycélium, etc),
- présence de macroconidies, de microconidies abondantes en fausse tête,
- présence de chlamydospores terminales ou intercalaires,
- conidiophore monophialide,
- phialide courte.

La détermination de la forme spéciale *vasinfectum* est faite en utilisant la technique dite de piégeage par plante vivante en l'occurrence le cotonnier. Elle permet de révéler les symptômes caractéristiques de la maladie après inoculation de l'hôte spécifique par les isolats du champignon (vérification du postulat de Koch). En effet, une suspension de conidies est d'abord obtenue à partir d'un milieu P.D.A. et titrée à  $10^6$  spores par ml et parallèlement à la culture des champignons à tester, des plants de cotonniers sensibles sont préparés pour être inoculés.

### ➤ Préparation de l'inoculum

Les champignons ont été mis en culture sur milieu P.D.A., pendant environ 10 jours dans des boîtes de 9 cm de diamètre. On verse, progressivement, sur le mycélium 20 ml d'eau distillée stérile pendant qu'on racle délicatement la surface de la culture à l'aide d'une pipette pasteur à bout incurvé pour obtenir une suspension contenant aussi bien des conidies que des fragments de mycélium. Cette suspension est filtrée sur une toile de mousseline stérile. Le filtrat contenant des conidies est titré à l'aide d'un hématimètre de Malassez et ajusté par dilution à  $10^6$  spores /ml.

### ➤ Préparation des plants de cotonnier

Les graines de coton de variétés sensibles à la fusariose vasculaire (variétés GL7 et ISA205K) sont d'abord désinfectées à l'hypochlorite de calcium et prégermées, ensuite, à 25 °C dans une étuve pendant 48 heures. Les graines germées sont triées pour être semées individuellement dans une terre stérilisée (composée de 2/3 de terre de jachère et 1/3 de sable). Cette terre est répartie, avant semi, dans des pots de 500 ml.

La croissance des plants est conduite pendant deux semaines dans une salle vitrée sur deux de ses faces dont la température moyenne est comprise entre 25 et 30 °C et une humidité entre 70 et 80 %.

### ➤ Réalisation de l'inoculation

L'inoculum titré à  $10^6$  spores/ml est mis dans un becher pour chaque isolat à tester. Les plants de cotonnier âgés de deux semaines sont arrachés délicatement, rincés dans de l'eau stérile, trempés ensuite pendant 20 mn environ dans la suspension conidienne. Après trempage, ils sont replantés dans les pots. Le dispositif est en cinq plants - pièges par isolat et un témoin de cinq plants trempés, dans les mêmes conditions, dans de l'eau stérile.

### ➤ Evaluation

Il s'agit, au bout de 14 jours, d'observer les symptômes de la fusariose qui sont de deux types :

- symptômes externes (chloroses, nécroses foliaires et rabougrissement des tiges) ;
- symptômes internes (brunissement des vaisseaux) caractéristiques de la trachéomychose du cotonnier, visibles seulement après dissection des tiges.

Des fragments de tiges brunis sont enfin remis en culture sur malt ou P.D.A. pour vérifier s'il s'agit du même champignon isolé et inoculé au départ. Cette vérification est faite par simple comparaison des caractères morphologiques (culturels et microscopiques).

#### 1-2-4 Isolement monospore

Pour la mise en collection des souches 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 "monospore" (Rapilly, 1968). La technique de dilution a été utilisée à cet effet.

On prépare d'abord des tubes contenant 900 µl d'eau distillée stérile à raison de 3 tubes par isolat. On met 5 ml d'eau distillée stérile à la surface de chaque culture préalablement obtenue sur malt dans des boîtes de 5 cm de diamètre. 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 verre fritté. Le filtrat est ensuite récupéré dans des tubes droits à bouchon. On fait, à partir de cette suspension conidienne, des dilutions successives au dixième jusqu'à  $10^{-3}$ . De chaque dilution, on prélève 100 µl de suspension homogénéisée qu'on met sur milieu malt dans des boîtes 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.

Dix sept isolats (tableau III) ont ainsi été purifiés et monospores. Ces isolats, originaires de Côte d'Ivoire, sont mis en collection par repiquage sur P.D.A., par conservation à basse température dans de l'huile de vaseline stérile (à  $-4^{\circ}\text{C}$ ), dans du silicagel additionné de P.D.B. (à  $-4^{\circ}\text{C}$ ) et également congelés dans du glycerol  $\frac{1}{2}$  à  $-80^{\circ}\text{C}$ . En outre, pour évaluer la diversité des isolats de Côte d'Ivoire en relation avec celle des souches isolées à travers le monde, nous avons inclus, dans notre étude, des souches provenant de collections internationales. Ces souches ont été obtenues auprès de chercheurs et de collections en Australie, aux Etats-Unis d'Amérique et en France (tableau IV)

#### 1-3 Pouvoir pathogène des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* de Côte d'Ivoire

Le test du pouvoir pathogène a concerné 17 isolats monospores et purifiés du champignon (tableau III). La plante hôte est constituée par une variété sensible de cotonnier (la variété Glandless GL7). Le test utilisé est celui décrit par Follin cité par Assigbetsé (1988). Les mêmes opérations de préparation d'inoculum et de jeunes plants de cotonnier ont été reconduites et dans les mêmes conditions que dans le test d'identification déjà décrit (paragraphe 1-2-3). Ici, le dispositif est conduit avec 8 plants de cotonnier GL7 et un témoin de 8 plantules trempées dans de l'eau stérile avant replantation.

Après deux semaines de conduite des plants, le pouvoir pathogène des isolats inoculés est évalué sur la base de deux critères qui sont le flétrissement et le rabougrissement donnant lieu à des calculs d'indices qui se définissent comme suit (Assigbetsé, 1988) :

➤ Indice de flétrissement

Il est calculé sur l'ensemble des cotonniers inoculés en tenant compte de la gravité des symptômes sur chaque feuille. Il est obtenu à partir de la formule suivante :

$$\text{W.I.} = (30 \text{ N2} + 50 \text{ N3} + 100 \text{ N4}) / (\text{N1} + \text{N2} + \text{N3} + \text{N4})$$

avec :

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 du 1/3 de limbe atteint) ;

N4 = nombre de feuilles nécrosées ou mortes.

W.I. ("Wilt Index") ou I.F. (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. Sur les variétés résistantes ou avec des souches peu pathogènes, elle tend vers zéro.

➤ Indice de rabougrissement

L'indice de rabougrissement (I.R.) est calculé pour montrer d'éventuels déficits d'accroissement des cotonniers infestés, par rapport aux témoins non inoculés. Il est obtenu par la formule suivante :

$$\text{I.R.} = (\text{M} - \text{X}) * 100 / \text{M}$$

avec M = accroissement moyen du premier entre-noeud des témoins et X = accroissement du premier entre-noeud des plantes inoculées.

A la fin de chaque série d'observation des symptômes extérieurs, les tiges des plantes sont disséquées afin d'observer la présence d'éventuel brunissement au niveau des vaisseaux du bois.

Une transformation de rang a été réalisée sur les 18 individus (17 isolats et 1 témoin), notamment pour les indices de flétrissement (W.I.) et de rabougrissement (I.R.). Le principe repose sur le remplacement des valeurs originales d'une variable par leur rang dans la séquence ordonnée des observations selon les valeurs prises par cette même variable. La transformation de rang permet ainsi de réaliser un test qui est presque l'équivalent d'un test

non paramétrique. Par exemple, le fait de faire une AN.O.VA. sur les rangs des observations pour une variable bien précise est à peu près l'équivalent de faire le test non paramétrique correspondant (en l'occurrence celui de Kruskal-Wallis pour un plan entièrement aléatoire). La variable de classement générée par le test permet de constituer des groupes et de percevoir le pourcentage de contribution de chaque indice dans la constitution d'un groupe d'isolats donné.

#### 1-4 Caractérisation phénotypique et génotypique des isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*

##### 1-4-1 Caractérisation phénotypique par les groupes de compatibilité végétative

###### 1-4-1-1 Principe et objectifs

La compatibilité végétative détermine l'aptitude de deux individus fongiques à produire des hyphes mycéliens l'un vers l'autre. Au contact, les hyphes s'anastomosent et fusionnent forment un hétérocaryon (article commun aux deux individus). Les deux individus sont donc végétativement compatibles. Si l'anastomose ne se réalise pas (absence de fusion voire évitement des hyphes mycéliens), les individus sont considérés comme non compatibles. Les individus compatibles constituent un groupe de compatibilité végétative ou VCG (Vegetative Compatibility Group). Deux individus compatibles possèdent les mêmes allèles sur les loci des gènes *vic* (ou *het*) gouvernant la compatibilité. Ainsi deux individus originaires d'une même souche sont végétativement compatibles et l'hypothèse d'une origine clonale des individus appartenant au même VCG a été avancée par de nombreux chercheurs. Deux individus incompatibles appartiennent à des VCG différents. Un individu peut être le seul membre de son VCG tant qu'un autre individu compatible n'a pas été révélé. La détermination de l'appartenance d'isolats à des VCG répertoriés ou nouveaux est un critère de caractérisation des *F. oxysporum*.

Cette méthode de caractérisation a, initialement, été proposée pour déterminer la compatibilité sexuelle de champignons possédant une phase sexuée dans leur cycle (*Neurospora crassa*, *Gibberella fujikuroi*). Les travaux de Puhalla (1985) et de Leslie (1991) ont permis de l'appliquer pour caractériser également la compatibilité végétative des formes asexuées, incluant *F. oxysporum*. En effet, l'observation de spores sexuées et de fructifications correspondantes après confrontation d'isolats permet d'établir leur compatibilité sexuelle. Ces tests nécessitent la mise au point préalable de milieux de culture adaptés et standardisés (Leslie, 1991). Ils permettent de délimiter des espèces biologiques ou des types sexuels qui sont par ailleurs très similaires et difficiles à différencier au niveau morphologique. C'est le cas de la section *Liseola* du genre *Fusarium* où la plupart des espèces ont une forme sexuée connue correspondant à *Gibberella fujikuroi* ou à *Nectria* spp (Leslie, 1995). La caractérisation de 7 types sexuels différents dans ce complexe d'espèces a permis

de soulever des problèmes liés à la taxonomie morphologique. Le meilleur exemple concerne des souches appartenant à une même espèce morphologique, *F. moniliforme*, mais correspondant à deux types sexuels différents qui sont donc génétiquement isolés et considérés comme deux espèces biologiques différents. Reposant sur les caractéristiques génétiques intrinsèques des souches, la compatibilité sexuelle est très importante en taxonomie. Cependant, un tel outil reste limité aux champignons qui ont une reproduction sexuée.

La compatibilité végétative est également utilisée pour caractériser d'autres champignons que les *Fusarium*. Les groupes d'anastomose permettent de structurer la diversité infra-spécifique des champignons tels que *Rhizoctonia solani*, considéré comme un complexe d'espèces (Cubeta et Vilgalys, 1997). Au sein du genre *Fusarium*, les souches d'une même espèce peuvent être comparées et classées en groupes de compatibilité végétative (VCG). La numérotation systématique ("Systematic numbering") des VCG relève d'un accord qui assigne un code chiffré à un VCG donné (Kistler *et al.*, 1998). Ce numéro suit le numéro qui a été attribué, là encore par convention internationale, à chaque forme spéciale (<http://www.cdl.umn.edu/scab/vcg.html>). Dans le cas de la forme spéciale *vasinfectum*, le code chiffré est 011. Ainsi les groupes de compatibilité végétative des FOV seront 011... suivi du numéro d'ordre chronologique de détection. A ce jour, au moins 12 VCG sont identifiés chez FOV. Leurs codes chiffrés, selon Katan et Di Primo (1999), varient donc de 0110 à 0119 et comprennent 01111 et 01112 (il n'y aurait pas de VCG référencé 01110).

Depuis 1985, cet outil a été largement appliqué à l'espèce *Fusarium oxysporum*. En effet, Puhalla (1985) a développé une méthode simple de détermination des VCG basée sur des tests de complémentation de mutants auxotrophes incapables d'utiliser des nitrates comme sources d'azote (mutants *nit* A et B). Leur croissance est rase sur milieu minimum, mais s'ils complémentent, ils forment un hétérocaryon dont la croissance redevient aérienne. Les souches sont alors assignées à un même VCG. Les mutants *nit* sont obtenus en cultivant les souches à tester sur un milieu contenant un agent mutagène, le chlorate de potassium. Structuellement, le chlorate est proche du nitrate. Le champignon le réduit en chlorite qui est toxique. Les articles mycéliens présentant une mutation pour l'assimilation du nitrate ne réduisent pas le chlorate et donc croissent. La méthodologie a été affinée et permet désormais d'obtenir des mutants *nit* dont on peut identifier l'origine de la mutation et savoir ainsi quelle étape dans l'assimilation de l'azote ( $\text{NO}_3 \Rightarrow \text{R-NH}_2$ ) est affectée. Pour ce faire, un milieu synthétique minimum ne contenant qu'une seule source d'azote disponible pour le mutant ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NH}_4$ , Hypoxanthine ou Acide urique) va permettre au mutant d'exprimer une croissance rase (la source d'azote fournie ne complémente pas la mutation) ou une croissance aérienne, correspondant au phénotype normal de la souche sauvage. Les différents mutants obtenus et identifiés permettent alors de réaliser de nombreuses confrontations entre isolats ou souches pour tester effectivement leur compatibilité végétative

L'espèce *F. oxysporum* étant supposée totalement asexuée, les VCG représentent une unité de population intéressante. En effet, de nombreuses études ont montré que les VCG

rassemblent des souches ayant une origine clonale et donc génétiquement proches (Kistler, 1997). Souvent utilisés pour rechercher une corrélation avec la spécificité d'hôte, les VCG ont donc été étudiés dans de multiples formes spéciales de *F. oxysporum*. Lorsqu'une forme spéciale est constituée d'un seul VCG, celui-ci peut servir d'outil d'identification. C'est le cas de *F. oxysporum* f.sp. *albedinis*, qui rassemble des souches ayant toutes la même origine clonale (Tantaoui *et al.*, 1996). Mais la plupart des formes spéciales sont représentées par deux VCG ou plus (Kistler *et al.*, 1998).

Même si les VCG ne peuvent réellement servir d'outil taxonomique, ils ont un intérêt certain pour analyser la structure des populations de *F. oxysporum*. Cependant, les regroupements en VCG présentent des limites d'ordre pratique telles que la difficulté d'obtenir des mutants *nit* pour certaines souches. De plus, il existe des souches auto-incompatibles, c'est-à-dire que différents mutants de la même souche ne sont pas capables de compléter (Jacobson et Gordon, 1988). Enfin en termes de VCG, il est impossible d'analyser les relations entre les différents groupes, deux souches ne pouvant être qu'identiques ou différentes. C'est pourquoi les études de populations de *F. oxysporum* combinent généralement la détermination des VCG à l'utilisation d'autres méthodes de caractérisation (Kistler, 1997).

#### 1-4-1-2 Méthode

Pour chacun des isolats de la collection, des fragments de culture sont déposés sur milieu K.P.S. (K.P.S. = P.D.A. + chlorate de potassium, 15g/l ou 30g/l selon la sensibilité à cet agent mutagène exprimée par les isolats testés) et incubés à l'étuve à 25 °C à l'obscurité. Après environ 7 jours, des secteurs présentant une croissance rase du champignon apparaissent sur ce milieu qui révèle les mutants nitrates. Un repiquage est réalisé à partir de ces secteurs sur milieu minimum + nitrate (MM = NaNO<sub>3</sub> : 2g, MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O : 0,5 g, KCl : 0,5 g, glucose : 20g, pH à 5,5 et autoclavage pendant 30 min à 110°C, enfin ajout avant l'emploi de 1 ml d'une solution de FeSO<sub>4</sub>,7H<sub>2</sub>O à 1% ). A partir de cette culture sur M.M. + nitrate (additionné pour s'assurer que l'on a bien affaire à des mutants incapables de l'utiliser), des repiquages sont réalisés sur des boîtes de milieu M.M. contenant trois sources d'azote différentes. Ce sont les milieux nitrate, nitrite et hypoxanthine (annexe I). Les milieux M.M. + acide urique et ammonium initialement préconisés s'avèrent inutiles pour identifier ce type de mutation, la croissance étant toujours aérienne puisque le substrat azoté final est apporté dans ces milieux (Gautheron, communication personnelle). Les cultures sont incubées, comme précédemment à 25°C, à l'obscurité.

Trois groupes de mutants sont obtenus en fonction de leur comportement sur les trois milieux (tableau VI). Si la culture est rase sur nitrate et aérienne sur nitrite et hypoxanthine, la souche est nommée *nit1*. Si elle est rase sur nitrite et nitrate et aérienne sur hypoxanthine, elle est *nit3*. Une souche est nommée *nit M* si elle est rase sur hypoxanthine et nitrate puis aérienne sur nitrite.

Tableau VI : Caractéristiques des mutants selon les sources d'azote utilisées

	NO <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	NH <sub>4</sub>	Hy	Type de mutation
<b><i>nit 1</i></b>	-	+	+	+	Gène de synthèse de la nitrate réductase
<b><i>nit 3</i></b>	-	-	+	+	Gène de régulation positive de l'assimilation
<b><i>nit M</i></b>	-	+	+	-	Gène de synthèse d'un cofacteur à Molybdène (Mo)



Il n'est pas toujours facile de révéler les mutants Nitrates en ajoutant du chlorate dans le milieu M.M. Il est donc nécessaire de réaliser plusieurs centaines de repiquages pour chaque isolat afin d'obtenir au moins un mutant *nit 1*, *nit M* et éventuellement *nit 3* stables pour chacun d'eux.

Quand on a obtenu et identifié les différents mutants, on croise les *nit1* de chacun des isolats avec les *nit M* de tous les autres isolats. Les confrontations sont donc réalisées en double (*nit 1* de l'isolat A avec le *nit M* de l'isolat B, et *nit 1* de l'isolat B avec le *nit M* de l'isolat A). Les croisements avec les *nit3* sont réalisés par défaut, car le résultat de la confrontation *nit 1 – nit 3* est quelquefois douteux. On préférera donc des croisements *nit 1 – nit M*. Quand plusieurs mutants stables et identifiés, issus d'un isolat ont été obtenus, ces mutants ont été introduits dans le plan de confrontation. Ainsi, au moins, 17 x 17 x 2 confrontations ont été réalisées pour déterminer la compatibilité végétative des isolats de FOV de la collection ivoirienne. En outre, pour évaluer la diversité des isolats de Cote d'Ivoire, en relation avec celle des souches isolées dans différentes parties du monde, nous avons inclus, dans notre étude, des souches provenant de collections internationales. Ces souches sont, pour la plupart, des représentants (généralement appelées des "testeurs") des VCG déjà identifiés et répertoriés (International Systematic Numbering) au sein de la forme spéciale *vasinfectum*. Nous avons obtenus, ainsi, des mutants *nit* de ces souches et nous les avons confrontés aux mutants de nos isolats afin d'assigner, éventuellement, ces derniers aux VCG officiellement reconnus.

Pratiquement, sur une même boîte de pétri contenant du milieu minimum +nitrate, on place face à face les deux explants de mutants *nit* des isolats à tester. Si les isolats sont complémentaires, ils forment au point ou à la ligne de rencontre un hétérocaryon visible par son aspect aérien (annexe II). Sinon, la ligne de rencontre demeure rase comme sur tout le reste de la surface de la boîte.

Deux isolats complémentaires appartiennent ainsi à un même groupe de compatibilité végétative (VCG).

## 1-4-2 Caractérisation génotypique

### 1-4-2-1 Analyse des types IGS

#### a/ Principe et objectifs

La classification des champignons était initialement basée sur des critères morphologiques. Par la suite, de nombreuses autres méthodes ont été développées tant pour réviser ou affiner cette classification que pour disposer d'outils rapides et discriminants permettant de différencier des genres, des espèces, mais également des souches à l'intérieur d'une même espèce fongique. Au sein du genre *Fusarium*, la difficulté d'identification des espèces, a motivé les recherches de méthodes alternatives. Par ailleurs, au sein de l'espèce *F.*

*oxysporum*, des souches qui ont toutes des aspects morphologiques similaires peuvent avoir des rôles écologiques différents ; or pour pouvoir les étudier, il est au préalable nécessaire de pouvoir les différencier (Edel, 1999).

On citera, entre autres méthodes discriminatoires, les VCG, la caractérisation phénotypique basée sur des propriétés métaboliques, des techniques biochimiques, des techniques sérologiques et enfin la caractérisation génotypique.

La recherche de critères stables pour l'identification et la caractérisation des micro-organismes a conduit à l'étude, non plus, de l'expression des gènes, mais du génome lui-même ou d'une partie de celui-ci (Edel, 1999). L'apparition de techniques moléculaires d'analyse de l'ADN ou de l'ARN a permis le développement de méthodes de systématique moléculaire et de caractérisation génotypique très performantes. Dans les années 1990, les méthodes moléculaires ont encore progressé et sont devenues plus facilement accessibles grâce au développement de la réaction de polymérisation en chaîne de l'ADN (P.C.R. : polymerase chain reaction). L'analyse, dans le cas d'espèce, va être basée sur l'ADN ribosomique. Les ARNr (ARN ribosomiques) et l'ADN qui code pour ces ARN sont les molécules les plus couramment utilisées dans les études taxonomiques. Elles représentent, en effet, l'avantage d'exister dans toutes les cellules vivantes où elles correspondent à une fonction importante dans la synthèse des protéines en tant que constituants majeurs des ribosomes. On suppose donc que leur évolution reflète celui de l'organisme qui les contient. De plus, l'ADNr est constitué d'une succession de régions codantes qui évoluent à des vitesses différentes. Ces régions peuvent donc être relativement conservées entre les organismes ou à l'inverse beaucoup plus variables, et révèlent donc du polymorphisme à différents niveaux taxonomiques. Enfin, ces régions sont présentes en grand nombre de copies dans le génome, ce qui augmente la sensibilité des méthodes basées sur leur analyse (Edel, 1999). L'ADNr nucléaire est organisé en unités répétées en tandem de plusieurs dizaines voire plusieurs centaines de fois (Garber *et al.*, 1988). Chaque unité, constituée d'environ 10 kb, comprend trois gènes codant pour les ARNr 18S, 5,8S et 28S. Dans chaque unité, les gènes sont séparés par les régions transcrites, mais non codantes, les ITS1 et ITS2 (internal transcribed spacer). Deux unités sont séparées par une région non codante, l'IGS (intergenic spacer). Le quatrième gène codant pour l'ARNr 5S, est situé, selon les champignons, dans cette unité ribosomique ou ailleurs dans le génome (Garber *et al.*, 1988). Lorsqu'il est situé dans l'unité d'ADNr, il sépare l'IGS en IGS1 et IGS2 (figure 12).

Les multiples copies de l'unité ribosomique existant dans un même génome n'évoluent pas indépendamment ; elles sont généralement homogénéisées par un processus dit d'évolution concertée (Hillis et Dixon, 1991).

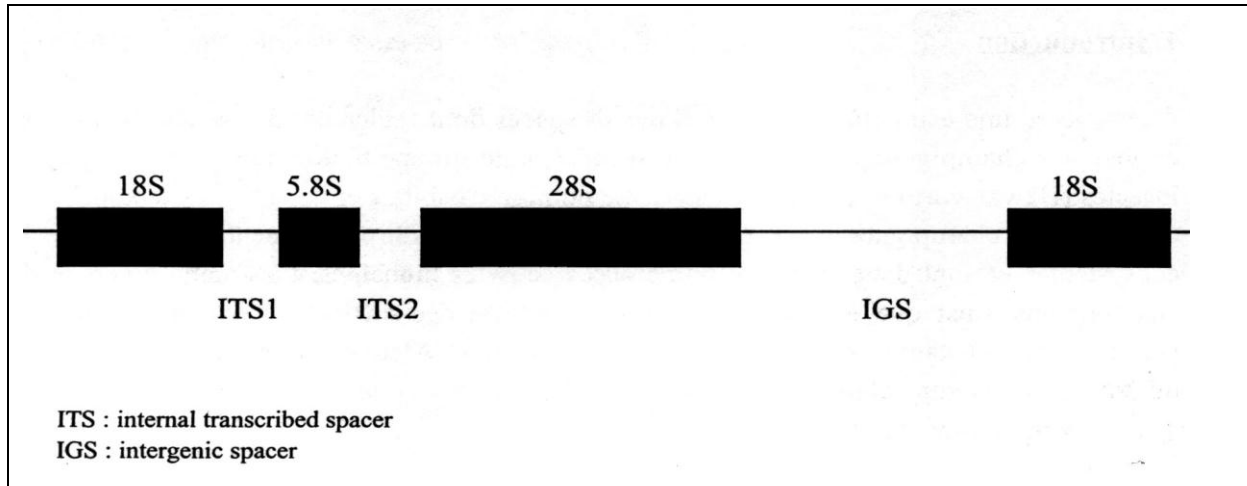


Figure 12 : Représentation schématique d'une unité d'ADN ribosomique de champignon.  
(Edel, 1999).

Deux techniques moléculaires sont principalement utilisées pour comparer une région déterminée du génome entre différents organismes et révéler du polymorphisme : le séquençage et la digestion à l'aide d'enzymes de restriction (analyse R.F.L.P. : Restriction Fragment Length Polymorphism). Alors que la première est plus précise, la deuxième est en général plus rapide et moins coûteuse. C'est cette dernière que nous utilisons dans notre étude. Préalablement à l'étape R.F.L.P., toutefois, une P.C.R. est nécessaire pour obtenir une quantité suffisante d'ADN de la région que l'on veut analyser.

La P.C.R., d'après Saiki *et al.* (1985), Mulis *et al.* (1986), permet l'amplification sélective, *in vitro*, de séquences d'acides nucléiques. Cette méthode enzymatique repose sur l'utilisation d'une ADN polymérase thermostable isolée de *Thermus aquaticus* appelée *Taq* polymérase. La méthode standard nécessite un ADN cible contenant la région à amplifier et deux amorces oligonucléotidiques complémentaires des extrémités 5' de cette région.

La procédure consiste à répéter trois étapes qui sont conditionnées par la température élevée (95 °C environ), l'hybridation spécifique des amorces oligonucléotidiques sur leurs zones complémentaires (à 50 - 60 °C), et enfin l'extension par *Taq* polymérase à partir des amorces des brins complémentaires à la matrice (à 72 °C). Les trois étapes, généralement de 30 s à 2 mn chacune, constituent un cycle qui est répété 30 à 40 fois. Dans chaque cycle, les brins d'ADN nouvellement synthétisés sont séparés des brins d'origine et servent à nouveau de matrice dans les étapes d'hybridation et d'extension ; ce qui permet une amplification exponentielle du fragment ciblé.

L'originalité de la P.C.R. repose sur l'utilisation d'une enzyme thermostable qui reste donc active après chaque étape de dénaturation, ainsi que d'un thermocycleur, appareil programmable pour chauffer et refroidir rapidement, ce qui permet d'automatiser l'amplification spécifique d'un fragment d'ADN dans un seul tube contenant dès le départ de la réaction l'ADN, les amorces, la polymérase et les désoxynucléotides triphosphates (dNTP) dans un tampon adéquat.

Pour caractériser chacun de nos isolats, et les souches de collections internationales, l'ADN sera extrait. Une P.C.R. permettra d'amplifier spécifiquement l'ADNr, des aliquotes de cet ADNr seront soumises à des digestions par 7 enzymes de restriction. Les profils de restriction générés par chacune de ces enzymes seront analysés et la combinaison des 7 profils obtenus permettra de définir le type IGS auquel appartient l'isolat. Pour comparer la diversité des isolats ivoiriens à la diversité des souches africaines et à celle des souches mondiales, une analyse de variance moléculaire (A.MO.VA.) sera réalisée. Cette méthode, analogue à une analyse de variance en statistique élémentaire, mesure la variation intra-groupe et inter-groupe.

La conduite de cette étude a nécessité l'usage de divers protocoles établis à l'I.N.R.A. de Dijon par Edel (1998a, 1998b, 1999) et Edel *et al.* (1995, 1996). Pour chacune des étapes, des tampons et diverses solutions sont nécessaires. Leur composition est donnée en préalable à la description du protocole utilisé.

## b/ Méthode

### b1 / Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN de *Fusarium* est faite selon la méthode dite de minipréparation (miniprep) énoncée ci-après.

#### ➤ Solutions et tampons

**Tampon de lyse :** 50 mM Tris-HCl pH 7,5  
50 mM E.D.T.A.  
3 % S.D.S.

**Tampon TE** Tris-HCl 10 mM pH 8  
E.D.T.A. 1 mM

#### **Acétate d'ammonium 7,5 M**

Ces trois solutions sont autoclavées à 120 °C pendant 30 min ou à 110 °C pendant 45 min et conservées à 4 °C. Elles sont ensuite utilisées dans des conditions non stériles.

**Isopropanol :** conservé à température ambiante

**Ethanol à 70 % :** conservé à - 20 °C.

#### ➤ Lyse

Les 17 isolats de Fov de Côte d'Ivoire et les 29 souches, des collections venues d'ailleurs, ont été mis en culture sur milieu P.D.A., à 25 °C, à l'obscurité, pendant 6 jours dans des boîtes de pétri de 55 mm de diamètre.

Pour chaque souche, on dépose 1 ml de tampon de lyse dans la boîte de pétri. La surface de la culture est ensuite grattée à l'aide d'une spatule plate. Dans un microtube de 1,5 ml, on recupère 500 µl de mélange mycélium-spores-tampon de lyse. Après chaque souche, la spatule est essuyée avec un mouchoir en papier puis flambée. Lorsque les mélanges mycélium - spores - tampon de lyse ont été prélevés pour toutes les souches, on agite les microtubes au vortex. Ces tubes sont, ensuite, incubés au bain - marie à 65 °C pendant 30 min et agités à nouveau au vortex. Après centrifugation à 12.000 g pendant 10 min à 4 °C, la phase supérieure contenant l'ADN (environ 400 µl) est prélevée et transférée dans un nouveau microtube. Pour cela, les microtubes sont sortis de la centrifugeuse par vagues successives de 10 tubes au maximum.

#### ➤ Précipitation des ADN

Aux 400 µl de surnageant, on ajoute 200 µl d'acétate d'ammonium 7,5 M et 600 µl d'isopropanol pour précipiter l'ADN. On retourne, ensuite, les tubes à la main pour les

mélanger. Suit à nouveau une centrifugation à 12.000 g pendant 15 mn à 4 °C pour culotter l'ADN précipité. Les surnageants sont éliminés en retournant les microtubes une seule fois. On ajoute ensuite 300 µl d'éthanol à 70 % (conservé à - 20 °C) pour rincer l'ADN précipité puis les tubes sont de nouveau centrifugés à 12.000 g pendant 5 mn à 4 °C. On élimine encore les surnageants en retournant chaque microtube une seule fois. Ils sont laissés à l'envers sur du papier absorbant pour un égouttage complet. Après, on les retourne sur un portoir pour laisser sécher les culots d'ADN à température ambiante ou à 37 °C. Une alternative, à ce mode de séchage, a été de sécher les microtubes à l'aide d'un coton-tige, à condition de ne pas toucher le culot d'ADN. Lorsque les culots sont secs, on ajoute 100 µl de tampon T.E. pour resuspendre le culot. Les suspensions d'ADN, contenues dans des microtubes à vis, sont stockées à 4 °C.

## b2 / Préparation de la réaction de P.C.R.

La concentration des différents réactifs de la réaction correspond aux conditions standard d'une réaction d'amplification par P.C.R. (tableau VII).

Avant de démarrer les opérations, on prépare une fiche de protocole comportant tous les volumes à prélever et les noms des souches ou ADN à amplifier, en leur attribuant un numéro. On prévoit une réaction supplémentaire correspondant au témoin négatif qui contiendra tous les composants de la réaction de P.C.R. sauf l'ADN qui sera remplacé par de l'eau et ne devra donc révéler aucune amplification. Un témoin positif est également prévu. Dans ce cas, il s'agit d'un ADN qui a déjà été amplifié et dont on sait que l'amplification fonctionne.

Pour n réactions de P.C.R. comprenant les témoins, on calcule les volumes à prélever pour préparer un mix (mélange) contenant (n+1) fois les volumes nécessaires de chaque réactif de la réaction.

Pour les 17 souches, nous avons préparé deux mix A et B contenant chacun 11 + 1 (donc 12) volumes.

Mix A : n° 1 à n° 11 comportant les souches 1 à 10 plus le "0 DNA".

Mix B : n° 12 à n° 22 comportant les souches 11 à 17 plus 3 Fo47 et un "0 DNA".

Les conditions de volume pour un Mix X 12 sont indiquées dans le tableau VIII.

Les séquences des amorces oligonucléotidiques utilisées sont :

- PNFO : 5'-CCCGCCTGGCTGCGTCCGACTC-3' (22 bases) ;

- PN22 : 5'-CAAGCATATGACTACTGGC-3' (19 bases).

Tableau VII : Conditions standard d'une réaction d'amplification par P.C.R. et concentration des différents composants de la réaction.

<b>ADN</b>	<b>10 - 100 ng</b>
Tampon réactionnel	10 % du volume final (tampon 10 X fourni avec la Taq polymérase)
MgCl <sub>2</sub>	0,5 à 5 mM (généralement 1,5mM)
dNTP	20 à 200 µM de dATP, dCTP, dGTP et dTTP
Amorce 1	0,1 à 0,5 µM
Amorce 2	0,1 à 0,5 µM
Taq polymérase	0,5 à 5 unités
H <sub>2</sub> O	compléter au volume final
Volume final	25 à 100 µl

Tableau VIII : Conditions P.C.R. PNFO - PN22 (IGS)

	<b>1S</b>	<b>Mix X 12</b>	<b>Conditions finales</b>
H <sub>2</sub> O	40,6 µl	487,2	
Tampon (10 X)	5 µl	60	
BSA (20mg/ml stock)			0,1 mg/ml BSA
MgCl <sub>2</sub> (25 mM stock)			1,5 mM MgCl <sub>2</sub>
dNTP (2,5 mM stock)	2 µl	24	100 µM
PNFO (10 µM stock)	0,5 µl	6	0,1 µM
PN22 (10 µM stock)	0,5 µl	6	0,1 µM
Taq Polymérase (5 U/µl)	0,4 µl	4,8	2 U
ADN	1 µl		
Volume final	50 µl		

L'ensemble des opérations se déroule dans une pièce dédiée à la préparation des échantillons pour P.C.R.

On pose une paire de gants et un portoir pour tubes – P.C.R. dans une enceinte en plastique dotée d'un dispositif de lampe U.V. qu'on laisse allumée pendant 10 mn. L'enceinte reste fermée pendant cette période. Cette irradiation a pour but de détruire toute trace d'ADN susceptible de polluer nos échantillons.

Cette précaution prise, on sort du congélateur le tube de tampon de la *Taq* polymérase qu'on laisse décongeler complètement. Juste avant de commencer la préparation de la réaction de P.C.R., on décongèle les autres produits nécessaires (dNTP, amorces). On éteint la lampe U.V. de l'enceinte, on porte les gants et on procède aux opérations suivantes :

- numérotation des tubes de PCR et disposition sur un portoir,
- pour les 11 réactions de P.C.R., on a préparé, dans un microtube, un mix correspondant à 12 fois les volumes nécessaires de chaque composant de la réaction en prélevant dans l'ordre suivant : H<sub>2</sub>O, tampon (mélange au vortex avant utilisation), dNTP (mélange léger au vortex avant utilisation), amorce 1 et amorce 2 (utilisation de pointes à filtre pour pipeter les amorces), *Taq* Ploymérase (le tube de *Taq* polymérase est sorti du congélateur au moment de son utilisation dans une boîte "cryofreeze" qui permet de maintenir les échantillons à - 20 °C, et est rangée au congélateur immédiatement après son utilisation, au même moment, on range les autres produits au congélateur). On mélange ensuite le mix au vortex et on le répartit dans les tubes de P.C.R. en utilisant une pointe à filtre. On sort les échantillons de l'enceinte et sur la paillasse à côté, on ajoute les ADN dans les tubes à l'aide de la pipette marquée ADN en déposant la goutte d'ADN sur le bord de chaque tube. Le tout est centrifugé en une seconde à l'aide de la mini-centrifugeuse de paillasse. Les tubes sont placés dans le thermocycleur pour l'amplification dont le programme est le suivant :

- 90 secondes à 95 °C ;
- 60 secondes à 50 °C ;
- 90 secondes à 72 °C 30 X (dénaturation, hybridation des amorces, élongation) ;
- infini à 4 °C.

### b3 / Vérification des produits de P.C.R.

Les produits d'amplification sont analysés par électrophorèse en gel d'agarose. Les conditions sont les suivantes :

- minigel (25 ml) à 0,8 % d'agarose dans du T.A.E. plus 1 µl de B.ET. ;
- dépôts de 2 µl d'amplifiat + 1 µl de bleu de dépôt ;
- un marqueur de poids moléculaire : 1 kb (1 µl) ;

On procède à la migration à 100 V pendant 30 min environ à l'aide du générateur d'électrophorèse. Les produits migrés sur gel sont observés et photographiés au Bioprint (système complexe combinant un appareil photographique, un ordinateur et une imprimante).



La taille attendue des produits d'amplification avec les amorces PNFO et PN22 est de 1700 pb environ.

#### b4 / Digestion par des enzymes de restriction

Les produits d'amplification sont digérés par 7 enzymes de restriction : *Alu I*, *Hae III*, *Hinf I*, *Msp I*, *Rsa I*, *Scrf I* et *Xho I*. Chaque enzyme présente des sites de coupure différents. Ces 7 enzymes ont été choisies car la combinaison des profils de restriction que génère chacune d'elle permet d'avoir toute la variabilité de profils qu'on peut rencontrer dans *F. oxysporum*. Les digestions ont été réalisées dans une microplaque de 96 puits. Le volume final (Vf = 10 µl) de chaque réaction contient :

- 5µl d'amplifiat ;
- 2 U d'enzyme ;
- 1/10ème Vf de tampon ;
- complément eau (H<sub>2</sub>O) qsp Vf.

Comme dans la réaction de P.C.R., on prépare des mix selon la formule n+1 fois, les volumes nécessaires d'enzyme, de tampon et d'eau. Les mix sont distribués dans les puits de la plaque contenant les amplifiats. La plaque est scellée à l'aide d'un film parafilm pour éviter toute évaporation. Les réactions de digestion sont incubées à 37 ° C pendant 3 heures au moins dans une étuve.

#### b5 / Electrophorèse des produits de la digestion

Les profils de restriction sont analysés par électrophorèse en gel d'agarose.

Pour *Alu I*, *Hinf I* et *Rsa I* : 3 % d'agarose haute résolution, ce qui correspond à 0,75 g d'agar dans 25 ml de T.A.E.

Pour *Hae III*, *Msp I* et *Scrf I*, : 4 % d'agarose haute résolution, ce qui correspond à 1 g d'agar dans 25 ml de T.A.E.

Pour *Xho I* : 1,5 g d'agarose "routine", ce qui correspond à 0,375 g d'agar dans 25 ml de T.A.E.

Les profils sont obtenus après migration sur minigel (25 ml) dans du T.A.E. auquel on a ajouté 1 µl de bromure d'éthidium (B.E.T.). Les conditions générales sont les suivantes :

- dépôt de 5 µl de "digestion" + 1 µl de "bleu de dépôt" ;
- marqueur de poids moléculaire (1 µl) de part et d'autre du gel.

On remarquera qu'ici, on a utilisé le marqueur 8 pour toutes les enzymes et Fo47 comme souche témoin, sauf pour *Xho* où nous avons utilisé le marqueur 1 kb et comme témoins Fo47 et Fln2 de part et d'autre des souches étudiées. *Xho* est une enzyme qui a, comme particularité, un seul site de coupure.

La migration des bandes sur les gels et à partir du générateur est faite selon les conditions suivantes :

- une première migration à 100 V pendant 50 min ;
  - photographie au Bioprint ;
  - une seconde migration à 100 V pendant 60 min pour toutes les enzymes sauf *Xho* (30 min à 100 V).
- \* coloration au bain de B.ET. (15 min) et décoloration (10 min) ;
- photographie au Bioprint.

#### b6 / Analyse des profils

Pour chaque enzyme de restriction, les profils obtenus par les ADNr des différents isolats sont comparés aux profils de référence préalablement établis au laboratoire. L'inclusion de souches de référence (Fo47 et Folin2) dans toutes les analyses permet de s'assurer que les profils obtenus sont exploitables (les profils de Fo47 obtenus dans l'analyse réalisée doivent correspondre à ceux déjà établis et utilisés comme référence). Cette vérification est également réalisée avec les marqueurs de taille utilisés. A l'issue de ces vérifications, les profils générés par les enzymes de restriction sur les aliquotes d'ADNr extraits des isolats et souches sont comparés aux profils de référence. Chaque profil de référence ayant un numéro, le profil de l'isolat correspondant au profil de référence est désigné du même numéro. La combinaison des 7 profils obtenus, pour un isolat, permet alors de l'assigner au type IGS correspondant.

#### 1-4-2-2 Analyse Mating type

##### a/ Principe et objectif

Bien que *F. oxysporum* soit une espèce appartenant aux Deutéromycètes, c'est-à-dire ne possédant pas de phase sexuée connue, deux gènes de sexualité ont été mis en évidence chez ce champignon (Arie *et al.*, 2000). Il s'agit des gènes de mating type 1 et mating type 2. Un seul des 2 gènes est présent dans une souche. La distribution des 2 mating types au sein d'une population assez large (un très grand nombre d'isolats) peut être utilisée pour tenter d'expliquer l'évolution de ce champignon vers une forme sexuée, ou sa dérive depuis une forme sexuée ancestrale (Klein *et al.*, 2003). Dans notre cas, nous utiliserons la présence d'un seul de ces gènes ou bien des 2 gènes dans une population de *F. oxysporum* comme un indicateur supplémentaire de la diversité de cette population. En combinaison avec les autres méthodes de caractérisation utilisées (VCG, type IGS), le caractère clonal d'un groupe d'isolats peut être révélé.

## b/ Méthode

L'ADN extrait des isolats ivoiriens et souches de collections internationales est utilisé pour détecter, par P.C.R., utilisant des amorces spécifiques, la présence de l'un ou l'autre des 2 mating types chez chacun de ces isolats ou souches. Les conditions générales de cette analyse sont énoncées ci-après.

### ➤ **Amorces**

- Mating type 1 :
  - Fusox 1L : 5' TGGCAGCTAGTTTCACA 3',
  - Fusox 1R : 5'GGCAAAAAGGAAGTTGC 3'.
  
- Mating type 2 :
  - Fusox 2L : 5' ACCGTAAGGAACGTCACCAG 3',
  - Fusox 2R : 5' CTTTTTCTGATCCGCCATCT 3'.

### ➤ **PCR Mix**

La composition de la solution de PCR est :

- 0,2 µl de *Taq* QBiogène (2 U),
- 2,5 µl de mix tampon (MgCl<sub>2</sub> inclus),
- 2,5 µl de NTP'S 2,5 mM,
- 2,5 µl amorce 1L/ 2L,
- 2,5 µl amorce 1R/ 2R (mix1 : amorce 1L1R, mix2 : amorce 2L2R),
- 1 µl d'ADN (ADN miniprep),
- 14 µl H<sub>2</sub>O.

### ➤ **Programme du cycleur (programme 69)**

Le programme d'amplification, au thermocycleur est le suivant :

- 94 °C en 5 minutes suivi par 35 fois :
- 94 °C en 30 secondes ;
- 60 °C en 30 secondes ;
- 72 °C en 30 secondes ;
- 72 °C 5 min (élongation finale) ;
- 4°C.

### ➤ Migration sur gel d'agarose

Les profils sont obtenus, après migration sur gels, selon les conditions suivantes :

- 4 % d'agarose haute résolution dans 25 ml de T.A.E. ;
- 2 µl de bleu de dépôt et 5 µl d'amplifiat par puits ;
- migration à 100 V pendant 35 à 40 minutes.

Les fragments attendus sont de l'ordre de 190 bases pour le mating type 1 et 202 bases pour le mating type 2.

### 1-4-2-3 Analyse des résultats

#### a/ Analyse moléculaire de variance

La comparaison des distributions des isolats et souches de chaque origine géographique dans les différents types IGS est basée sur une analyse dite de variance moléculaire. Cette méthode permet de comparer les populations en tenant compte à la fois des distances génétiques existant entre les types IGS et des fréquences de chaque type IGS. L'analyse de variance moléculaire ou A.MO.VA. (Excoffier *et al.*, 1992), basée sur le principe de l'analyse de variance classique, estime les différentes composantes de la variance moléculaire, correspondant aux différents niveaux hiérarchiques analysables (variance intra-populations, inter-population dans une même région et entre régions). Elle permet donc d'évaluer la proportion de la diversité des populations due à des différences dans une même région et celle due à des différences entre régions (Edel, 1999). Dans notre étude, nous avons trois populations en référence à trois origines géographiques (Côte d'Ivoire, Afrique, reste du monde). Les analyses sont faites avec un logiciel A.MO.VA. Version 1.55. La variance moléculaire est calculée à partir de la matrice de distances de l'ensemble des isolats et souches analysés (assimilés à leurs types IGS) et les distances qui les séparent (distances euclidiennes au carré). Le résultat est exprimé sous forme d'un coefficient  $\Phi_{ST}$  qui traduit la différenciation génétique entre les populations. Si sa valeur est faible, les différences observées entre les populations peuvent être imputées au hasard. Plus cette valeur est importante, plus les populations sont différentes. Aussi il est testé le niveau de signification de chaque composante de la variance.

#### b/ Traduction des données moléculaires en arbre (dendrogramme)

Le type IGS de chaque souche est défini par la combinaison des profils de restriction obtenus avec les sept enzymes.

Les différentes bases qui se succèdent dans une molécule d'acide nucléique de même que les sites ou fragments de restriction révélés dans une région d'ADN sont traités comme des caractères propres à l'organisme étudié. Ces caractères sont comparés pour quantifier les

variations d'un organisme à l'autre et les relations entre les différents organismes sont représentées sous forme d'un arbre ou dendrogramme (Edel, 1999). Deux approches peuvent être utilisées : l'approche dite phylogénétique, permettant d'établir les relations entre organismes en terme de lien de parenté, tenant compte de la notion d'évolution et l'approche phénétique. C'est cette dernière qui a été utilisée dans cette analyse. La classification phénétique est basée sur la mesure des similitudes (ou dissimilitudes) déterminées en fonction du nombre de caractères communs ou différents parmi un grand nombre de caractères étudiés. Cette approche ne tient pas compte de la notion d'évolution et est appliquée à des données de fragments ou de sites de restriction. Le principe de l'analyse peut être résumé en 3 étapes.

√ Pour chaque type IGS, la position des sites de restriction dans l'IGS est déterminée sur la base des profils de restriction obtenus ainsi que des cartes de restriction de l'IGS établies préalablement (Edel *et al.*, 1995, 1997, 2001). Les types IGS sont alors définis par la présence ou l'absence des différents sites de restriction. Les résultats ainsi obtenus sont alors synthétisés dans une matrice rectangulaire codée en 0 / 1 (0 : absence d'un site de restriction ; 1 : présence d'un site de restriction).

√ A partir de cette matrice, on calcule les distances entre types IGS. Pour cela, on peut utiliser différents coefficients de distance ; celui que nous avons utilisé correspond aux distances euclidiennes au carré. Les résultats sont synthétisés dans une matrice triangulaire (la matrice de distances, qui compare tous les types IGS deux à deux).

√ La matrice de distance est alors utilisée pour construire un dendrogramme (un arbre) représentant les relations génétiques entre types IGS. Pour représenter la matrice sous forme d'arbre, il existe à nouveau différents algorithmes : celui que nous avons utilisé est le plus courant. Il s'agit de l'U.P.G.M.A. ("unweighted pair group method with arithmetic mean") (Sneath & Sokal, 1973). Les deux dernières étapes ont été effectuées avec le logiciel NTSYS telles que décrites par Rohlf (1993).

## **II - ANALYSE DES FACTEURS DE L'ENVIRONNEMENT DES SOLS DE CULTURE DU COTONNIER, EN COTE D'IVOIRE**

### **2-1 Réceptivité des sols de culture à la fusariose vasculaire**

#### **2-1-1 Définition et principe**

Les travaux relatifs à l'écologie des champignons phytopathogènes se développant dans le sol ont connu un important rayonnement depuis les premières observations d'Atkinson en 1892 (Abadie, 1995). A partir de ces études, on considère le sol comme un ensemble vivant, siège d'interactions complexes, dans lequel le champignon pathogène, confronté à l'ensemble de la microflore et de la microfaune, doit vaincre un certain nombre de forces antagonistes pour se maintenir en vie et être capable d'attaquer une plante hôte.

Une maladie infectieuse d'origine tellurique résulte donc de l'interaction de trois facteurs : l'agent pathogène, la plante hôte et le sol (Alabouvette, 1983). Dans un sol supposé résistant, l'incidence de la maladie est faible malgré la présence du pathogène, un hôte sensible et des conditions climatiques favorables au développement de la maladie. Ces sols ont été désignés comme antagonistes, compétitifs, fongistatiques, suppressifs, etc. (Alabouvette *et al.*, 1996). Les études de la résistance des sols ont conduit à la notion de réceptivité des sols. Le concept de réceptivité des sols à une maladie d'origine tellurique exprime, de façon globale, l'action des facteurs biotiques et abiotiques du sol qui modulent l'activité de l'agent pathogène. On définit donc la réceptivité d'un sol comme étant son aptitude à permettre l'expression des capacités pathogènes d'un inoculum sur une population de plantes hôtes sensibles.

Le principe de la mesure de réceptivité d'un sol consiste à introduire des doses croissantes de l'agent pathogène dans ce sol et de cultiver une plante hôte. Dans un sol résistant, ou peu réceptif, la plante hôte sera peu ou pas affectée, même aux doses élevées, parce que l'expression de l'activité infectieuse du pathogène sera contrainte par les facteurs biotiques et abiotiques de ce sol. A l'inverse, dans un sol sensible ou réceptif, la fusariose se manifesterait fortement, même aux doses les plus faibles parce que l'environnement n'aurait pas limité l'expression des capacités infectieuses du pathogène. Il faut préciser qu'il s'agit de réceptivité d'un sol à une maladie d'origine tellurique et non à un agent pathogène, car on cherche à appréhender tous les facteurs qui, dans le sol, peuvent induire une limitation de la gravité de la maladie et ceux qui contrôlent l'installation de l'agent pathogène.

L'idée de mesurer la réceptivité du sol est venue du constat de l'apparition différenciée de la fusariose en Côte d'Ivoire, selon des zones agroécologiques différentes : absence de la maladie dans les régions de savanes du Nord de la Côte d'Ivoire à forte pression culturale, dans la zone forestière Ouest d'extension de la culture de cotonnier et la présence très accusée de la fusariose dans les savanes arborées du Centre. L'absence de maladie dans certaines zones à forte pression culturale comme, par exemple, Korhogo est-elle synonyme d'expression d'une résistance du sol? Ou est-ce tout simplement parce que le pathogène n'y est pas présent? L'objectif de cet essai est de tenter de répondre à ces questions.

Le couple *F. oxysporum* f.sp. *lini* – lin a été utilisé dans plusieurs études de mesure de la réceptivité des sols à la fusariose vasculaire. Les résultats obtenus sont corrélés avec ceux de plusieurs autres couples *F. oxysporum* pathogène – hôte spécifique (Abadie, 1995). Voilà pourquoi le couple *F. oxysporum* f.sp. *lini* - lin a été choisi pour mesurer la réceptivité des sols de Côte d'Ivoire à la fusariose vasculaire. Ce couple a été accompagné du couple *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* – cotonnier (variété GL 7 sensible de l'espèce *G. hirsutum*) et cela pour s'assurer que la mesure de la réceptivité des sols, allait bien caractériser leur résistance à la fusariose et non pas les compétences saprophytes de la souche de FOV introduite.

Cette démarche est couramment d'usage car elle confirme ainsi la caractérisation des sols testés et permet également de généraliser la valeur du critère de résistance (ou de non résistance) des sols aux fusarioses et non pas à une seule forme de fusariose.

## 2-1-2 Méthodes

### 2-1-2-1 Conditions de l'essai et dispositif expérimental

Deux souches de *F. oxysporum* pathogène ont été utilisées dans cet essai. Ce sont : *F. oxysporum* f.sp. *lini* ( souche Folin3B5) agent de la fusariose du lin (*Linum usitatissimum* L.) et *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* ( souche FOV6) agent de la fusariose vasculaire du cotonnier (*G. hirsutum* L.).

Des doses d'inoculum, à 4 niveaux de concentration, ont été préparées : 1000, 2500, 5000, 10.000 propagules/ml de sol.

Un niveau 0, c'est-à-dire, sans propagule infectieuse (considéré comme témoin) a été ajouté ; ce qui donne au total 5 niveaux de concentration.

Seize (16) plants, par niveau de concentration, ont été inoculés aussi bien pour le lin que pour le cotonnier.

Cinq (5) sols ont été testés pour leur réceptivité à la fusariose vasculaire. Ce sont 4 sols de Côte d'Ivoire et un sol de France, celui de Dijon.

- sol de Bouaké : c'est la parcelle expérimentale du C.N.R.A. (au Centre de la Côte d'Ivoire), caractérisée par la présence de la fusariose vasculaire.
- sol de Béoumi : il a été prélevé dans la localité de Bodokro (Centre de la Côte d'Ivoire), et caractérisé par la manifestation de la fusariose vasculaire.
- sol de Daloa : il a été prélevé dans la localité de Tchébréguhé (Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire), caractérisé par l'absence de fusariose.
- sol de Korhogo : il a été prélevé dans la localité de Dokaha (Nord de la Côte d'Ivoire), caractérisé par l'absence de fusariose.
- sol de Dijon (Nord-Est de la France) : c'est un sol résistant à la fusariose vasculaire ; il a servi comme sol de référence, donc témoin dans le test.

L'essai, aussi bien pour le lin que pour le cotonnier, a été conduit, selon un dispositif statistique, en 3 répétitions.

### 2-1-2-2 Production d'inoculum de Folin3 et FOV6

Les cultures des champignons ont été réalisées, initialement, sur P.D.A. en boîte de pétri pour FOV6 et en tube pour Folin3 (conservé en collection). Ensuite, elles ont été conduites en milieu liquide (malt liquide). L'incubation a duré 5 jours sous agitation à 150 trs/mn à 25 °C, dans un incubateur (Incubateur - Agitateur INFORS).

Le produit obtenu est filtré et incorporé au talc pour l'obtention de l'inoculum-talc selon le protocole de production de cet inoculum décrit par Tello Marquina *et al.* (1980) (annexe III).

Les doses D4 ( $10^4$  propagules), D3 ( $5.10^3$  propagules), D2 ( $2,5.10^3$  propagules), D1 ( $10^3$  propagules) et D0 (0 propagule) sont les quantités d'inoculum pour un ml de sol. Les quantités d'inoculum correspondantes pour une dose (et pour une répétition), c'est-à-dire pour 800 ml de sol, sont  $8.10^6$ ,  $4.10^6$ ,  $2.10^6$ ,  $8.10^5$  et 0 propagules. A partir de la concentration initiale de talc de **Foln3B5**, qui est de  **$3,5.10^7$  propagules / g**, on a déterminé les quantités respectives de talc inoculum et talc vierge à apporter au sol (tableau IX). Les quantités respectives de talc inoculum et de talc vierge correspondantes sont déterminées de sorte qu'on ait une quantité constante de talc à apporter au sol quelle que soit la dose.

Pour le couple coton – FOV, le procédé est le même qu'avec le couple lin – Foln3B5 avec, une quantité de propagules de FOV6 par g de talc produit ( **$3,8.10^6$  propagules / g**) toujours supérieure et donc un ajustement correspondant des quantités de talc inoculum et de talc vierge à utiliser a été nécessaire pour parvenir aux doses D4 à D0 (tableau X).

#### 2-1-2-3 Conditions de culture du lin et du cotonnier

Le semis du lin a été fait dans des pots de 75 ml (50 ml de sol, 25 ml de billes, 5 ml de terragreen). La variété utilisée est la variété "Opaline" sensible à la fusariose.

Le semis de coton, comme pour le lin, a été fait dans des pots de 75 ml (50 ml de sol, 25 ml de billes, 5 ml de terragreen). La variété de cotonnier testée est la variété "Glandless" ou GL7 (variété sans glande) sensible à la fusariose vasculaire.

Pour les deux plantes, la culture a été conduite en chambre climatisée. Les conditions environnementales sont les suivantes :

##### ➤ Pour le lin :

- Avant levée (première semaine de culture) :
  - température /jour :  $17\text{ }^{\circ}\text{C}$ , Température/ nuit :  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ , photopériode : 16 h ;
  - intensité lumineuse : 8 – 10.000 lux ;
- Après la levée (7 à 10 jours environ après semis) :
  - température/ jour :  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , Température /nuit :  $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ , photopériode : 16 h ;
  - intensité lumineuse : 8 – 10.000 lux ;

##### ➤ Pour le coton (conditions identiques pour toute la durée de l'essai) :

- température / jour :  $33\text{ }^{\circ}\text{C}$  ; température / nuit :  $22\text{ }^{\circ}\text{C}$  ; photopériode : 12 h.
- intensité lumineuse : 8 – 10.000 lux.



Tableau IX : Doses d'inoculum calculées pour F0ln3B5

Dose/1ml de sol	Nbre de spores /800 ml de sol (1 dose)	Qté de talc (g) pour une dose (800 ml de sol)	Complément de talc vierge (g)
D4 : $10^4$	$8.10^6$	0,23	0,57
D3 : $5.10^3$	$4.10^6$	0,11	0,69
D2 : $2,5.10^3$	$2.10^6$	0,06	0,74
D1 : $10^3$	$8.10^5$	0,006	0,794
D0 : 0	0	0	0,8

NB : Il est préparé 15 fois chaque dose. Cela pour les 5 sols en 3 répétitions

Tableau X : Doses d'inoculum calculées pour FOV6

Dose/1ml de sol	Nbre de spores /800 ml de sol (1 dose)	Qté de talc (g) pour une dose (800 ml de sol)	Complément de talc vierge (g)
D4 : $10^4$	$8.10^6$	2,11	0
D3 : $5.10^3$	$4.10^6$	1,05	0
D2 : $2,5.10^3$	$2.10^6$	0,53	0, 27
D1 : $10^3$	$8.10^5$	0,21	0, 59
D0 : 0	0	0	0,8

NB : Il est préparé 15 fois chaque dose. Cela pour les 5 sols en 3 répétitions

#### 2-1-2-4 Inoculation des sols

Pour chaque répétition, à chaque niveau de concentration, une quantité de 0,8 g de talc contenant la quantité de conidies nécessaires est introduite dans 800 ml de sol. Les témoins reçoivent du talc vierge. L'inoculum talc est mélangé pendant 10 minutes aux 800 ml de sol à l'aide d'un agitateur 3 dimensions. Le sol est ensuite distribué dans les 16 pots de la répétition. Les graines de lin sont semées à raison de 3 graines par pot et recouvertes d'une couche de *terragreen* (microbilles d'argile expansée limitant l'évaporation).

Les graines de coton sont d'abord désinfectées à l'hypochlorite de sodium (8° chlore pendant 3 minutes suivi de 3 rinçages successifs à l'eau stérile) et prégermées à 25°C pendant 48 heures à l'étuve avant d'être semées dans les pots (une graine par pot)

Après la levée, les plants de lin seront démarriés de sorte à ne laisser qu'un seul individu. La même opération est réalisée pour chacune des répétitions de l'ensemble des sols et niveaux de concentration d'inoculum et pour chaque espèce végétale. Les sols semés sont alors placés en chambre climatisée (figure 13) pour la conduite de la culture du lin et du cotonnier dans les conditions requises par ces plantes.

#### 2-1-2-5 Evaluation de l'apparition et de l'évolution de la maladie

Des observations quotidiennes sont faites jusqu'à l'apparition des premiers symptômes (jaunissement unilatéral des pieds de lin et chlorose, nécrose des feuilles, rabougrissement, flétrissement des plants de cotonnier et brunissement des vaisseaux conducteurs dans les deux cas). Dès l'apparition des premiers symptômes, deux notations sont faites une fois par semaine. Des courbes d'évolution de la maladie, au cours du temps, sont réalisées. Elles sont tracées avec le nombre cumulé de plantes mortes à chaque date de notation. Le niveau de maladie, dans chaque situation, est apprécié par une valeur qui correspond à la surface sous la courbe de progression de la maladie (A.U.D.P.C. : area under disease progression curve). La "fonction test logique SI" sur le logiciel Excel a permis de faire ce calcul. L'A.U.D.P.C. a l'avantage de discriminer deux situations présentant un même taux de mortalité si les mortalités sont intervenues à des dates différentes. Des analyses de variances (avec le logiciel Minitab) sont utilisées pour tester un effet dose d'inoculum par sol, et comparer les sols pour leur niveau de réceptivité (ou de résistance) à la fusariose du lin ou à la fusariose du cotonnier. Les classements de niveaux de résistance des sols à la fusariose vasculaire sont également faits.

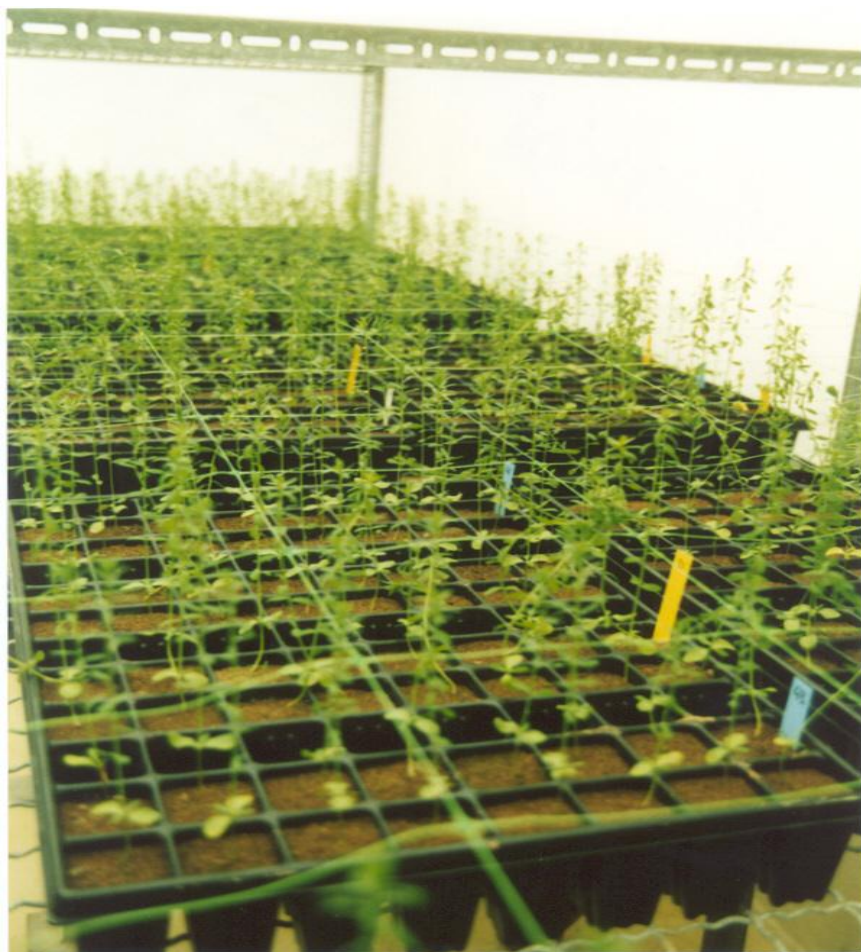


Figure 13 : Dispositif de semis en barquettes et de conduite des plants de lin en chambre climatisée

## 2-2 Analyses des sols

Ces analyses concernent les quatre sols de Côte d'Ivoire et un sol de France utilisé comme référence dans cette étude. Trois types d'analyses ont été réalisés :

- analyses physico-chimiques,
- analyse des flores telluriques,
- analyse de l'activité respiratoire.

### 2-2-1 Analyses physico-chimiques

Elles ont été réalisées au Laboratoire de Pédologie de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (I.N.P.-H.B.) de Yamoussoukro pour les sols de Côte d'Ivoire. Les échantillons ont été prélevés dans 12 localités réparties en 4 zones (tableau XI). Quatre de ces sols représentant chacune de ces zones ont été choisis pour l'analyse de leur réceptivité à la fusariose vasculaire (cf. paragraphe 2-1).

Les différents éléments recherchés, dans ces analyses, sont :

- la granulométrie (argile, limon, sable) ;
- le pH ;
- la matière organique (carbone, azote, rapport carbone / azote) ;
- le phosphore total ;
- le complexe absorbant (capacité d'échange cationique, calcium, magnésium, potassium, sodium).

Une analyse discriminante a été utilisée pour déterminer les variables qui permettent de discriminer deux groupes de sols : les sols qui expriment la fusariose et ceux qui ne l'expriment pas. La question est de savoir si plusieurs sols pour lesquels on a mesuré plusieurs caractères (variables) sont bien discriminés par ces derniers. Si c'est bien le cas, on peut effectivement espérer classer correctement les sols en observant ces caractéristiques. Nous chercherons, à ce niveau, à comprendre le rôle que joue les variables dans la discrimination des sols.

Par ailleurs, et dans l'hypothèse que le système d'exploitation est globalement intensif, la nutrition de la plante est plus influencée par les rapports pondéraux entre les éléments minéraux que par les taux absolus de ceux – ci. A cet égard, nous allons, dans l'analyse des résultats, apprécier la fertilité des sols sur la base de rapports impliquant les trois éléments majeurs contenus dans la fertilisation recommandée pour la culture cotonnière en Côte d'Ivoire, à savoir, pour les éléments N, P et K, les rapports :  $N/P_2O_5$  et  $K/(Ca + Mg + K)$ . Leur optimum est respectivement de 2 à 4 et 3. La stabilité du sol et la capacité intrinsèque à fournir de l'azote aux plantes seront évaluées à travers le rapport matière organique / (argile + limon fin). Selon Pieri (1991), au-delà de 9, pour ce rapport, les sols sont stables et ne nécessitent pas d'amendement organique.

Tableau XI : Localités de prélèvement des sols pour les analyses physico – chimiques

<b>Zones</b>	<b>Localités</b>
Zone 1 : sans fusariose	Torgokaha
	Dokaha
	Zanakpokaha
Zone 2 : présence de la fusariose	Kounahiri
	Dabakalatou
	P.O. Tiéningboué
	Tiéfindougou
Zone 3 : sans fusariose	Gbétitapia
	Daloa - Bribouo
	Tchébrégué
Zone 4 : présence de la fusariose	Bouaké – C.N.R.A.
	Bodokro-Béoumi

## 2-2-2 Analyse des microflores telluriques

### 2-2-2-1 Principe et objectif

C'est une étude à la fois quantitative et qualitative des microflores fongiques et bactériennes. Elle nous permet de connaître la quantité de microorganismes des 2 communautés microbiennes par gramme de sol. Elle donne une idée sommaire de la diversité morphologique que l'on peut rencontrer dans les différents sols. Cette diversité ne peut être quantifiée ; c'est un index qualitatif évalué au cours des notations quantitatives des nombres de microorganismes. L'analyse est basée sur le principe de l'unité (propagules bactérienne ou fongique) formant une colonie (en Anglais C.F.U. : Colony Forming Unit).

Une quantité connue (quelques grammes de sol frais dont la valeur d'humidité a été déterminée) est introduite aseptiquement dans un volume connu d'eau stérile (45 à 100 ml en général). La suspension est agitée vigoureusement pour désagréger le sol et disperser les microorganismes. Une série de suspensions-dilutions est alors réalisée et des aliquotes de ces suspensions-dilutions sont déposés sur un milieu de culture sur lequel ces microorganismes se développeront. L'analyse repose sur le principe que toute propagule (cellule bactérienne, spores, articles mycéliens, ...) présente dans le sol donnera naissance à une colonie sur un milieu de culture. Néanmoins, les propagules peuvent être un agglomérat de plusieurs bactéries, une spore pluri-cellulaire (macroconidies par exemple), plusieurs articles mycéliens etc. C'est pourquoi on parle d'unité formant colonie ou de propagule, l'unité ne correspondant pas systématiquement à un microorganisme et un seul. Ainsi, en comptant le nombre de colonies sur le milieu de culture utilisé, on dénombre, par défaut, le nombre de microorganismes qui en sont à l'origine. A l'inverse, on fait, à priori, l'hypothèse que tous les microorganismes du sol sont cultivables sur le milieu de culture ; ce qui n'est pas vrai (les anaérobies strictes par exemple ne sont pas prises en compte). La composition du milieu peut ne pas convenir, et d'autre part, des microorganismes peuvent être dans un état physiologique impropre à la croissance, mais néanmoins impliqués dans des fonctions microbiennes. Ainsi, l'analyse de la microflore ne pouvant avoir une valeur absolue, c'est une valeur relative qui permet de comparer, à un moment donné, 2 échantillons de sol, ou bien l'impact d'un facteur sur la densité (avant et après amendement, fertilisation, pratique culturale, etc).

Toutes les analyses biologiques des sols ont été réalisées à une humidité de 80 % de la capacité au champ. Des analyses de variance (AN.O.VA.) et des tests de comparaison multiples de moyennes (test de Fisher, seuil fixé à 0,05) sont réalisées pour chacun des paramètres biologiques mesurés afin de déterminer ceux discriminant les sols les uns des autres, en relation avec la mesure de réceptivité aux fusarioses.

#### 2-2-2-2 Flore fongique totale

On prépare d'abord une suspension mère de sol en ajoutant 5 g de sol dans 45 ml d'eau stérile. Cette suspension est agitée pendant 20 minutes à l'aide d'un agitateur ("ORANGINA"). Des dilutions successives au 10<sup>ième</sup> sont ensuite réalisées à partir de la dilution mère jusqu'à 10<sup>-5</sup> pour les quatre sols. Les dilutions 10<sup>-2</sup> à 10<sup>-5</sup> ont été retenues. Un ml de chaque dilution a été ensemencé dans un milieu malt acide (250 mg/l d'acide citrique) maintenu en surfusion. Pour chaque dilution, 5 boîtes (diamètre 10 cm) ont été ensemencées (5 répétitions par niveau de dilution). Les boîtes, après solidification du milieu, sont mises à incubation à 25 °C à l'obscurité dans une étuve.

#### 2-2-2-3 Flore bactérienne totale

Les échantions de sols utilisés sont les mêmes que ceux utilisés précédemment. Ici, cependant, les dilutions successives au 10<sup>ième</sup> ont été réalisées jusqu'à 10<sup>-6</sup> pour les quatre sols. Les dilutions 10<sup>-3</sup> à 10<sup>-6</sup> ont été retenues pour être ensemencées sur un milieu LPGA ½ (annexe I) préalablement coulé et solidifié dans des boîtes de Pétri (de 10 cm de diamètre). Cent µl de chaque dilution sont étalés à la surface du milieu à raison de 3 répétitions par niveau de dilution. L'étalement de la suspension de sol, sur la surface du milieu solide, est fait à l'aide de petites billes de verre qui en assurent, ainsi, en secouant horizontalement les boîtes, une bonne répartition. Cette mesure est prise afin que les colonies qui apparaissent soient individualisées et donc faciles à compter. Les boîtes sont enfin mises à incuber à 25 °C à l'obscurité dans une étuve.

#### 2-2-2-4 Flore fusarienne spécifique

Le principe de cette méthode est sensiblement différent des précédents. Il ne s'agit plus de faire des suspensions - dilutions, mais de saupoudrer directement du sol préalablement séché à l'air, broyé et tamisé à 200 µm à la surface d'un milieu spécifique en surfusion. Les particules saupoudrées sont alors incorporées dans le milieu. La quantité de sol incorporé est connue avec précision (de 5 à 20 µg). Le milieu utilisé est le milieu de Komada (Komada, 1975). C'est un milieu sélectif qui permet de révéler, préférentiellement, les populations de *Fusarium* spp. Après incubation, les colonies sont identifiées en fonction de leurs aspects morphologiques et réparties en différents groupes. Le mode opératoire est énoncé, ici, en différentes étapes.

Les échantillons de sols à analyser sont séchés à température ambiante au laboratoire. On élimine les cailloux et les gros fragments de matière organique puis on procède au broyage à l'aide d'un broyeur planétaire (marque FRITSCH). Dans chaque bol du broyeur, on place trois billes en acier (10 mm de diamètre). Le broyage dure 1 minute à vitesse moyenne (repère 4 de l'appareil). On passe le broyat au tamis de maille 200 µm. On opère dans des conditions aseptiques. La terre tamisée est répartie dans des flacons de verre à bouchon vissé (7 cm\*2,5 cm) appelés "piluliers".

Pour chaque échantillon, on utilise 3 flacons, chacun étant une répétition (a, b, c). Les flacons sont pesés (à un poids P0) et on peut procéder à l'incorporation de la terre dans le milieu sélectif.

L'analyse se fait dans des boîtes de pétri en verre de 14 cm de diamètre qui doivent être stérilisées au four Pasteur pendant 1 heure à 180° C la veille du jour de l'analyse. Il faut trois boîtes par pilulier soit au total 9 boîtes par échantillon de sol à analyser.

Les boîtes de pétri sont mises à tiédir sur une plaque chauffante à 40 °C pour éviter la solidification trop rapide du milieu. On incorpore la terre tamisée dans le milieu en surfusion à l'aide d'une spatule (cuillère à os des dentistes) désinfectée (flambée à l'alcool). Il faut alors, d'un léger mouvement rotatif, dans un sens ou dans l'autre, agiter les boîtes pour obtenir une répartition homogène de la terre. Cette étape est délicate car certains sols se dispersent mal.

On pèse chaque pilulier après l'incorporation de la terre dans les boîtes d'analyse (ce qui donne un poids P1). La différence P0-P1 donne la quantité de sol incorporé. On procède ensuite, de la même manière, pour les 2 boîtes de la même répétition. Le nombre de colonies de *Fusarium* spp dénombrées par boîte est ramené au gramme de sol.

Quand le milieu est solidifié, les boîtes d'analyse sont placées couvercle en bas (pour éviter qu'une éventuelle condensation ne tombe sur les colonies) à l'obscurité, à 25 °C pendant 5 jours ; puis les boîtes sont transférées sur des étagères en verre éclairées à 25 °C pendant 3 jours pour permettre la coloration des colonies.

Une première identification grossière se fait en se basant sur la coloration des colonies. D'une manière générale :

- les colonies de *F. oxysporum* sont roses sur milieu Komada (certaines peuvent être blanches) ;
- les colonies de *F. solani* sont blanches ou grises sur milieu Komada (certaines peuvent être marrons) ;
- les colonies de *F. roseum* sont de différentes couleurs : rose, orange, marron, saumon, etc) ; de plus, leur aspect est totalement différent (colonies moins développées car leur croissance est plus faible que celle des autres *Fusarium*).

L'identification définitive se fait à l'aide de la clé de détermination de Nelson, Toussoun et Marassas (1983). Cette méthode classique de taxonomie fait appel à l'observation des caractères microscopiques et macroscopiques. Dans certains cas, ceux-ci n'étaient pas suffisants. La P.C.R. a été utilisée comme méthode pour confirmer ou infirmer l'identification



d'isolats de *Fusarium*. Elle repose sur un principe équivalent à celui utilisé pour la caractérisation infraspécifique des Fo sur la base du polymorphisme de l'IGS révélé par P.C.R. – R.F.L.P. Pour une identification au niveau interspécifique, c'est également une PCR-RFLP qui est réalisée, mais c'est le polymorphisme des régions ITS (ITS1 et ITS2) et début 28 S qui est analysé. L'utilisation de 4 enzymes de restriction a permis de définir les profils caractéristiques des espèces de *Fusarium*. En déterminant le profil d'un isolat non identifié, on peut retrouver son espèce d'appartenance. Des souches isolées des sols de Béoumi, de Bouaké, de Daloa et de Korhogo ont été identifiées par cette méthode

#### 2-2-2-5 Test de pathogénicité des isolats de *F. oxysporum* obtenus des sols sous cotonnier

De nombreux isolats de *F. oxysporum* ont été obtenus des sols ivoiriens analysés. Nous avons décidé de tester ces isolats pour leur pouvoir pathogène afin de savoir si des sols résistants, mais aussi des sols sensibles, pouvaient héberger des populations naturelles d'agent pathogènes du cotonnier.

Nous avons choisi 58 isolats de *F. oxysporum*, selon les groupes de faciès et couleurs qu'elles présentaient. Elles sont réparties comme suit : 31 souches du sol de Bouaké (sol exprimant la fusariose), 10 du sol de Béoumi (sol exprimant la fusariose), 6 du sol de Daloa (sol sans fusariose) et 11 de Korhogo (sol sans fusariose).

L'inoculum a été préparé, pour chacun des isolats, dans des tubes, en malt liquide (9 ml/ tube) qui ont été incubés en agitation continue (agitateur INFORS) pendant une semaine. Comme dans les cas précédents d'inoculation, les suspensions de conidies obtenues ont été filtrées et centrifugées (7000 g pendant 15 min) et titrées. Des solutions d'inoculation ont été ainsi préparées pour  $10^3$  spores par ml de sol, conditionnées en 5 ml d'inoculum apportés directement au sol et pour des pots de 50 ml de terre stérile des serres ( $5 \cdot 10^4$  spores/ pot). Le dispositif expérimental est constitué de 12 pots semés en plants de cotonnier sensibles (variété GL7) pour chaque isolat à tester. Un témoin est constitué avec la souche Fo47 non pathogène. Les plants sont semés en barquettes (figure 14). Les conditions expérimentales sont les mêmes que celles du test de réceptivité décrit plus haut

L'évaluation a consisté à noter les symptômes dès leur apparition avec une fréquence d'une notation par semaine. Des taux de mortalité sont calculés pour chaque souche. Des classes de pathogénicité sont établies sur cette base.



Figure 14 : Dispositif de culture de plants de cotonniers, en chambre climatisée, pour le test de pathogénicité des isolats de *F. oxysporum* obtenus des sols de Côte d'Ivoire

## 2-2-3 Activité biologique des sols

Il s'agit d'apprécier l'activité biologique des sols par la mesure de leurs activités respiratoires. Elle repose sur le principe de l'activité respiratoire mitochondriale des flores existant dans le sol. Un substrat, ici le 2, 3,5 – Triphényl Tetrazolium Chloride (T.T.C., formule chimique :  $C_{19}H_{15}N_4Cl$ ), est apporté dans le sol. L'activité respiratoire de la microflore réduit le T.T.C. en 1,3,5 – Triphényl Tetrazolium Formazan (T.T.F., formule chimique :  $C_{19}H_{16}N_4$ ) ou Formazan qui est rouge (annexe 4) et que l'on peut extraire et doser par spectrophotométrie (Steinberg, 2001). Les T.T.C - T.T.F. sont donc des indicateurs de l'activité biologique du sol. Deux types d'analyse ont été réalisés : l'activité déshydrogénase qui mesure l'activité biologique globale et le test Biolog qui ne mesure que l'activité physiologique bactérienne en présence d'un nombre donné de substrats.

### 2-2-3-1 Activité déshydrogénase

D'après Smith et Pugh (1979), des enzymes déshydrogénases sont impliquées dans les réactions oxydatives et de réduction dans le cycle tricarboxylique de Krebs. La mesure de l'activité déshydrogénase pourrait ainsi donner un indicateur valable sur la respiration et par conséquent de l'activité de la microflore du sol. Stevenson (1959) cité par Ghirardi (1999) a démontré que l'activité déshydrogénase du sol pouvait être déterminée par la mesure de la vitesse de réduction de 2, 3, 5 – Triphényl Tétrazolium Chloride (T.T.C.) en 2, 3, 5 – Triphényl Tétrazolium Formazan (T.T.F.). Les résultats obtenus, dans diverses études, sont en corrélation parfaite avec ceux de production d'oxygène obtenus par des techniques manométriques. Le procédé repose sur la réaction suivante :



On pèse donc, au préalable, l'équivalent de 1 g de sol sec. On y ajoute 0,4 ml de T.T.C. (à 1 %) qu'on place au bain-marie pendant 24 h à 30 °C. On a formation de T.T.F.. Ce produit, étant soluble dans l'alcool, est extrait en ajoutant 2,4 ml de méthanol. Le témoin, dans l'étude, est 1 g de sol qui ne reçoit pas de T.T.C., mais de l'eau (0,4 ml). Pour évaluer la réactivité de la microflore, du glucose (1mg / g de sol) est ajouté au sol et la cinétique d'utilisation de ce substrat, par la microflore, est mesuré en évaluant l'évolution de la réduction du T.T.C. en T.T.F. au cours du temps (24h). Le glucose est utilisé car c'est un substrat qui ne nécessite pas de moyens de transport transmembranaire ; il est donc assimilé par tous les microorganismes sans faire appel à des mécanismes d'absorption particuliers, Il permet donc de révéler la réactivité métabolique de toute la microflore du sol.

Dix à quinze minutes après ajout de l'alcool, on centrifugie le tout pendant 10 minutes à 10.000 tr/min. On prélève ensuite, 1 ml du surnageant qu'on dose au spectrophotomètre (à  $\lambda = 480$  nm). A une densité optique donnée correspond une concentration du produit formé. Cette relation est donnée après établissement d'une droite étalon. Les mesures ont été réalisées selon un dispositif à trois répétitions, avec différents traitements (tableau XII).

Les données de T.T.F. obtenues, en mg/ml, sont transformées en  $\mu\text{l}$  d'hydrogène (H) selon la relation décrite par Smith & Pugh (1979). Elle indique que pour produire 1 mg de T.T.F., il faut 150,35  $\mu\text{l}$  d'hydrogène.

## 2-2-3-2 Détermination des profils métaboliques des communautés bactériennes des sols

### a/ Principe et objectif

Les microorganismes du sol constituent des communautés complexes en interaction permanente avec leur environnement. La composition et les activités de la communauté microbienne déterminent les processus de l'écosystème (recyclage des nutriments, décomposition de la matière organique) ou l'efficacité des invasions microbiennes (croissance des pathogènes, introduction de microorganismes génétiquement modifiés ou non). A l'inverse, des variations dans l'environnement (pratiques agricoles, pollution des sols) peuvent modifier la structure et les activités des communautés microbiennes. La compréhension des interactions entre ces communautés et l'environnement passe par la connaissance de la diversité taxonomique et fonctionnelle des microorganismes qui composent ces communautés. L'étude de la diversité taxonomique à l'intérieur des communautés microbiennes a permis de regrouper des microorganismes dans des unités taxonomiques opérationnelles (Ghirardi, 1999). L'analyse et la distribution de ces différentes unités ont pu fournir un aperçu du fonctionnement écologique des communautés. Cela est d'autant plus utile que les techniques d'étude, basées sur l'isolement des microorganismes, n'offrent qu'une vue limitée et biaisée des communautés à cause de la nature sélective du milieu de culture et du statut non cultivable de certains microorganismes.

L'utilisation de ces nouvelles méthodes, entre autres techniques, les plaques Biolog (Biolog, Inc., Californie, U.S.A.) a permis de caractériser la diversité taxonomique des microorganismes à l'intérieur des communautés microbiennes en supprimant les étapes d'isolement. Les plaques Biolog sont un indicateur rapide de la diversité structurale et/ ou fonctionnelle des communautés microbiennes (Garland et Mills, 1991 ; Preston-Mafham *et al.*, 2002 ; Steinberg *et al.*, 2004 ; Peres-Piqueres *et al.*, 2006).

Tableau XII : Temps d'incubation et conditions du test selon les différents sols

<b>Conditions</b> \ <b>Sols</b>	<b>Bouaké, Daloa, Béoumi, Korhogo</b>	<b>Daloa, Korhogo, Dijon</b>
Sans glucose	0 H, 24 H	0 H, 24 H
Avec glucose (1 mg de glucose / 1 g de sol sec)	0 H, 1 H, 2 H, 4 H, 6 H, 17 H, 24 H	0 H, 30 min, 2 H, 6 H, 17 H, 20 H, 24 H

H = heure (temps d'incubation)

La diversité métabolique d'un sol est donc estimée en utilisant ces plaques Biolog. Elles sont initialement destinées à l'identification de cultures pures de bactéries Gram Négatif (G.N.). Elles permettent de tester, simultanément, la dégradation indépendante de 95 sources de carbone (annexe IV) par une technique colorimétrique (réduction du sel de tétrazolium en formazan rouge dosable au spectrophotomètre à  $\lambda = 590$  nm). L'ensemble des dégradations obtenues constitue un profil caractéristique de la suspension cellulaire ou communauté bactérienne du sol inoculée dans la plaque.

Pour caractériser le profil physiologique d'une communauté bactérienne du sol, on mesure l'évolution de la Densité Optique (D.O. à  $\lambda = 590$  nm) correspondant à la cinétique de dégradation des substrats au cours du temps pendant une incubation d'une centaine d'heures. La cinétique peut être mesurée puits par puits (c'est-à-dire substrat par substrat), mais plus généralement, on l'évalue en mesurant le développement moyen de la coloration rouge sur l'ensemble des 96 puits (95 sources de carbone et un témoin blanc) au cours du temps. Ce développement moyen s'appelle "Average Well Color Development" ou A.W.C.D. Cette cinétique suit une allure sigmoïdale (phase de latence, développement de type exponentiel de la couleur moyenne, ralentissement du développement et plateau de fin de développement). Trois paramètres peuvent être évalués :

- (i) la vitesse de réduction du tétrazolium en formazan, qui traduit la vitesse d'utilisation des substrats ; cette vitesse est calculée sur l'évolution de l'A.W.C.D. pendant la phase type exponentiel ;
- (ii) le niveau d'établissement final de cette valeur d'A.W.C.D. (plateau) qui traduit le niveau d'activité métabolique de la communauté bactérienne du sol ;
- (iii) le profil métabolique de la communauté c'est-à-dire le niveau d'utilisation de chacun des substrats, pour une valeur d'A.W.C.D. fixée.

Les 95 substrats de la plaque Biolog se distribuent en 6 familles de substrats : amines/amides, amino-acides, carbohydrates, acides carboxyliques, polymères, divers (annexe V). L'identification du profil métabolique d'une communauté bactérienne par rapport à celui d'autres communautés bactériennes peut s'établir à l'aide d'Analyses en Composantes Principales (A.C.P.), en comparant substrat par substrat ceux utilisés et ceux non utilisés par les communautés bactériennes. Une autre approche consiste à comparer le niveau d'utilisation des familles de substrats en évaluant la valeur d'A.W.C.D. par famille, à un stade de développement global défini pour toute l'expérimentation (tous les échantillons). Des analyses de variances (A.NO.VA.) permettent, ensuite, de discriminer les familles de substrats utilisées ou peu utilisées par une communauté bactérienne d'un sol, et aussi de comparer les communautés de différents sols pour leur aptitude à utiliser une famille de substrats. L'utilisation de ces familles de substrats caractérise des groupes fonctionnels. C'est cette seconde approche que nous utiliserons. Ces 3 paramètres (pentes, plateaux, A.W.C.D. globale et fonctionnelle), établis pour une plaque, peuvent alors être comparés (AN.O.VA., Fisher) à ceux établis pour les autres plaques.

Une analyse multivariée (avec le logiciel SPSS version 11.5), intégrant les variables des facteurs biotiques a été faite pour apprécier celles qui discriminent, significativement, les sols sensibles des sols résistants.

#### b/ Méthode

L'inoculation des plaques et leurs évaluations consistent en une série d'opérations énoncées en 13 points.

- 1. Peser 2 g de sol (tamisé à 2mm) dans un tube à centrifugation, avec 3 répétitions par échantillon, en prévoyant le nombre nécessaire de tubes stériles.
- 2. Ajouter 18 ml de NaCl 0,85% dans chacun des tubes. Le NaCl est préparé à l'avance et stérilisé par autoclavage 45 minutes à 110 °C et se conserve à 4 °C.
- 3. L'ensemble est agité pendant 10 minutes sur un agitateur.
- 4. Dénombrement n°1 : On fait un premier dénombrement en prélevant 1 ml de la suspension obtenue pour réaliser une série de suspensions dilutions et l'inoculer à un milieu L.P.G.A. Le dénombrement est fait pour connaître la densité de la population bactérienne initiale de l'échantillon.
- 5. Centrifuger pendant 5 minutes à 1000g (centrifugeuse JOUAN GR2022).
- 6. Prélever le surnageant à la pipette et filtrer sur un filtre de soie (Prolabo) dans un flacon contenant 45 ml de NaCl 0,85 % qu'il faut prévoir à l'avance ainsi que les entonnoirs, les filtres stérilisés (1h 120 °C à sec), le nombre nécessaire de flacons de NaCl 0,85 %.
- 7. Verser le contenu du flacon après l'avoir homogénéisé dans un cristallisateur contenant un barreau magnétique. Il faut prévoir à l'avance le nombre nécessaire de cristallisateurs et de barreaux magnétiques (stérilisés pendant 1h à 120 °C à sec).
- 8. Dénombrement n°2 : Prélever 2 ml de la suspension obtenue pour le dénombrement de la population bactérienne (dans le surnageant = suspension qui servira à inoculer la plaque) de l'échantillon.
- 9. Ajouter, dans le cristallisateur, 50µg de cycloheximide /ml :
  - ✓ 18 ml = volume de NaCl introduit dans le tube de Centrifugation (cf. 2) ;
  - ✓ 1 ml = volume V prélevé pour le dénombrement n°1 (cf.4) ; il en restera 17 ml ;
  - ✓ 17ml + 45 ml (volume contenu dans le flacon, cf.6) = 62 ml ;
  - ✓ ml = volume prélevé pour le dénombrement n°2 (cf.8) ; il en restera 60 ml ;
  - ✓ 60 ml = volume final dans le cristallisateur.

La cycloheximide se prépare dans un mélange d'alcool à 70 ° et d'eau (V/V). Elle est ajoutée à la suspension pour éviter le développement de champignons dans les plaques.

- 10. Prélever, sous agitation, à l'aide d'une pipette multicanaux 150 µl de la solution et inoculer la plaque.
- 11. Lire la plaque au spectrophotomètre (Molecular Devices) à 590nm = T0.
- 12. Mettre à incuber à 25 °C.
- 13. Effectuer une lecture à 40 h puis 5 lectures par jour.

Pour des raisons pratiques et dans un souci d'obtention de surnageant suffisant, ce protocole, après avoir été testé, a été légèrement modifié pour tenir compte des textures particulières des sols de Côte d'Ivoire. On a donc pesé 3,7 g de sol humide (les 4 sols de Côte d'Ivoire) qu'on a mis dans 33 ml d'une solution de NaCl (chlorure de sodium) au lieu de 2 g dans 18 ml de NaCl.

Les différents temps de lectures sont : 0, 40, 42, 44, 46, 48, 51, 54, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 87, 89, 91, 94, 97, 112 heures.

## **CONCLUSION PARTIELLE**

Cette démarche méthodologique, qui a consisté à l'énoncé des matériels et des méthodes, sur l'analyse de la structure des populations de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* et sur l'écologie de la fusariose vasculaire du cotonnier en relation avec les facteurs du sol, nous a conduit, naturellement, à des résultats que nous exposerons dans cette troisième partie de notre étude.



TROISIEME PARTIE :  
**RESULTATS ET DISCUSSIONS**

## CHAPITRE I : RESULTATS

### I -POUVOIR PATHOGENE DES ISOLATS IVOIRIENS DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *VASINFECTUM*

Dix sept isolats de *Fusarium oxysporum* ont été retenus à l'issue de notre prospection de la zone cotonnière et des tests d'inoculation. Il s'agit de ceux qui ont provoqué les symptômes typiques de la fusariose vasculaire du cotonnier sur les variétés sensibles de *Gossypium hirsutum* (variétés GL7 et ISA 205K). Ces isolats sont donc bien de la forme spéciale *vasinfectum*.

L'agressivité de ces isolats a été évaluée ensuite selon la méthode de Follin à l'aide de deux indices : l'indice de flétrissement (I.F.) ou "wilt index" (W.I.) et l'indice de rabougrissement (I.R.). Les valeurs de ces indices varient énormément selon les isolats (figure 15 et annexe V). L'indice W.I., le plus important, est attribué à l'isolat 6 originaire de Bouaké alors que le plus faible est obtenu avec l'isolat 4 (isolé de cotonniers de Tieningboué). Pour l'indice IR, les valeurs restent élevées et se situent au-delà de 50 %.

Aucune relation suffisante ne se dessine entre les deux indices ( $r = 0,32$  ; corrélation non significative à 5 %). Néanmoins, les valeurs très élevées de l'I.R. traduisent un déficit d'accroissement dû, d'une part, à la diminution de la surface foliaire, conséquence de l'infection des jeunes plants par le champignon, et d'autre part, à sa présence dans les vaisseaux de la plante pouvant induire un déficit de nutrition même si les feuilles demeurent, en partie, intactes.

Un test de rang, à l'aide du logiciel SPSS11.5, qui a généré une variable de classement à la suite des variables W.I. et I.R., a permis de définir 3 groupes d'individus (isolats). Un premier groupe, constitué des isolats les plus agressifs et dont les valeurs W.I. sont de 38,2 à 81,8 et I.R. de 75,95 à 80,65, rassemble les isolats FOV1, FOV2, FOV6, FOV12 et FOV13. Un deuxième groupe est constitué des autres isolats : FOV3, FOV4, FOV5, FOV7, FOV8, FOV9, FOV10, FOV11, FOV14, FOV15, FOV16, FOV17. Les valeurs W.I. de ce groupe varient de 7,2 à 42,2 et I.R. de 52,80 à 80,83. Le troisième groupe est constitué du seul témoin. La distribution de classes donne donc un effectif de 5 pour le premier groupe (avec un pourcentage des combinés de 27,8 %), un effectif de 12 pour le deuxième groupe (avec un pourcentage des combinés de 66,7 %) et 1 pour le dernier groupe (5,6 %). L'ajustement de Bonferroni appliqué (utilisant une statistique t de Student pour mesurer l'importance d'une variable) montre une contribution relative plus importante de la variable I.R. dans le premier groupe, alors que dans le deuxième groupe, c'est la variable W.I. qui y contribue de façon plus importante. Les contributions des deux variables pour le témoin (troisième groupe) sont nulles.

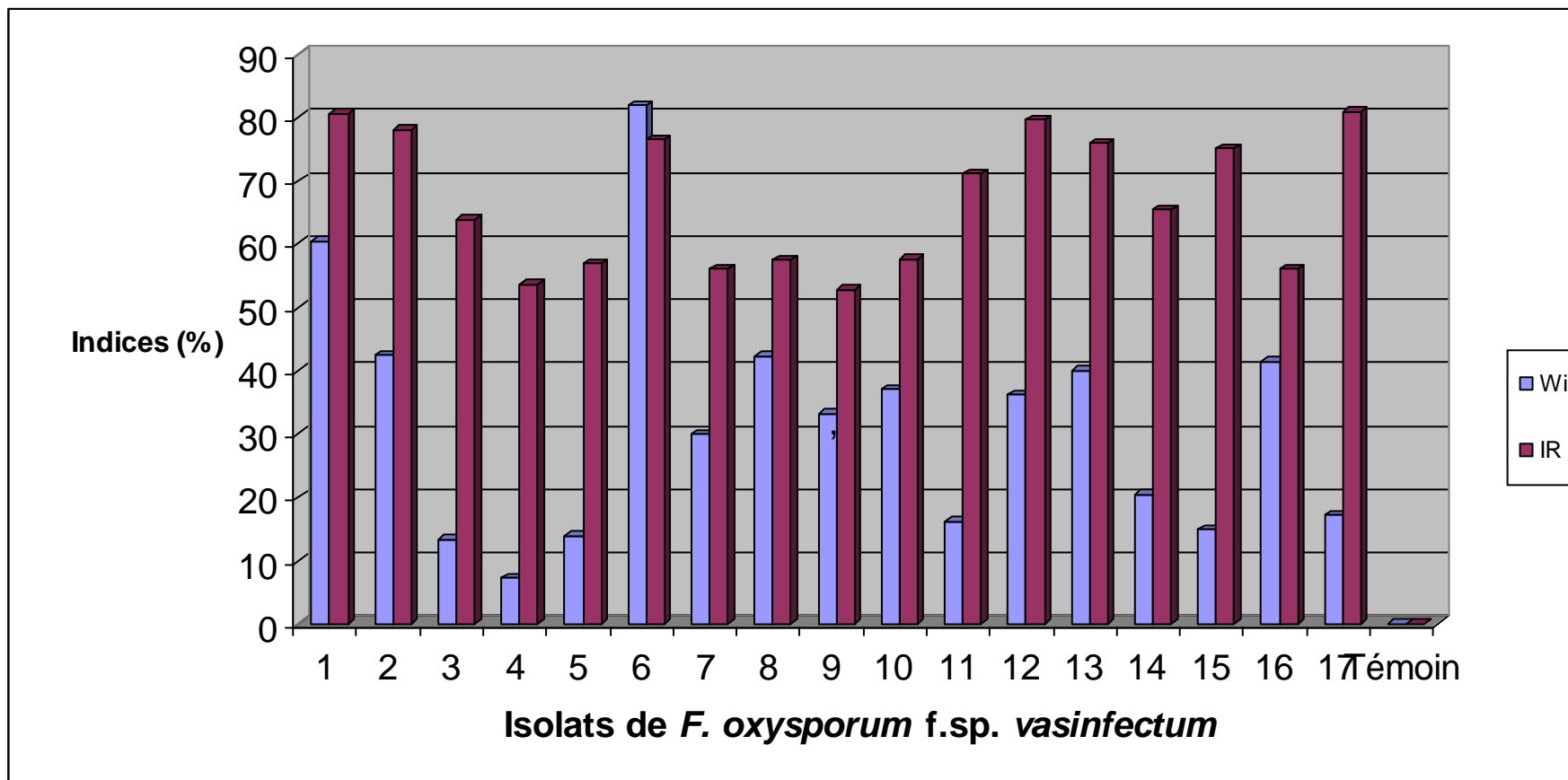


Figure 15 : Indices de flétrissement et de rabougrissement de 17 isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* de Côte d'Ivoire

## II- DIVERSITE DES POPULATIONS DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *VASINFECTUM*

### 2-1 Groupes de compatibilité végétative

Parmi les isolats ivoiriens, 5 se sont révélés auto-incompatibles (H.S.I. = Heterokaryon Self Incompatible) c'est-à-dire que les différents mutants *nit* d'un même isolat sont incapables de s'anastomoser et de se compléter. Les mutants de ces isolats H.S.I. n'ont également pas été capables de réaliser d'hétérocaryons avec les mutants des autres isolats ou souches de la collection internationale. Ces isolats sont FOV2, FOV4, FOV5, FOV7 et FOV12 qui, ne sont donc assignés à aucun VCG. Trois souches de la collection internationale, donc référencées, apparaissent également comme H.S.I.

Les 12 autres isolats ivoiriens, à savoir, FOV1, FOV3, FOV6, FOV8, FOV9, FOV10, FOV11, FOV13, FOV14, FOV15, FOV16 et FOV17, ont pu être assignés à des VCG. La confrontation des isolats ivoiriens avec les souches testeurs de la collection internationale a permis d'assigner ces isolats à des VCG déjà identifiés : VCG 01110, 0112, 0115 et 0116.

Aucun n'appartient aux VCG 0111, 0113, 0114, 0117 auxquels des souches de la collection internationale sont assignés.

La collection internationale ne comportait pas de représentants des VCG 0118, 0119, 01111 et 01112. Dès lors, on ne peut dire, pour l'instant, si les isolats FOV9 (VCG 3), FOV10, FOV16 (VCG 2) et FOV 11, 13, 17 (VCG 1) appartiennent à l'un de ces VCG référencés ou bien sont des nouveaux groupes encore jamais révélés. C'est pourquoi les numéros arbitraires 1, 2 et 3 ont été attribués aux 3 VCG auxquels ces isolats sont assignés.

La mesure de la compatibilité végétative a mis en évidence une grande diversité puisque, si l'on ne prend pas en compte les 5 H.S.I., 12 isolats de la collection ivoirienne se répartissent dans 7 VCG distincts, à savoir, les VCG 0112, 01110, 0115, 0116, 1, 2 et 3.

### 2-2 Caractérisation génotypique

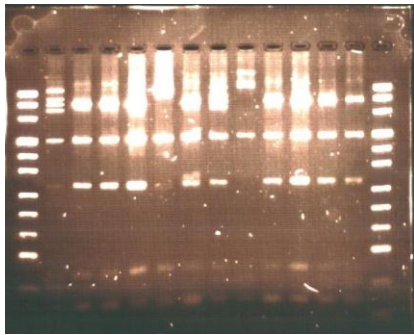
#### 2-2-1 Diversité des types IGS

Des amorces d'oligonucléotides PNFO et PN22 ont permis l'amplification d'un fragment d'ADN d'environ 1700 pb pour chacune des 46 souches. Les produits PCR ont été aliquotés et chaque aliquote a été digérée avec une des 7 enzymes de restriction (tableau XIII).

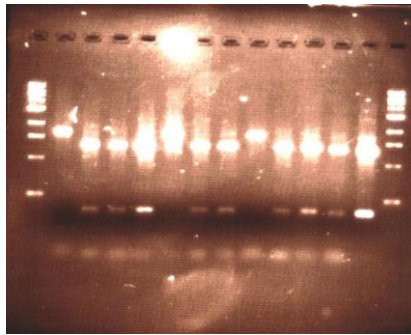
Pour chaque enzyme, 2 à 5 différents profils de restriction ont été obtenus pour les 46 souches de *F. oxysporum* (figure 16, tableau XIII). Sept combinaisons différentes des profils représentant 7 types IGS ont été identifiées dans notre collection (tableaux XIV et XV). La distribution des types IGS parmi les isolats n'est cependant pas uniforme. Le type IGS 14 est le plus fréquent et a été trouvé dans 19 des souches de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (FOV). Ces isolats ont des origines géographiques différentes et dispersés sur deux

continents, l'Afrique et l'Amérique du Nord. Les types IGS 3 et IGS 66, bien que moins représentés en termes de nombre d'isolats (7 pour chacun des types IGS), montrent également une diversité d'origine importante puisque les isolats présentant respectivement ces génotypes sont originaires d'Inde, de Chine et des Etats-Unis pour l'IGS 3, de Côte d'Ivoire et du Brésil pour l'IGS 66. A l'inverse, les 7 isolats présentant le type IGS 67 sont originaires de la partie Est du continent Africain et les 5 isolats présentant le type IGS 65 sont tous originaires de Côte d'Ivoire.

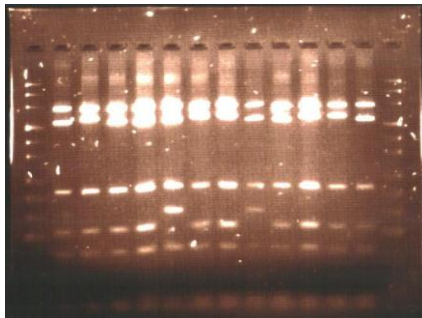
Les 19 isolats provenant de Côte d'Ivoire (dont 2 appartiennent à la collection internationale) sont distribués dans 4 types IGS (IGS 2, 14, 65 et 66). Deux types IGS en plus (IGS 21 et 67) ont été identifiés parmi les espèces africaines. Les 16 autres souches, en provenance des autres continents, sont réparties dans 4 types IGS dont 3 sont communs aux souches africaines. Par ailleurs, on note qu'au sein de notre collection étudiée, les types IGS 2 et 65 ont été seulement détectés parmi les souches de Côte d'Ivoire.



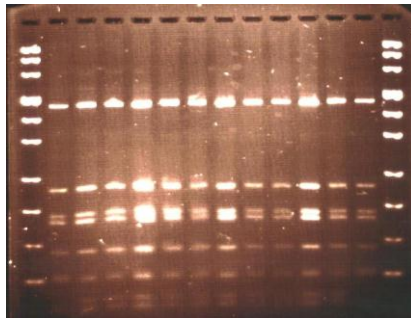
M8, souches FO47, 2 à 9, 12, 13, FO47, M8  
a/ Enzyme *Alu* I



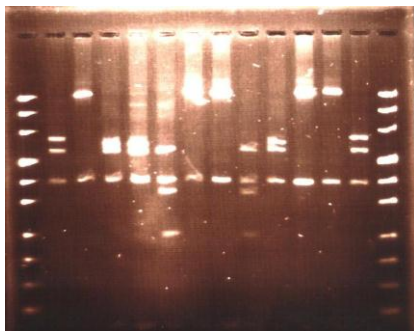
M1kb, souches FO47, 2 à 9, 12, 13, FO47, M1kb  
b/ Enzyme *Xho* I



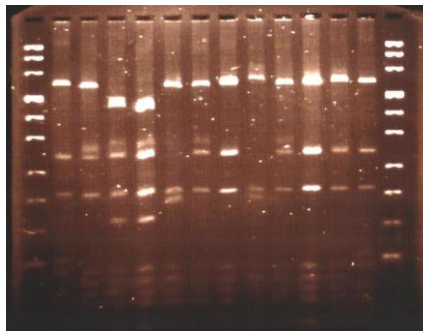
M8, souches FO47, 2 à 9, 12, 13, FO47, M8  
c/ Enzyme *Hinf* I



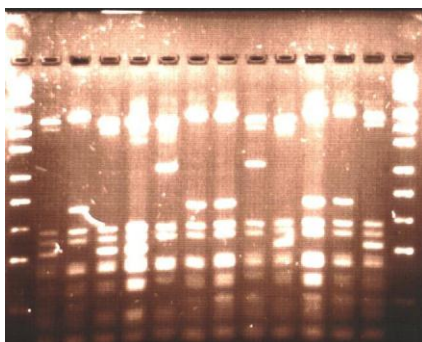
M8, souches FO47, 2 à 9, 12, 13, FO47, M8  
d/ Enzyme *Srf* I



M8, souches FO47, 2 à 9, 12, 13, FO47, M8  
e/ Enzyme *Rsa* I



M8, souches FO47, 2 à 9, 12, 13, FO47, M8  
f/ Enzyme *Msp* I



M8, souches FO47, 2à9, 12, 13, FO47, M8  
g/ Enzyme *Hae* III

Figure 16 : Profils de restriction de fragments d'ADNr de souches de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* amplifiés par PCR, digérés par des enzymes de restriction et analysés en gel d'agarose

a/*Alu* I, c/*Hinf* I, e/*Rsa* I : 3% d'agarose haute résolution, 1<sup>ère</sup> migration 42', 45', 50' à 100 V  
g/*Hae* III, f/*Msp* I, d/*Srf* I : 4% d'agarose haute résolution, 1<sup>ère</sup> migration 45', 50', 50' à 100 V  
b/*Xho* I : 1,5% agarose routine, une migration en 30' à 100 V  
NB : La lettre M désigne le marqueur utilisé

Tableau XIII : Tailles des fragments de restriction révélés dans l'analyse de l'IGS par P.C.R.-R.F.L.P.

Enzymes	Fragments (pb)
<i>AluI</i>	
1	850, 500, 270, 85
20	1115, 500, 85
21	690, 500, 270, 145, 85
<i>HaeIII</i>	
1	460, 145, 130, 115*, 100, 95*, 85, 80, 60, 55*
4	500, 175, 145, 130, 100, 95*, 85, 80, 70, 60, 55
8	460, 145, 130, 115, 100, 95*, 85, 80, 70, 60, 55*
22	460, 175, 145, 130, 115, 100, 95*, 85, 60, 55
30	460, 270, 145, 130, 100, 95*, 85, 60, 55*
<i>HinfI</i>	
2	700, 550, 210, 120, 80
5	700, 580, 210, 120, 80
20	700, 550, 210, 130, 80
26	700, 550, 210, 150, 80
<i>MspI</i>	
1	560, 275, 200, 105, 95, 85, 75, 60*, 50
6	560, 275, 200, 105, 95, 75, 60*, 50
25	440, 275, 200, 160, 105, 95, 85, 75, 60*, 50
26	560, 200, 185, 105, 95*, 85, 75, 60*, 50
27	625, 275, 200, 120, 105, 75, 60*, 50
<i>RsaI</i>	
1	610, 560, 400, 90
3	1200, 400, 90
9	650, 540, 400, 90
20	560, 400, 365, 245, 90
<i>ScrFI</i>	
1	460, 215, 180, 170, 135, 110, 90, 85, 60
21	460, 215, 180, 170, 135, 120, 85*, 60
<i>XhoI</i>	
1	1300, 370
2	1670

NB : Tailles déterminées en paires de bases à partir des gels R.F.L.P dont quelques profils sont présentés en annexe VII.

(\*) : Les chiffres marqués par un astérisque indiquent un doublet, c'est-à-dire une double bande à une valeur de taille donnée.

Tableau XIV : Types IGS et profils des isolats de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* révélés par l'analyse P.C.R. / R.F.L.P.

Types IGS <sup>a</sup>	Nombre d'isolats	Isolats <sup>b</sup> représentatifs	Profils de restriction des fragments d'IGS amplifiés et digérés avec des enzymes <sup>c</sup>							Distributions géographiques
			<i>AluI</i>	<i>HaeIII</i>	<i>HinfI</i>	<i>MspI</i>	<i>RsaI</i>	<i>ScrFI</i>	<i>XhoI</i>	
2	1	FOV9	1	1	2	1	1	1	1	Côte d'Ivoire
3	7	FOV19	1	1	2	1	1	1	2	Inde, Chine, U.S.A.
14	19	FOV1	1	4	5	1	3	1	1	Côte d'Ivoire, Benin, Tanzanie, Egypte, U.S.A.
21	1	FOV18	1	8	2	6	1	1	1	Benin
65	5	FOV3	1	1	2	25	1	1	1	Côte d'Ivoire
66	7	FOV5	20	30	26	26	20	1	2	Côte d'Ivoire, Brésil
67	7	FOV24	21	22	20	27	9	21	2	Soudan, Egypte, Israël

<sup>a</sup> Les types IGS représentent la combinaison des profils obtenus avec 7 enzymes de restriction. Les chiffres assignés aux IGS 2 – 21 suivent ceux des types antérieurement décrits

<sup>b</sup> Les isolats sont décrits au tableaux III et IV

<sup>c</sup> Les chiffres désignent les différents profils obtenus avec chacune des enzymes de restriction et suivent ceux antérieurement décrits



Il apparaît également que tous les isolats appartenant à un même VCG présentent le même type IGS ; par contre plusieurs VCG peuvent être regroupés dans un type IGS. Ainsi le type IGS 14 regroupe les isolats des VCG 0111, 0112, 1 et 4 HSI ; le type IGS 65, les isolats des VCG 0110, 0115 et un HSI, le type IGS 66, les isolats des VCG 0116, 2 et 2 HSI, et le type IGS 67 regroupant les isolats du VCG 0113 et un H.S.I. Les types IGS 2, 3 et 21 correspondent, chacun, respectivement, au seul VCG 3, 0114 et 0117 (tableau XV).

Les relations génétiques, entre les 7 types IGS, détectés au sein de *F. oxysporum*, mises ensemble avec d'autres types identifiés auparavant parmi les populations non pathogènes de *F. oxysporum*, ont été analysées (figure 17).

Les 7 types IGS détectés au sein de *F. oxysporum* sont distribués tout au long du dendrogramme (figure 17). Les types IGS 2, 3, 14 et 21 incluent, à la fois, des isolats de Fov et des isolats de *F. oxysporum* non pathogènes. L'analyse de variance moléculaire (A.MO.VA.) confirme cette diversité observée aussi bien dans la population ivoirienne que dans celle du reste du monde. En effet, la comparaison des 30 souches africaines, avec les 16 autres originaires de divers horizons du monde, donne un coefficient de différenciation génétique  $\Phi_{st} = 0,024$  avec  $p = 0,2937$ . Ce qui traduit une variance intra-population de 97,6 % et une variance inter-population de 2,4 %. Il en ressort, donc, que seul 2,4 % de la variabilité génétique sont dus à des différences entre populations, dans la comparaison Afrique / reste du monde. Cette valeur n'est cependant pas significative au vu de la valeur  $p$  de la probabilité qui reste bien supérieure à 0,05. Ce qui laisse conclure que la population africaine est aussi diversifiée que la population du reste du monde.

En comparant la population ivoirienne de 19 souches à celle du reste de l'Afrique (11 souches), on obtient une valeur de  $\Phi_{st}$  de 0,347 et  $p$  inférieur à 0,0010. Donc 34,7 % de la variabilité génétique sont dus à des différences entre les deux populations. Cette proportion est d'ailleurs significative ( $p = 0,0010$ ). En conclusion, la population ivoirienne est différente de celle du reste de l'Afrique.

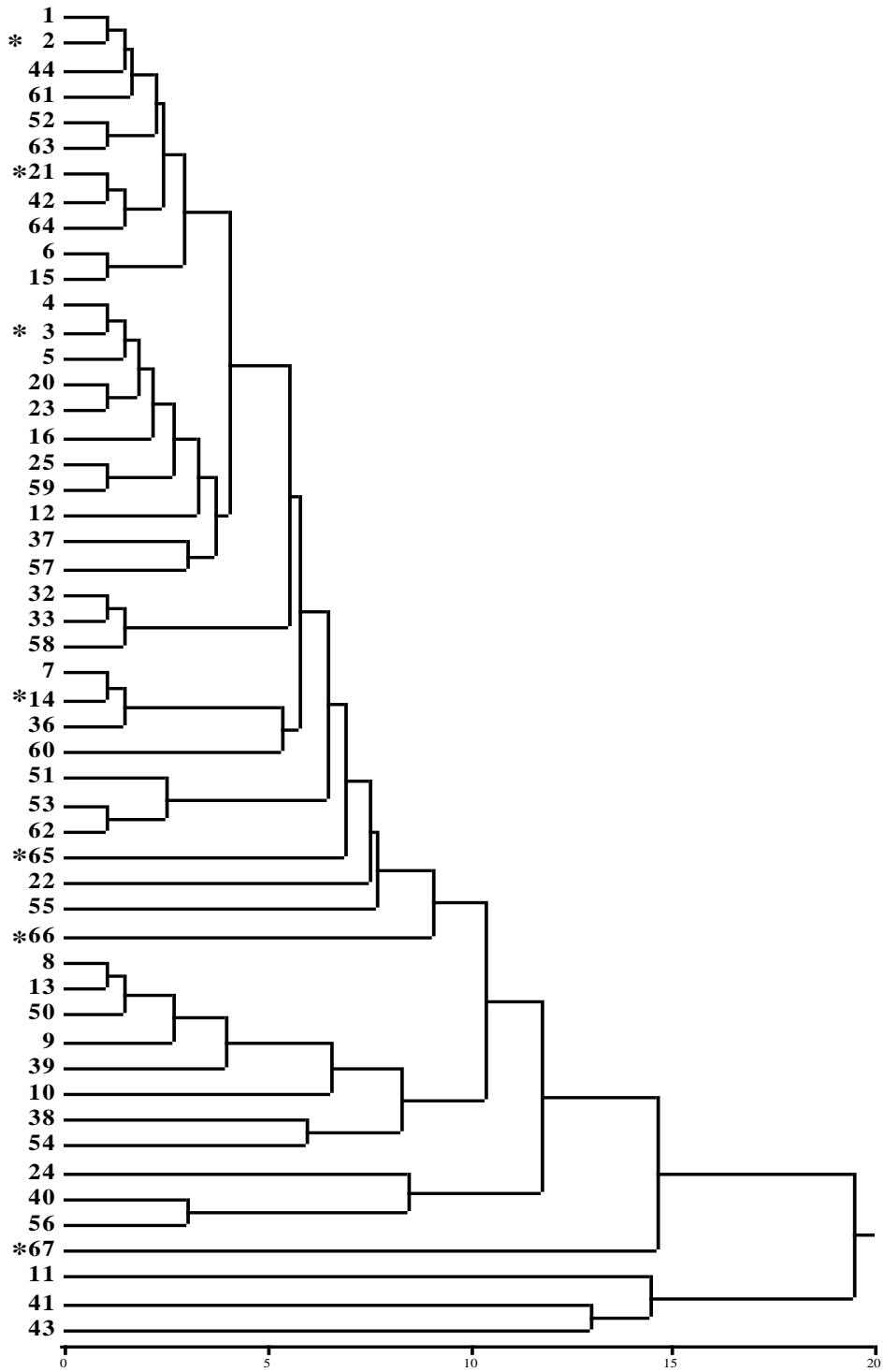


Figure 17 : Distribution des types IGS dans un dendrogramme

Le dendrogramme montre, ici, les différences de sites de restriction qu'il y a entre les types IGS identifiés dans les collections de *F. oxysporum*. Les types IGS marqués d'un astérisque incluent les isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. L'échelle indique le nombre de sites de restriction différents.

### 2-2-2 Fréquence des mating types

La caractérisation des mating types a révélé 32 isolats présentant le type 1 et 14 présentant le type 2 (tableau XV). La distribution de ce caractère est très déséquilibrée (69,57 % contre 30,43 %) au regard de l'ensemble des 46 souches de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* de l'ensemble de la collection étudiée. Ce déséquilibre est encore plus marqué au sein des isolats originaires des Etat Unis puisque 7 isolats sur les 8 de la collection présentent le mating type 1. Par contre, ce caractère est réparti à part presque égale au sein des 19 isolats ivoiriens. Les autres origines géographiques sont trop peu représentées pour que l'on évalue la distribution du caractère dans leurs isolats. Au sein d'un VCG, tous les isolats présentent le même mating type. Par contre, au sein du type IGS 14, des isolats présentent le mating type 1, d'autres le mating type 2, quand tous les autres types IGS ont un seul mating type, 1 ou 2.

Tableau XV : Groupes d'isolats de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* selon leurs caractéristiques génotypiques et phénotypiques

Groupes	Isolats (Races)	Types IGS	Mating type	VCG	Origines	Références
1	FOV1	14	1	0 112	Côte d'Ivoire (Bouaké, 1994)	ICIE, CBS 116611
	FOV6	14	1	0 112	Côte d'Ivoire (Bouaké; 1995)	ICIE, CBS 116616
	FOV21 (2)	14	1	0 112	USA	IMI 141148
	FOV23 (1)	14	1	0 112	Tanzanie	IMI 292248
	FOV26 (A)	14	1	0 112	Tanzanie	Fov11
	FOV45 (2)	14	1	0 112	USA	NRRL 25424
	FOV46 (2)	14	1	0 112	USA	NRRL 25425
	FOV36 (2)	14	1	0 112	USA	ATCC 16611
2	FOV20 (1)	14	1	0 111	USA	IMI 141146
	FOV35 (1)	14	1	0 111	USA	ATCC 16421
1 ou 2	FOV2	14	1	011-HSI	Côte d'Ivoire (Bouaké; 1995)	ICIE, CBS 116612
3	FOV11	14	2	1	Côte d'Ivoire (Tiéningboué, 1996)	ICIE, CBS 116867
	FOV13	14	2	1	Côte d'Ivoire (Tiéningboué, 1996)	ICIE, CBS 116622
	FOV17	14	2	1	Côte d'Ivoire (Tiéningboué, 1996)	ICIE, CBS 116626
	FOV44 (2)	14	2	1	Egypte	NRRL 25421
	FOV41 (1)	14	2	1	USA	NRRL25422
	FOV12	14	2	011-HSI	Côte d'Ivoire (Tiéningboué, 1996)	ICIE, CBS 116621
	FOV22	14	2	011-HSI	Tanzanie	IMI 195176
	FOV7	14	2	011-HSI	Côte d'Ivoire (Tiéningboué, 1995)	ICIE, CBS 116617
4	FOV19 (4)	3	1	0 114	USA	IMI 141112
	FOV29 (4) = FOV38	3	1	0 114	Inde	ATCC 16613
	FOV30 (4)	3	1	0 114	Chine	CHI-26
	FOV34 (4)	3	1	0 114	Inde	NRRL 25434
	FOV47 (4)	3	1	0 114	Inde	NRRL 25436
	FOV48 (4)	3	1	0 114	Inde	NRRL 25435
5	FOV14	65	2	0 1110	Côte d'Ivoire (Béoumi, 1996)	ICIE, CBS 116623
	FOV32 (A)	65	2	0 1110	Côte d'Ivoire	CIAN
6	FOV3	65	2	0 115	Côte d'Ivoire (Bouaké, 1995)	ICIE, CBS 116613
	FOV31 (A)	65	2	0 115	Côte d'Ivoire	CYSA
5 ou 6	FOV4	65	2	011-HSI	Côte d'Ivoire (Tiéningboué, 1994)	ICIE, CBS 116614
7	FOV15	66	1	0 116	Côte d'Ivoire (Béoumi, 1996)	ICIE, CBS 116624
	FOV39 (6)	66	1	0 116	Brésil	ATCC 36198
	FOV8	66	1	0 116	Côte d'Ivoire (Kounahiri, 1996)	ICIE, CBS 116618
8	FOV10	66	1	2	Côte d'Ivoire (Béoumi, 1996)	ICIE, CBS 116620
	FOV16	66	1	2	Côte d'Ivoire (Kounahiri, 1996)	ICIE, CBS 116625
7 ou 8	FOV25 (6)	66	1	011-HSI	Brésil	IMI 338126
7 ou 8	FOV5	66	1	011-HSI	Côte d'Ivoire (Tiéningboué, 1995)	ICIE, CBS 116615
9	FOV24 (5)	67	1	0 113	Soudan	IMI 325576
	FOV28 (3)	67	1	0 113	Israël	MH3
	FOV33 (3)	67	1	0 113	Egypte	NRRL 31667
	FOV37 (3) =FOV27	67	1	0 113	Egypte	ATCC 16612
	FOV40 (5)	67	1	0 113	Soudan	NRRL 25432
	FOV42 (5)	67	1	0 113	Soudan	NRRL 25431
	FOV43 3)	67	1	011-HSI	Egypte	NRRL 25429
10	FOV9	2	1	3	Côte d'Ivoire (Béoumi, 1996)	ICIE, CBS 116619
11	FOV18 (A)	21	2	0 117	Bénin	W. O'Neill

√ ICIE : nouveaux isolats de la collection ivoirienne étudiée ; ces isolats, après leur caractérisation, ont été enregistrés à la collection CBS (CentraalBureau voor Schimmelcultures, Baam, Netherlands) des Pays – Bas.

### III- RECEPTIVITE DES SOLS A LA FUSARIOSE VASCULAIRE

La mesure de la réceptivité des sols à la fusariose vasculaire repose sur l'expression de l'activité infectieuse d'agents de fusariose (*F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* et f.sp. *lini*) inoculés dans ces sols cultivés ensuite avec des plantes sensibles (coton et lin respectivement) à ces pathogènes. Les sols testés dans cette étude sont des échantillons provenant de Dijon, de Bouaké, de Daloa, de Béoumi et de Korhogo et inoculés à différentes doses d'inoculum (D0 : 0 inoculum, D1 :  $10^3$  propagules /g, D2 :  $2,5 \cdot 10^3$  propagules /g, D3 :  $5 \cdot 10^3$  propagules /g, D4 :  $10^4$  propagules /g) des agents infectieux. Trente deux jours après inoculation, c'est-à-dire à la dernière notation, la situation de mortalité dans les deux couples se présente différemment.

#### a- Couple cotonnier – *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (souche FOV 6)

Des mortalités importantes ont été observées et de façon indifférenciée, dans les différentes situations de ce test (sols et doses d'inoculum). Des dissections des tiges nous ont montré qu'il ne s'agissait pas, pour toutes les plantes mortes, de maladie due à FOV6. D'autres agents ont dû attaquer les plants de cotonniers comme ce fut le cas par exemple de *F. moniliforme* provoquant des nécroses aux racines.

Le test utilisant le couple cotonnier – FOV6 n'est donc certainement pas approprié pour apprécier la réceptivité des sols à la fusariose vasculaire du cotonnier.

#### b- Couple lin – *F. oxysporum* f.sp. *lini* (souche Folin3B5)

A l'issue du test, seul le sol de Daloa n'exprime pas de maladie (figure 18c) ; aucun plant de lin n'y a été affecté. Dans aucun des sols, le pathogène n'a causé la mortalité de toute la population de lin. Le sol de Dijon, déjà caractérisé par son niveau de résistance élevé, révèle, effectivement, une résistance à la fusariose du lin avec un faible pourcentage (2,08 %) de plants morts (figure 18a).

Il apparaît ici que dans deux sols, quelle que soit la dose de pathogène introduit, ce dernier ne peut exprimer son activité infectieuse dans l'environnement biotique et abiotique des sols. Il s'agit des sols de Daloa et de Dijon.

Les sols de Bouaké et de Beoumi, exprimant, *in situ*, la fusariose vasculaire du cotonnier, présentent l'expression de l'activité infectieuse de Folin3b5, causant la mort de plantes de lin, mais avec une intensité différente dans les 2 sols (figures 18b et 18d). De plus, la maladie n'est pas très sévère puisque seulement 4,17 à 16,67 % des plantes sont affectées.

Dans le sol de Bouaké, en particulier, l'activité pathogène est maximum à une dose de 5000 propagules /g, mais au delà de cette dose, il n'y a pas augmentation de la sévérité de la fusariose. Ce sol pourrait donc être caractérisé par une sensibilité modérée (ou une résistance faible) à la fusariose du lin.

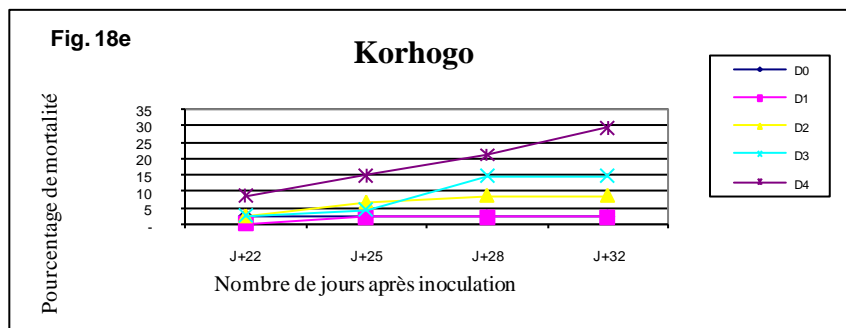
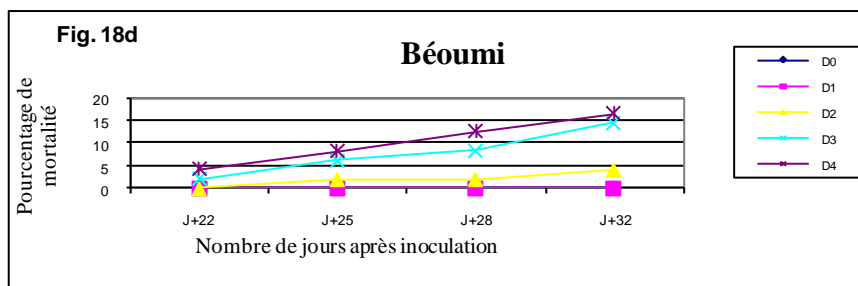
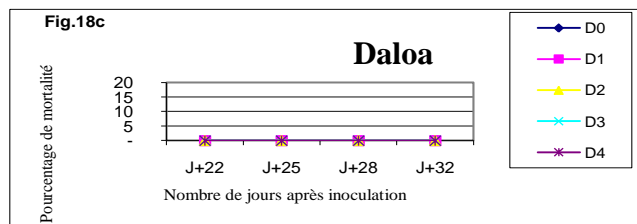
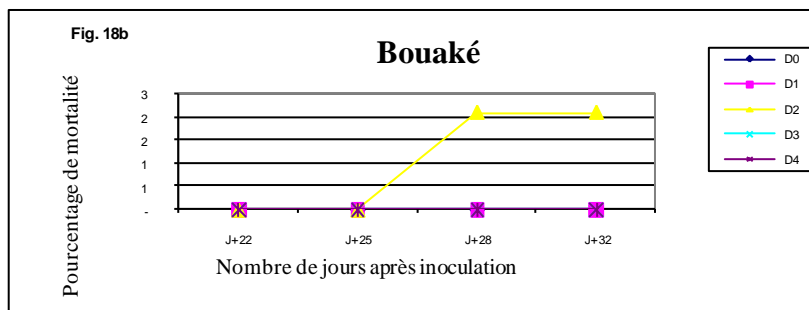
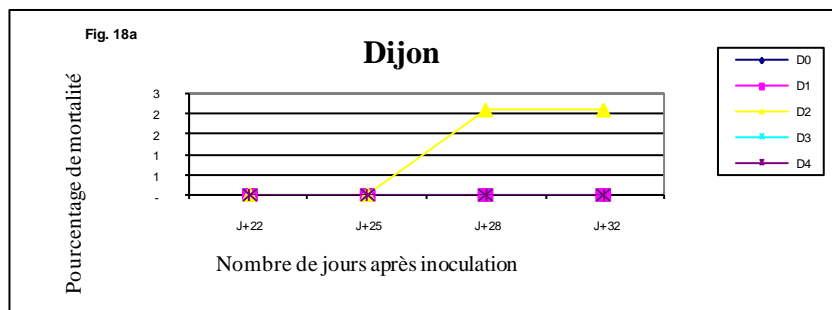


Figure 18 : Mortalité des plants de lin après inoculation à différentes doses de Foln3B5 dans 5 sols

D0 à D4 indiquent des doses croissantes d'inoculum de 0 à  $10^4$  propagules /g de sol

Dans le sol de Béoumi (figure 18d), comme dans celui de Korhogo (figure 18e) d'ailleurs, il y a un effet dose très marqué. La gravité de la maladie augmente avec la densité de l'inoculum introduit. Ces sols ne semblent pas capables de limiter l'expression de l'activité infectieuse de F0ln3b5. Ces sols peuvent donc être caractérisés par une sensibilité importante (une absence de résistance) à la fusariose vasculaire du lin, avec cependant une expression de la maladie plus forte dans le sol de Korhogo. La situation de ce sol de Korhogo est d'ailleurs surprenante car *in situ*, le sol de Korhogo n'exprime pas la fusariose vasculaire du cotonnier.

L'analyse des variances (à 5 %) montre qu'il y a bien un effet sol, un effet dose et également un effet interaction entre les deux éléments. La comparaison des moyennes deux à deux des valeurs des surfaces en dessous des courbes de progression de la maladie (A.U.D.P.C) dans l'ensemble des situations de ce test lin, nous indique différents groupes : les sols de Daloa et de Dijon, sans maladie ne sont pas différents significativement ; ils ne sont pas aussi différents de celui de Bouaké ; les sols de Béoumi et de Korhogo ne sont pas différents significativement ; cependant Daloa et Dijon sont significativement différents de Béoumi et de Korhogo.

L'effet dose est, comme attendu, progressif, de la dose D0 (D0 = 0 inoculum) à la plus importante concentration (D4 =  $10^4$  propagules /g de sol). Cette dernière est différente significativement des autres, sauf avec D3 (5.103 propagules /g de sol). Il en est de même pour D3 vis-à-vis des autres plus petites (à l'exception de D2 :  $2,510^3$  propagules / g de sol). Les doses D0 (0 inoculum), D1 ( $10^3$  propagules / g de sol) et D2 ( $2,510^3$  propagules / g de sol) forment un groupe dont les éléments ne sont guère différents entre eux (annexe VI).

## IV- ELEMENTS PHYSICO-CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES DES SOLS

### 4-1 Eléments physico-chimiques

Les résultats d'analyses obtenus (annexe VII) ont été appréciés par rapport aux critères fertilité ou stabilité des sols. Il en ressort que les sols de la zone de savane de Korhogo (zone 1) sont, le plus souvent, riches en éléments grossiers. A Torgokaha, la proportion de ceux-ci est particulièrement élevée (74 %). Au contraire, dans la zone 4 (Bouaké et Béoumi), les sols en sont dépourvus. Les deux autres zones présentent des situations intermédiaires, les proportions sont de 0 % à 34 % pour la zone 2 et de 0 à 21 % en zone 3.

La granulométrie des sols est sableuse dans toute la zone 2, sablo-argileuse en zone 3 ; les deux autres restantes étant couvertes soit de sols sableux (Béoumi en zone 4, et Torgokaha en zone 1) soit de sols sablo-argileux. Les limons sont partout en faibles proportions et les sables sont dominés par leur fraction grossière.

Sur le plan chimique, la réaction du sol est, dans la majorité des cas, proche de la neutralité. Les valeurs de pH sont, en effet, comprises entre 5,9 et 7. Il n'y a qu'à Bouaké que la réaction est acide (pH = 5,9).

Les taux de carbone sont, dans l'absolu, élevés. Ces taux ne sont inférieurs à 1 % que dans trois sols à savoir Kounahiri, Tiéningboué (P.O.) et Béoumi tous soumis à l'influence du lac de Kossou. En revanche, les taux correspondants en azote total sont faibles (valeurs comprises entre 0,56 et 1,68). Il en résulte un rapport C/N élevé (10 à 17).

Les quantités de phosphore total se situent dans une large gamme de valeurs (302 ppm à Béoumi – 1455 ppm à Bouaké). Elles sont particulièrement fortes dans les sols de Bouaké et de Torgokaha (1051 ppm).

La capacité d'échange cationique (C.E.C.) varie relativement peu au sein d'une même zone. Cependant, d'une zone à une autre, l'écart moyen est quelque fois accusé comme c'est le cas par exemple entre les zones 1 et 2 (7,16 contre 3,73 méq/ 100g).

La saturation par les bases échangeables de la C.E.C. est en moyenne élevée (de 38 à 101 %). Il n'y a que dans le sol de Bouaké où le taux de saturation est faible (38 %). Ce qui explique, naturellement, que ce soit dans ce même sol que le pH soit le plus faible.

Les caractéristiques intrinsèques des sols, comme la granulométrie et la taille du complexe absorbant, sont assez bien corrélées (correlation significative à 5%, coefficient de correlation à 0,61). D'autres combinaisons sont aussi corrélées significativement : la granulométrie et le rapport C/N, avec un coefficient de correlation de 0,91 à 5%) ; le volume de saturation du complexe absorbant et le pH (5 %, coefficient de correlation à 0,65). La variation des paramètres chimiques (phosphore total et bases échangeables) par rapport à l'une ou l'autre de ces caractéristiques est, en revanche, aléatoire. Les variations traduisent les différences observables dans le suivi de la fertilité d'une parcelle à l'autre.

Dans un système intensif, comme c'est le cas en Côte d'Ivoire, la nutrition de la plante apparait plus influencée par les rapports pondéraux entre les éléments minéraux que par les taux absolus de ceux – ci. De ce fait, nous allons apprécier la fertilité des sols sur la base des rapports :  $N / P_2O_5$  et  $K / (Ca + Mg + K)$  avec leur optimum théorique de 2 à 4 et de 3, respectivement. La stabilité du sol est évaluée par le rapport matière organique / (argile + limon fin). Au-delà de 9, pour ce rapport, les sols sont considérés comme stables. En considérant donc l'ensemble des zones et en prenant comme élément prépondérant les rapports pondéraux, les tendances s'orientent comme l'indique le tableau XVI.

Il en ressort que la plupart des sols étudiés sont en manque d'azote (N) sauf le sol de Daloa-Bribouo où c'est le phosphore qui est en moins. Pour les rapports  $K / (Ca + Mg + K)$ , on note que les localités de la zone 1 (zone de savane de Korhogo) et une localité (Tchéblégué) de la zone 3 ont des déficits en potassium (K) alors que la station C.N.R.A. de Bouaké présente, elle, un déficit en Ca + Mg.

Pour la stabilité des sols, on note que la plupart des localités sont stables sauf deux localités de la zone de savane (Dokaha et Zanakpokaha).



Tableau XVI : Rapports pondéraux des éléments indicateurs de fertilité ou de stabilité

Zones	Localités	N/P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> x 100	K/(Ca + Mg + K) x 100	M.O./(A+Lf)x100
Zone 1 : sans fusariose	Torgokaha	0,8 (-N)	2,4 (-K)	12
	Dokaha	1,4 (-N)	2,3 (-K)	6,0 (-M.O.)
	Zanakpokaha	1,6 (-N)	1,5 (-K)	8,0 (-M.O.)
Zone 2 : présence de la fusariose	Kounahiri	1,4 (-N)	4,4	9,4
	Dabakalatou	1,6 (-N)	4,4	13,0
	P.O. Tiéningboué	1,0 (-N)	5,18	12,0
	Tiéfindougou	1,5 (-N)	3,3	14,0
Zone 3 : sans fusariose	Gbétitapia	4,0	3,1	12,0
	Dalao - Bribouo	5,6 (-P)	3,6	12,6
	Tchébrégué	3,1	1,7 (-K)	15,4
Zone 4 : présence de la fusariose	Bouakté - CNRA	0,7 (-N)	5,0 (-Ca et -Mg)	8,6
	Bodokro-Béoumi	1,8 (-N)	15,7	10,7

NB : “-” indique un manque et “+” une valeur au-dessus du seuil du rapport inscrit en tête de colonne.

- Optimum du rapport N/P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> X 100 : 2-4

- Optimum du rapport K/(Ca + Mg + K) X 100 : 3

- Seuil du rapport M.O./(A+Lf)X100 : sols stables au-delà de 9

Tous ces éléments, mis ensemble, indiquent clairement que les zones à fusariose sont toutes déficitaires pour l'azote (N). Il apparaît aussi que la zone de Korhogo, encore indemne de fusariose, mais connue pour être soumise à de fortes pressions culturelles, présente d'importants déficits, notamment pour N, K, et M.O. et donc un risque potentiel pour une manifestation de la maladie.

Une analyse discriminante a été faite pour déterminer les variables qui discriminent les sols à fusariose des sols résistants. Celle-ci prend en compte tous les éléments physicochimiques analysés. Le test d'égalité des moyennes des groupes (annexe VI) montre que l'argile, l'azote, la capacité d'échange cationique (C.E.C.) et le magnésium (Mg) discriminent significativement (au seuil de 5 %) les sols sensibles des sols résistants.

#### 4-2 Analyse quantitative des microflores telluriques

Basée sur le principe des C.F.U. (unité formant une colonie), cette analyse a porté sur trois types de microorganismes : la microflore bactérienne totale, la microflore fongique totale et la microflore fusarienne des quatre types de sol de Côte d'Ivoire étudiés (Bouaké, Daloa, Béoumi, et Korhogo).

##### 4-2-1 Microflore bactérienne totale

La densité bactérienne, dans le sol de Bouaké, est équivalente à celle du sol de Daloa, mais est significativement plus élevée ( $p = 0,05$ ) que celle dans les sols de Béoumi et de Korhogo (figure 19). Les densités bactériennes des sols de Béoumi et Korhogo ne sont pas significativement différentes. On peut regrouper les sols 2 à 2, Bouaké et Daloa montrant une capacité biotique, pour les bactéries, supérieure à celle montrée par les sols de Béoumi et Korhogo.

On ne note pas une relation nette entre les quantités de colonies bactériennes et la présence de la maladie *in situ*.

##### 4-2-2 Microflore fongique totale

La densité fongique est équivalente ( $p = 0,05$ ) dans les sols de Bouaké et de Korhogo et est significativement supérieure à celle mesurée dans les sols de Daloa et de Béoumi, ces 2 derniers présentant la même densité fongique (figure 20). Comme pour les bactéries, on peut regrouper les sols 2 à 2, mais ce regroupement est différent de celui effectué précédemment: Bouaké et Korhogo présentent une forte capacité biotique pour les champignons, supérieure à celle montrée par les sols de Daloa et Béoumi.

Bouaké a une capacité d'accueil élevée pour les bactéries et les champignons alors que Béoumi a une capacité d'accueil faible pour les 2 communautés microbiennes.

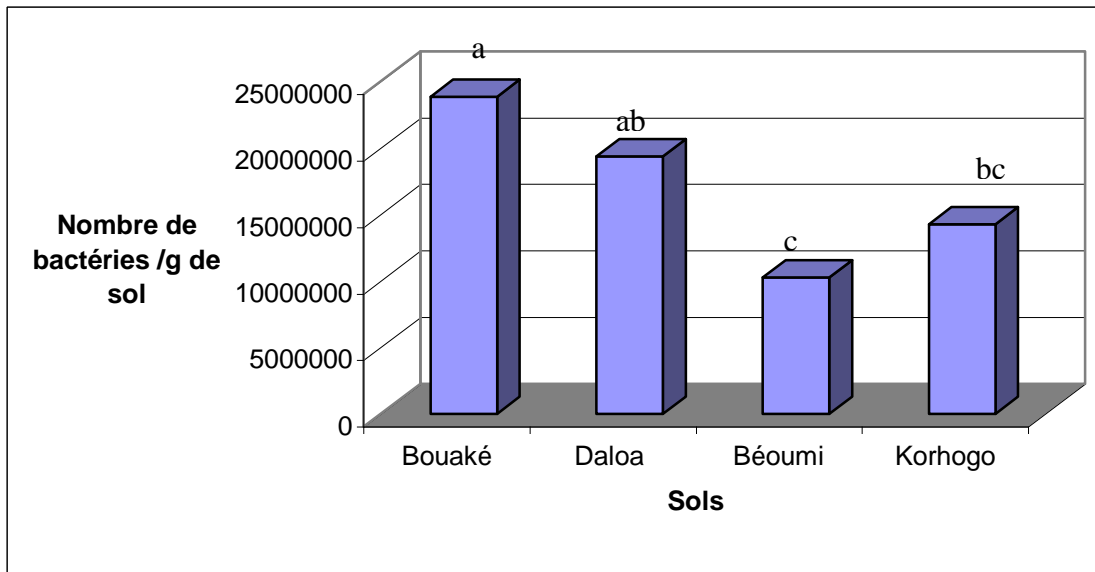


Figure 19 : Nombre de bactéries par gramme de sol des différents sols analysés

Les colonnes marquées de la même lettre ne sont pas significativement différentes

**Erreur ! Liaison incorrecte.**

Figure 20 : Nombre de champignons par gramme de sol des différents sols analysés

Les colonnes marquées de la même lettre ne sont pas significativement différentes

b

#### 4-2-3 Microflore fusarienne

Le sol de Daloa est le plus riche en flore fusarienne ; viennent ensuite ceux de Béoumi de Bouaké et de Korhogo (figure 21). En considérant la flore fusarienne totale, on note une différence significative entre les sols (à 5 %) ; sauf entre les sols de Bouaké et de Korhogo (tableau XVII).

Principalement, 4 espèces de *Fusarium* sont identifiées : *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. roseum* et *F. redolens*. D'autres *Fusarium*, n'appartenant pas à ces espèces dominantes, ont également été détectés, mais à des fréquences très faibles (627 C.F.U. /par g de sol sec à Bouaké, 28,2 à Daloa, 195 à Béoumi et 49,7 à Korhogo) et leurs espèces d'appartenance n'ont pas été identifiées.

La comparaison des densités respectives des quatre espèces identifiées dans les différents sols montre que :

■ *F. oxysporum*, dont une des formes spéciales cause la trachéomycose du cotonnier, est plus importante dans le sol de Béoumi (les quantités sont significativement plus grandes que dans les autres sols) ; suivent, après, les sols de Bouaké, de Korhogo et enfin celui de Daloa. Les quantités de *Fusarium* sp., dans les deux derniers sols, ne sont pas différentes significativement (tableau XVII, annexe VI). Les deux premiers sols (Béoumi et Bouaké) sont ceux dans lesquels se manifeste la fusariose vasculaire du cotonnier au champ.

■ La densité de *F. solani* est significativement plus importante dans le sol de Daloa que celles dans les autres sols. Par contre, le classement des autres sols (Bouaké, Korhogo et Béoumi) sur la base de la densité des *F. solani* ne montre pas de différence significative (tableau XVII, annexe VI).

■ Les quantités de C.F.U. de *F. roseum* sont assez faibles comparées à celles des deux premières espèces. Les densités plus élevées dénombrées dans les sols de Béoumi et Korhogo ne sont pas significativement différentes l'une de l'autre, mais elles sont supérieures à celles observées dans les 2 autres sols qui elles-mêmes ne sont pas différentes (tableau XVII, annexe VI).

■ On note, en plus de ces trois espèces, *F. redolens*, seulement isolée dans les sols de Béoumi et de Korhogo (avec des quantités respectives et significativement différentes de 194 et 44,2 C.F.U. / g de sol).

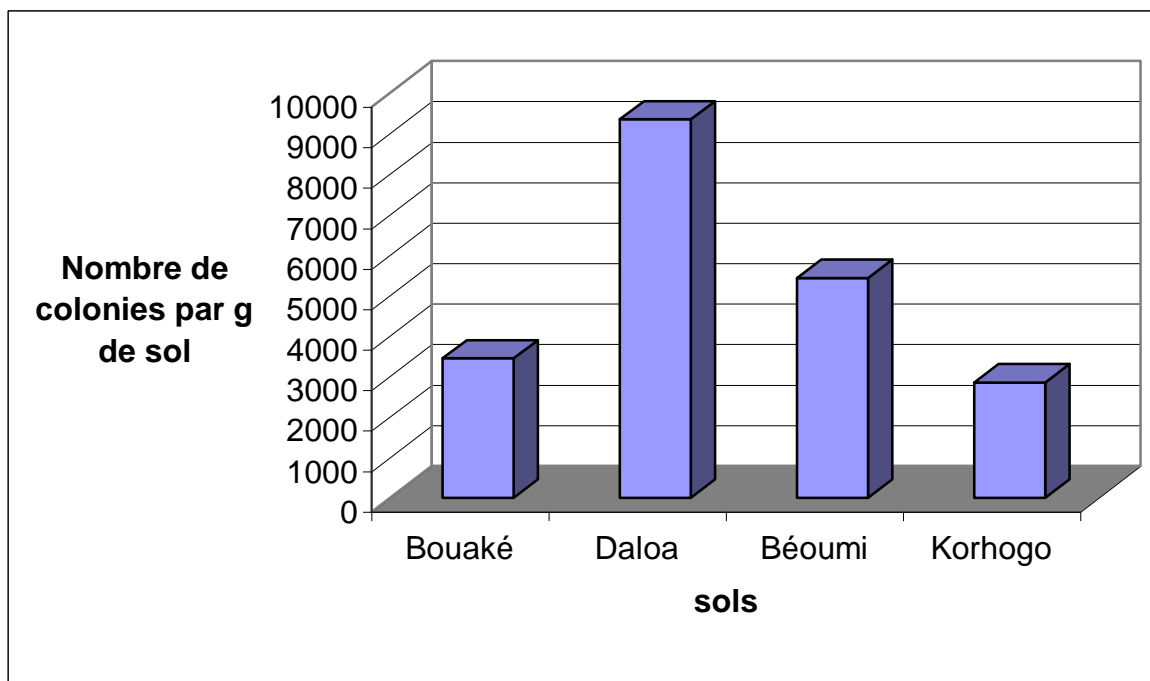


Figure 21 : Quantité totale de *Fusarium* par gramme de sol sec analysé

Tableau XVII : Comparaison des quantités moyennes des flores fusariennes des sols, selon les localités de prélèvement et selon des espèces identifiées

	<i>Fusarium</i> Total	<i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i>	<i>Fusarium</i> <i>solani</i>	<i>Fusarium</i> <i>redolens</i>	<i>Fusarium</i> <i>roseum</i>
Bouaké	3450,00a	330,00a	2286,67a	0,00a	132,67a
Daloa	9353,33b	127,00b	9023,33b	0,00a	160,00a
Béoumi	5440,00c	2950,00c	1756,67a	194,00b	334,33b
Korhogo	2856,67a	315,00a	2133,33a	44,20c	318,00b

- ✓ Dans une même colonne, les chiffres marqués de la même lettre ne sont pas significativement différents, au seuil de 5 %.
- ✓ Ce tableau indique les espèces de *Fusarium* identifiées. D'autres populations isolées et quantifiées et dont les espèces d'appartenance n'ont pu être identifiées ne sont pas concernées par cette comparaison.

#### 4-2-4 Pathogénicité des isolats de *F. oxysporum* issues des sols de Côte d'Ivoire

La pathogénicité des isolats a été obtenue après inoculation de 31 isolats du sol de Bouaké, 6 du sol de Daloa, 10 du sol de Béoumi et 11 du sol de Korhogo à des plants de cotonniers sensibles de la variété GL7 plantés en pot individuel dans la terre désinfectée des serres (à 1000 spores par ml de sol). Ce test, dans ces conditions, a permis, 40 jours après inoculation, de répartir les isolats dans 5 classes, selon leur agressivité vis-à-vis du cotonnier et la mortalité subséquente de la plante :

- classe 1 : 0 % de mortalité ;
- classe 2 : 0 – 25 % de mortalité ;
- classe 3 : 25 – 50 % de mortalité ;
- classe 4 : 50 – 75 % de mortalité ;
- classe 5 : 75 – 100 % de mortalité.

La classe 1 regroupe les isolats n'ayant provoqué aucune maladie. Cette classe comprend des isolats issus des 4 sols: les 6 isolés du sol de Daloa, les 11 de Korhogo, 8 de Bouaké et 2 de Béoumi (figure 22, annexe VIII).

A l'opposé, la classe 5 regroupe les souches les plus agressives ; elles sont originaires des sols de Bouaké et de Béoumi. Néanmoins, ces sols présentent des isolats dans chacune des 5 classes, c'est-à-dire des isolats non pathogènes et des isolats pathogènes dont le niveau d'agressivité est variable.

Les isolats pathogènes sont issus des sols de Bouaké et de Béoumi, exprimant déjà la fusariose vasculaire, *in situ*.

Par ailleurs, la souche Fo47, témoin non pathogène, n'a provoqué aucun symptôme et demeure donc non pathogène sur cette autre plante qu'est le cotonnier, du moins sur la variété GL7.

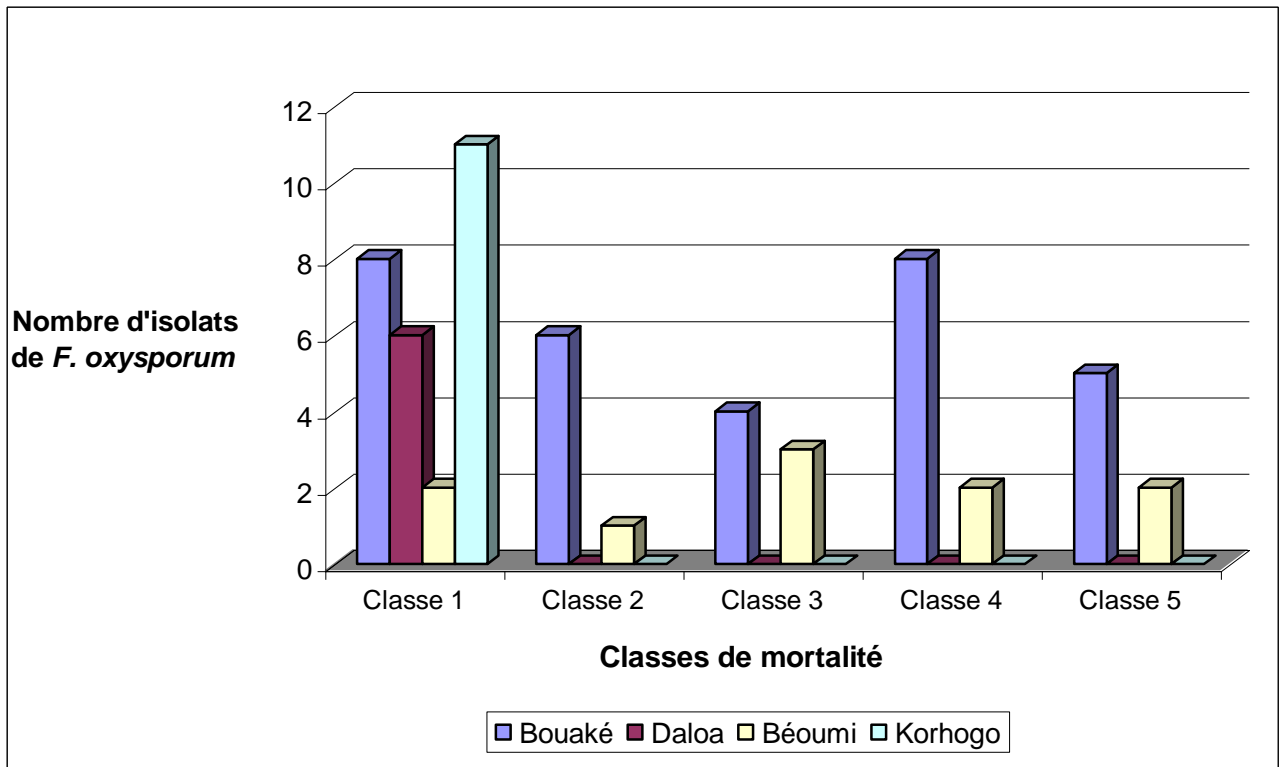


Figure 22 : Fréquence des isolats de *F. oxysporum* et de leurs origines en fonction des classes de mortalité

#### 4-3 Activité biologique des sols

Deux types de mesure d'activité ont été effectués sur les sols : l'activité déshydrogénase qui est une mesure globale basée sur la respiration de la microflore totale du sol (bactéries, champignons, algues, protozoaires, etc) et l'activité métabolique Biolog (aptitude et efficacité à utiliser des substrats) des communautés bactériennes des sols. Cette mesure peut révéler des groupes fonctionnels chez les bactéries.

##### 4-3-1 Activité déshydrogénase

Les quantités de formazan mesurées (figure 23), selon différentes conditions (apport de glucose ou non et temps d'incubation), nous ont donné différents résultats.

Deux types d'activité déshydrogénase ont été mesurés dans les différents sols. Une activité déshydrogénase de base qui correspond au métabolisme de base de la microflore. Cette activité a été mesurée directement sur chacun des échantillons de sol. La seconde mesure a été effectuée sur des échantillons de sols qui ont été amendés avec du glucose (1mg / g de sol), substrat assimilable par toute la microflore. Cette mesure révèle la réactivité de la microflore vis-à-vis d'un substrat.

Les mesures ont mis en évidence des différences d'activité importantes selon les sols.

##### ➤ Activité déshydrogénase de base des sols

La mesure de l'activité déshydrogénase de base des sols, c'est-à-dire celle mesurée sans stimulation, par un apport de glucose, est particulièrement faible (3,46 ; 1,60 ; 1,19  $\mu$ l H/g de sol) dans les sols de Bouaké, Béoumi et Korhogo. Cette activité reste faible même si les échantillons sont placés 24 heures en incubation à 25 °C ; ce qui suggère que la microflore est en état de stase métabolique (figure 24). A l'inverse, la microflore du sol de Daloa révèle une activité déshydrogénase de base significativement plus élevée que celle des autres sols (annexes VI). Cette activité n'est cependant pas modifiée par une incubation supplémentaire de 24 heures à 25 °C.

##### ➤ Réactivité métabolique de la microflore des sols

L'apport de glucose dans les échantillons de sols a induit une réponse métabolique de la microflore plus forte qu'en l'absence de cet apport (figure 25). Néanmoins, le classement des sols, en fonction de leur aptitude à réduire le T.T.C. en T.T.F., établi précédemment, est conservé. On note une forte activité dans le sol de Daloa, sol forestier dans lequel il n'y a pas encore de fusariose vasculaire. Ensuite, viennent les sols de Bouaké, de Béoumi (sols à fusariose) et enfin le sol de Korhogo où nous n'avons pas observé de fusariose *in situ*.



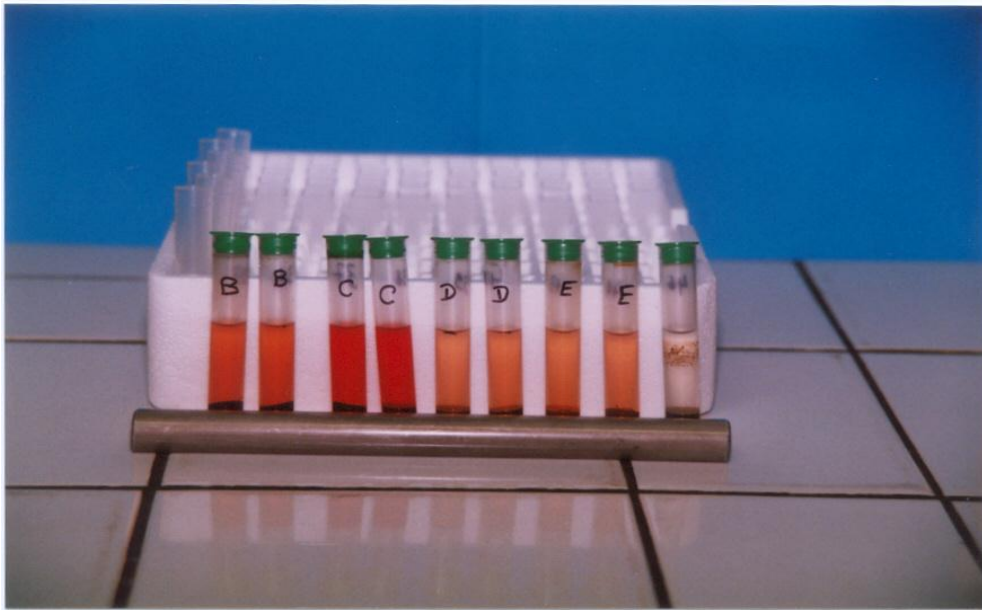


Figure 23 : Tubes présentant la couleur du formazan rouge, à différentes teintes, exprimant l'activité respiratoire des différents sols

B = Bouaké, C= Daloa, D= Béoumi et E=Korhogo, le dernier tube représente le témoin sans TTC / TTF

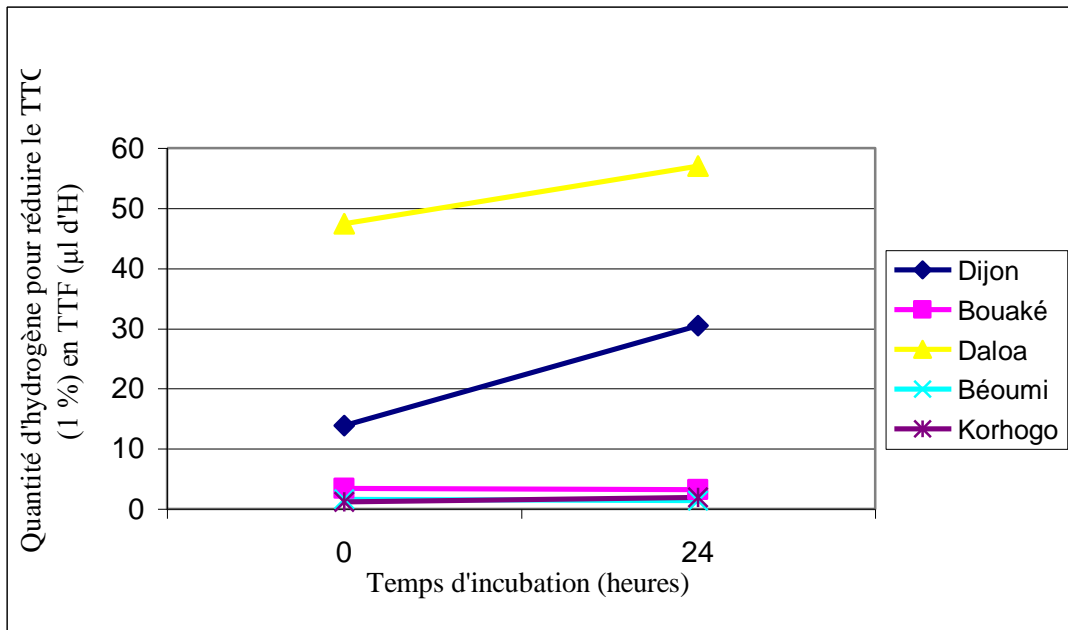


Figure 24 : Activité déshydrogénase des sols, sans glucose, à 0 heure et 24 heures d'incubation

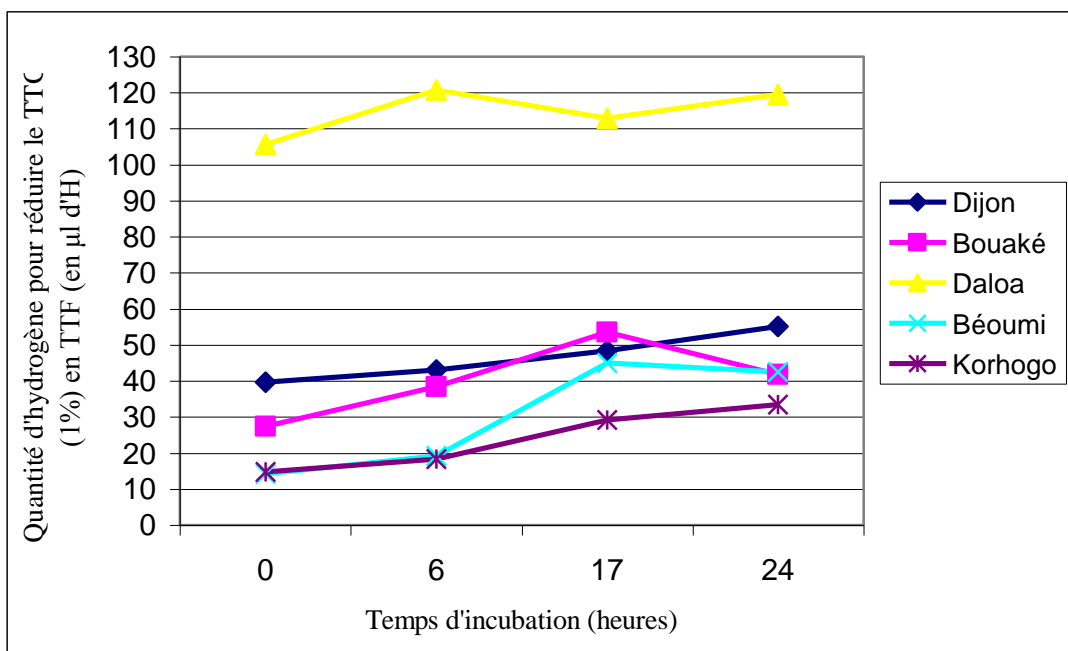


Figure 25 : Activité déshydrogénase des sols après apport de glucose à différents temps d'incubation

La courbe de mesure de l'activité déshydrogénase, dans le sol de Daloa, atteint son optimum à 6 heures d'incubation à 25 °C ; ce qui explique une utilisation plus ou moins rapide du glucose par les micro-organismes de ce sol. Le métabolisme de base de la microflore de ce sol était élevé, mais en outre, la réactivité de la microflore, vis-à-vis du substrat, est également élevée.

Les courbes de mesure de l'activité déshydrogénase, dans les sols de Bouaké et de Béoumi ont, à peu près, les mêmes allures et atteignent leur optimum à 17 heures d'incubation. L'activité de dégradation du substrat, dans ces sols, est lente par rapport à celle du sol de Daloa. Le métabolisme de base était faible ; la réactivité vis-à-vis d'un substrat facilement assimilable (le glucose) est très faible également.

L'activité dans le sol de Korhogo est encore plus faible et lente. Après 24 heures d'incubation, la courbe croît et n'a donc pas atteint son optimum.

Des mesures supplémentaires ont été faites sur les sols à forte activité (Daloa) , et à faible activité (Korhogo) ainsi que sur le sol de Dijon considéré comme résistant à la fusariose vasculaire, afin de déterminer une éventuelle relation entre l'activité globale des sols et leur réceptivité à la fusariose.

Le métabolisme de base (sans apport de glucose) des sols de Daloa et de Korhogo présente les mêmes valeurs dans les deux mesures. Le sol de Dijon montre une activité déshydrogénase intermédiaire à celles des sols ivoiriens (figure 24). L'apport de glucose augmente, de manière significative, l'activité déshydrogénase des 3 sols comparés, mais on retrouve le même classement qu'en absence de glucose (figure 25). Le sol de Daloa héberge la microflore la plus active, celui de Korhogo, la moins active et le sol de Dijon, une microflore dont l'activité, bien qu'intermédiaire, est cependant plus proche de celle mesurée dans le sol de Korhogo que dans celui de Daloa.

Des analyses de variance (à 5 %) ont été faites en considérant deux variables : le sol comme élément prépondérant et les temps d'incubation. Avec apport de glucose à 0, 6, 17 et 24 heures d'incubation, on a les résultats suivants : une différence significative entre les sols, un effet temps d'incubation et un effet interaction sol – temps d'incubation. La comparaison des moyennes, deux à deux, de Fisher révèle une différence entre les sols de Daloa et les autres, entre ceux de Korhogo et de Bouaké. Il n'y a pas de différence, par exemple, entre Korhogo et Béoumi (annexes VI). Il est montré aussi un effet amendement. En d'autres termes, il y a une activité biologique significativement plus importante lorsqu'on apporte le glucose, aussi bien à 0 heure que lorsqu'on incube pendant 24 heures.

#### 4-3-2 Activité bactérienne mesurée par la méthode Biolog

Le profil métabolique des communautés bactériennes des sols de Bouaké, de Daloa, de Béoumi et de Korhogo a été déterminé par la méthode Biolog (figure 26).

Les analyses ont été effectuées en fonction de plusieurs paramètres écologiques selon les objectifs de discrimination des sols, en rapport avec l'apparition de la fusariose vasculaire.

##### ➤ Analyse des valeurs moyennes d'activité des différents sols

Les valeurs d'A.W.C.D. sont obtenues par la mesure du développement moyen de la coloration rouge, sur l'ensemble des 96 puits, au cours du temps. On note, ici (figure 27), une valeur d'A.W.C.D. plus élevée dans le sol de Daloa jusqu'à 60 heures d'incubation. Au delà de 60 heures, la valeur d'A.W.C.D. représentant l'activité métabolique de la communauté bactérienne du sol de Korhogo devient plus élevée que celle du sol de Daloa. Ces deux courbes restent au-dessus des autres représentant les activités métaboliques des communautés bactériennes des sols de Bouaké et de Béoumi. L'A.W.C.D. du sol de Béoumi reste, toutefois, la plus basse, traduisant ainsi une faible activité biologique de la communauté bactérienne de ce sol.

Cette analyse montre bien, à 60 heures d'incubation, une discrimination nette des sols en fonction de l'apparition de la maladie. La présence de la maladie peut être liée à une faible activité bactérienne et son absence liée à une forte activité bactérienne.

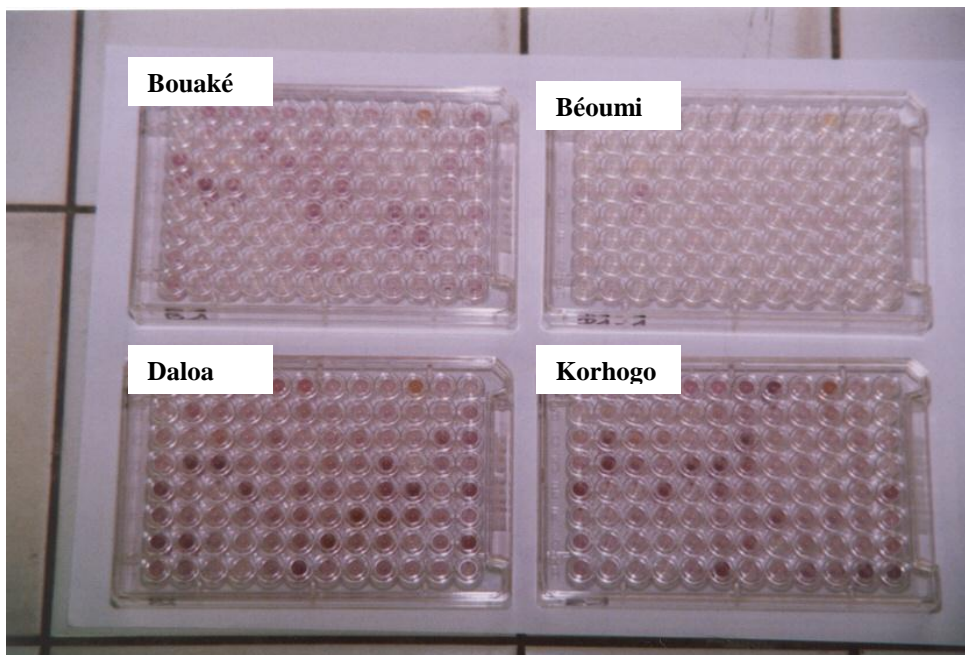


Figure 26 : Plaques Biolog présentant la couleur du formazan rouge, à différentes intensités, exprimant l'activité métabolique bactérienne en fonction du substrat inoculé

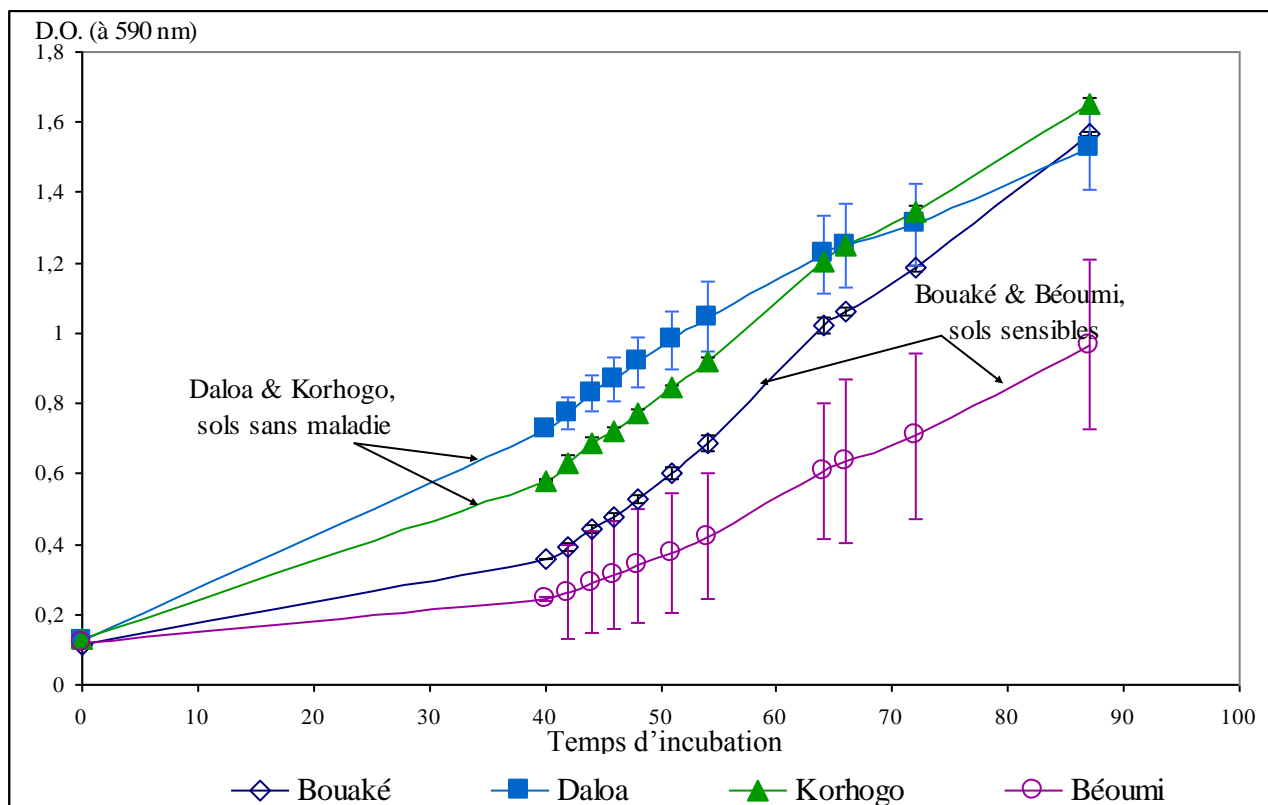


Figure 27 : Courbes d'évolution de l'A.W.C.D. des sols de Bouaké, de Daloa, de Béoumi et de Korhogo

A.W.C.D. : "Average Well Color Development" (développement moyen de la coloration rouge sur l'ensemble des puits d'une plaque Biolog).

## ➤ Groupes fonctionnels

Ils sont définis par rapport à l'activité biologique, sur un substrat donné. Les substrats contenus dans les puits des plaques sont regroupés en 6 catégories qui sont : amines/amides, amino-acides, carbohydrates, acides carboxyliques, polymères, "miscellaneous". L'analyse est faite selon le substrat et selon le type de sol. Les résultats sont illustrés par des figures relatives à ces familles de substrats (figures 28 à 33).

La figure 28 nous donne l'allure des activités des 4 sols, en considérant le substrat amines/ amides. On note, ici, que les activités évoluent, dans les différents sols, de façon presque linéaire. Le sol de Daloa est le plus actif ; cela signifie que les bactéries y ont une plus forte aptitude à utiliser efficacement les amines/ amides. On a ensuite les sols Korhogo, de Bouaké, et de Béoumi.

Les bactéries du sol de Daloa sont également très efficaces vis-à-vis des amino-acides, l'autre groupe biochimique comprenant des fonctions azotées, (figure 29) ; viennent, après, les sols de Korhogo, de Bouaké, et de Béoumi comme dans le cas précédent.

Cette structuration fonctionnelle des activités métaboliques est retrouvée vis-à-vis des acides carboxyliques pendant les premières heures d'incubation (72 heures) (figure 31). On observe, là, une ségrégation très nette entre les groupes de sols sans maladie (au dessus) et ceux avec maladie en dessous.

Pour les activités sur les carbohydrates, la situation change ; les bactéries du sol de Korhogo se montrent les plus compétentes sur ce type de substrat ; suivent celles des sols de Bouaké, de Daloa et de Béoumi (figure 30).

Sur le groupe des polymères, on note, à nouveau, que ce sont les communautés bactériennes de Daloa et Korhogo qui sont globalement les plus efficaces, mais il apparaît aussi que celles de Bouaké et Korhogo sont très similaires au niveau fonctionnel vis-à-vis de ce groupe de substrats complexes (figure 32). On remarquera, également, que la plupart des courbes ont une évolution croissante sans atteindre le plateau,

L'activité bactérienne sur le groupe divers ("miscellaneous") se traduit, ici, par des courbes évoluant de façon variable (figure 33).

En effet, si les bactéries de Daloa semblent utiliser une machinerie enzymatique constitutive leur permettant d'exploiter de manière constante ces substrats divers, ce que traduit l'allure linéaire de l'évolution de la densité optique (D.O.) au cours de l'incubation, les bactéries du sol de Bouaké entrent en activité plus intense au delà des 45 heures d'incubation, comme si un temps d'induction des enzymes dégradant ces substrats était nécessaire. Cette même dynamique présentant une rupture de pente entre 40 et 50 heures pouvait déjà se remarquer avec la communauté bactérienne de Bouaké lors de l'utilisation des carbohydrates et est observable de manière moins marquée sur l'évolution de l'A.W.C.D. Les bactéries, dans ce sol, présenteraient donc une stratégie, d'un point de vue fonctionnel, différente de celles du sol de Daloa et à un moindre degré celle de Korhogo. Dans ces sols, les bactéries seraient directement actives en présence des substrats. Celles de Béoumi, par contre, sont toujours moins efficaces dans la vitesse d'utilisation des différentes familles de substrats de la plaque

Biolog, traduisant ainsi la contrainte édaphique et certainement évolutive que constitue le sol de Béoumi sur leur activité métabolique. Ce type de résultats révèle la diversité des compétences métaboliques des populations bactériennes des 4 sols et suggère que la structure des communautés bactériennes (variation dans les rapports d'abondance-dominance des populations bactériennes) est différente selon les sols.

Globalement, on peut résumer les niveaux d'activité sur les différents groupes de substrats dans les différents sols dans l'ordre suivant :

- amines/ amides et amino-acides : Daloa, Korhogo, Bouaké et Béoumi ;
- carbohydrates : Korhogo, Bouaké, Daloa et Béoumi ;
- acides carboxyliques : Daloa = Korhogo = Bouaké, et Béoumi ;
- polymères : Daloa, Korhogo = Bouaké, et Béoumi ;
- “miscellaneous” (divers) : Korhogo, Bouaké = Daloa et Béoumi.

On déduit, nettement que le sol de Béoumi est le moins actif sur chaque groupe de substrats et que les éléments les plus déterminants du fort niveau d'activité dans le sol de Daloa sont les groupes de substrats constitués par les amines/amides, les amino-acides et les polymères.



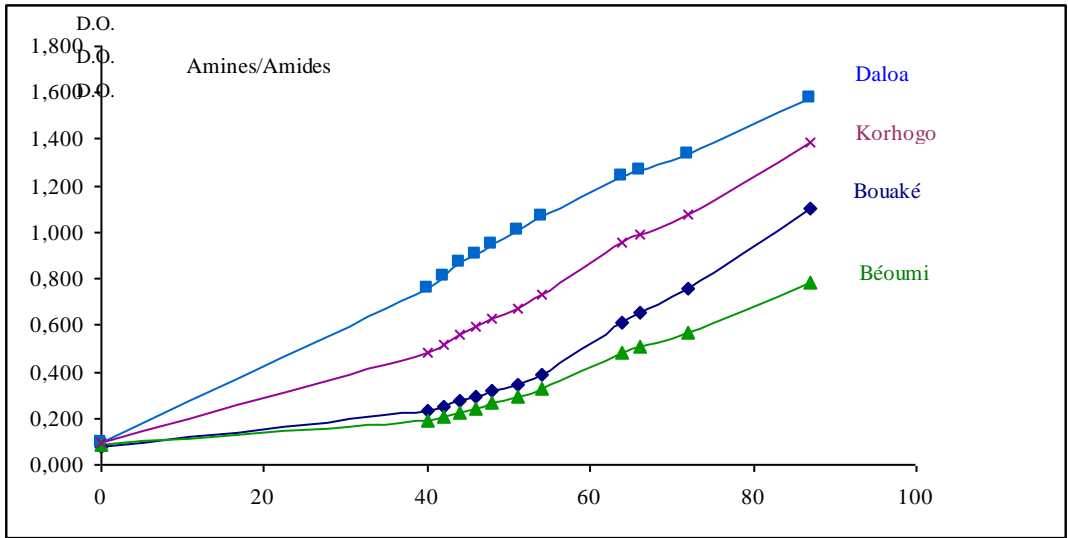


Figure 28 : Activité des sols en fonction du substrat amines/ amides

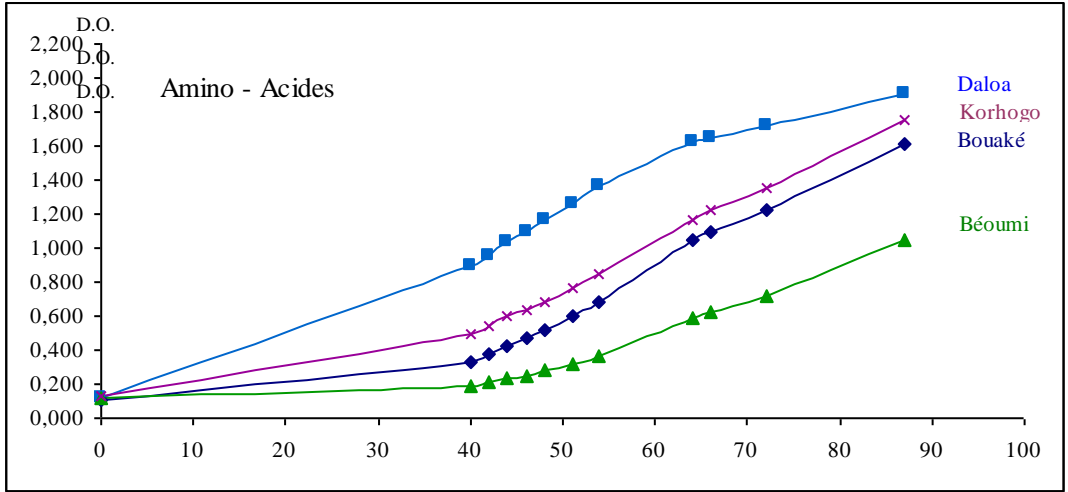


Figure 29 : Activité des sols en fonction du substrat amino-acides

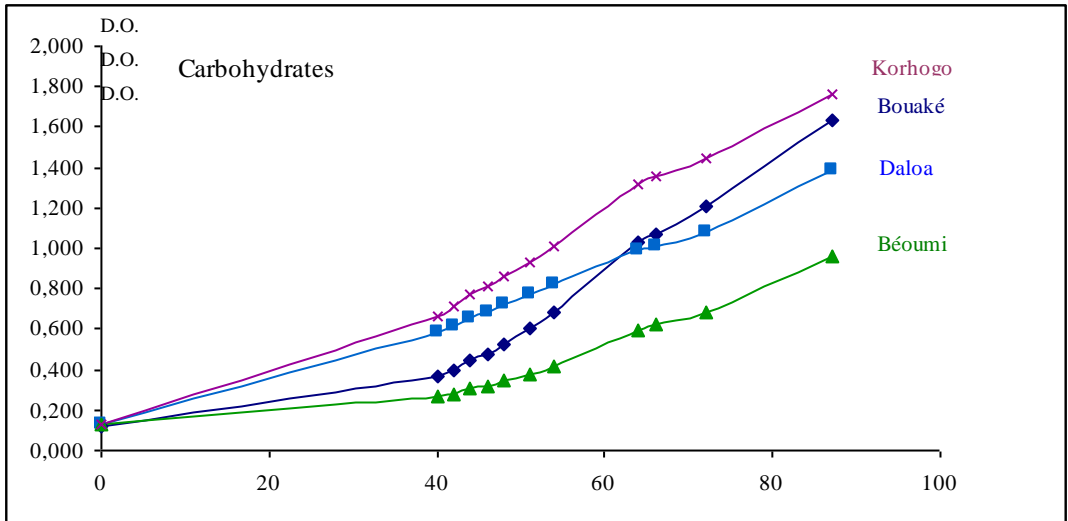


Figure 30 : Activité des sols en fonction du substrat carbohydrates.

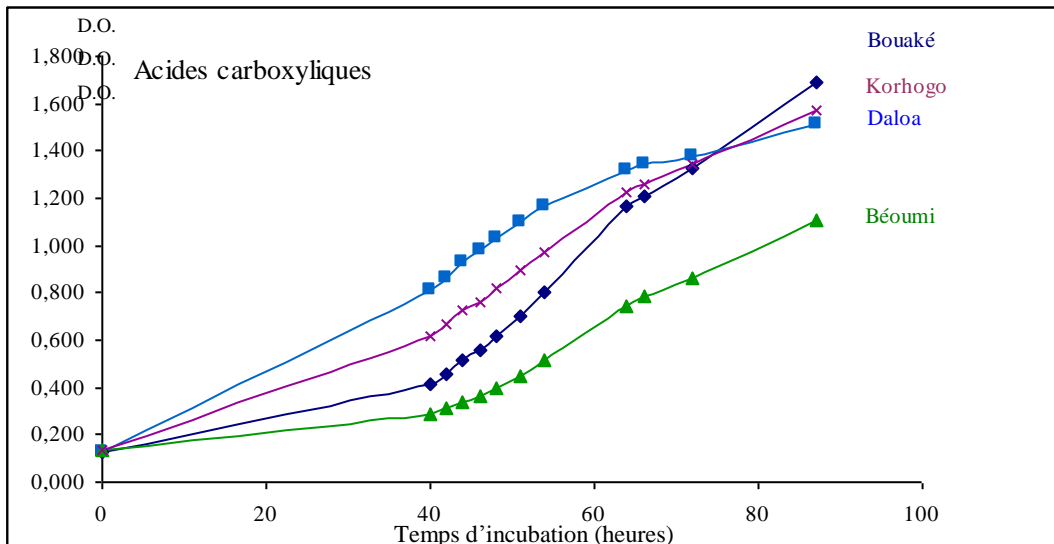


Figure 31 : Activité des sols en fonction du substrat acides carboxyliques

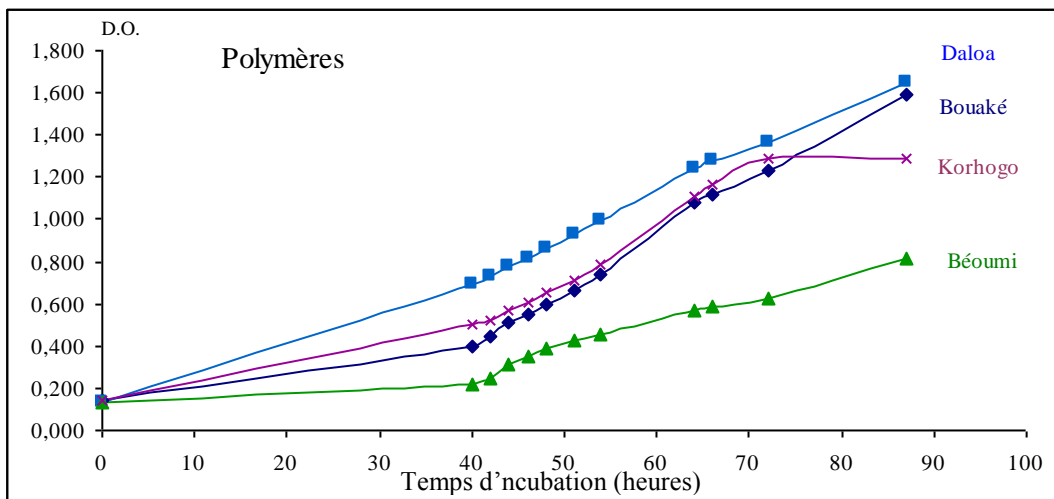


Figure 32 : Activité des sols en fonction du substrat polymères

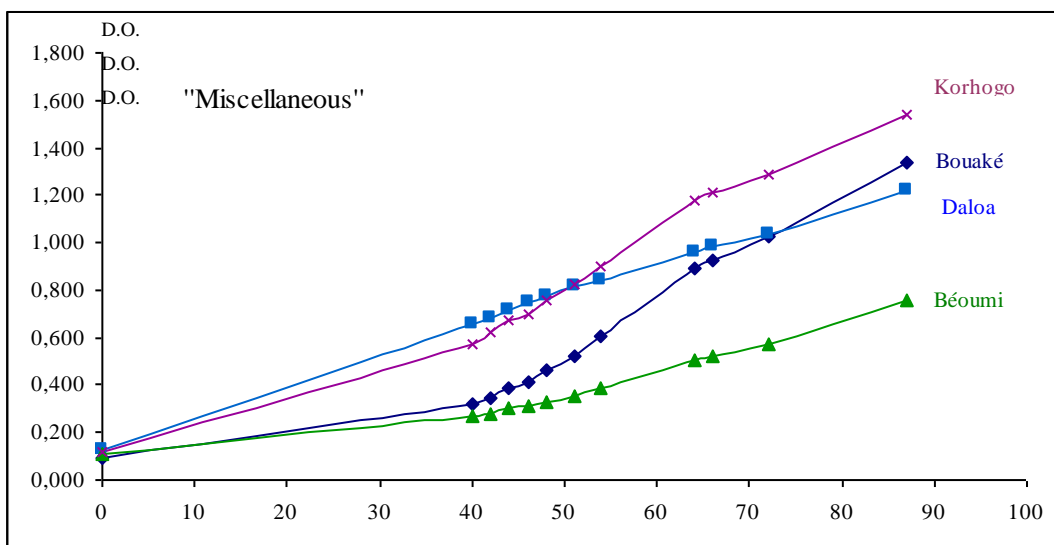


Figure 33 : Activité des sols en fonction du substrat "miscellaneous"

Après avoir présenté les activités bactériennes des différents sols sur chaque type de substrat, nous analysons maintenant les activités sur les différents substrats pour un sol donné.

Les figures 34 à 37 nous donnent la situation de l'activité biologique dans les de Bouaké, de Daloa, de Béoumi et de Korhogo.

Dans le sol de Bouaké, après 72 heures d'incubation, toutes les courbes restent évolutives. Les plateaux ne sont pas atteints. L'activité sur les acides carboxyliques demeure la plus importante. Viennent ensuite celles sur les aminoacides, les carbohydrates, polymères qui sont assez groupés et enfin les "miscellaneous" et amines/amides (figure 34).

A Daloa, tout comme à Bouaké, les activités demeurent évolutives jusqu'en fin de mesures (figure 35). L'activité sur les aminoacides est la plus élevée ; ensuite on a un regroupement des polymères, amines/ amides, acides carboxyliques et enfin les carbohydrates et "miscellaneous".

Dans le sol de Béoumi, les acides carboxyliques sont plus dégradés intensesment (figure 36). Il s'en suit les acides aminés, les carbohydrates, les polymères, les amines/ amides et les "miscellaneous" (divers). Ici encore, les plateaux ne sont pas atteints, traduisant une dégradation continue des substrats.

Dans le sol de Korhogo, enfin, l'ordre d'activité sur les substrats est : carbohydrates, aminoacides, acides carboxyliques, "miscellaneous", amines/ amides et polymères (figure 37).

Des analyses de variance ont été faites (AN.O.VA.). Elles ont été éclatées par sol en incluant les valeurs des "puits blancs". Ceci pour apprécier, d'une part, un effet sol et d'autre part, un effet substrat à 48 h et 72 h d'incubation. Les résultats de ces analyses sont indiqués en annexes VI. Il en ressort un effet sol et un effet substrat. Le test de Fisher, à un niveau de significativité de 5 %, nous donne l'aperçu suivant :

\* à **48 heures**, on note une différence significative : entre tous les sols ; cependant, les différences entre substrats ne s'observent, à ce temps d'incubation, qu'entre : le groupe des amines/ amides et les amino-acides, les acides carboxyliques ; les carbohydrates et les acides carboxyliques ; les acides carboxyliques et divers ;

\* à **72 heures**, il n'y a pas de différence significative entre les sols de Daloa et de Korhogo ; pour les autres combinaisons, on observe une différence significative entre sols ; au niveau des substrats, on observe des différences entre :

- le groupe des amines/ amides et les acides aminés, les carbohydrates, les acides carboxyliques, les polymères ;
- les acides aminés et divers ;
- les acides carboxyliques et divers ;

On note, en résumé, que dans les deux sols, c'est-à-dire ceux de Bouaké et de Béoumi où il y a expression de la fusariose vasculaire, les éléments les plus déterminants du niveau d'activité bactérienne sont les acides carboxyliques. Pour les deux autres sols sans fusariose, le niveau d'activité n'est pas déterminé par le même substrat (les carbohydrates pour le sol de Korhogo et les amino-acides pour le sol Daloa).

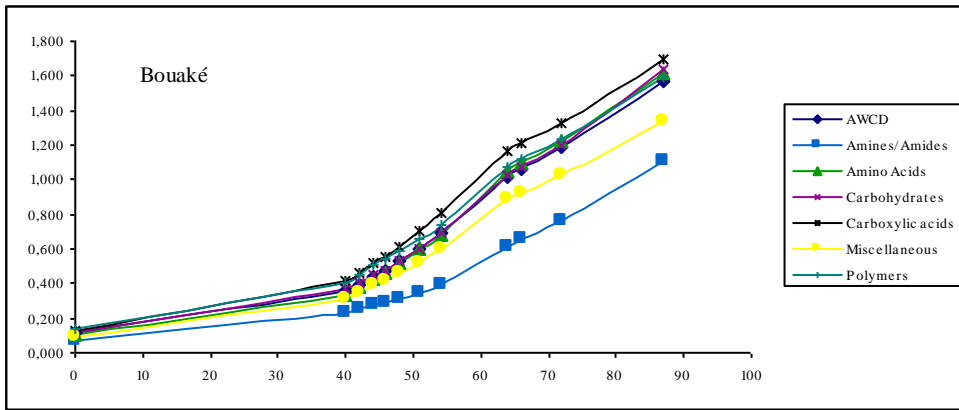


Figure 34 : Activité biologique du sol de Bouaké, sur les différents substrats

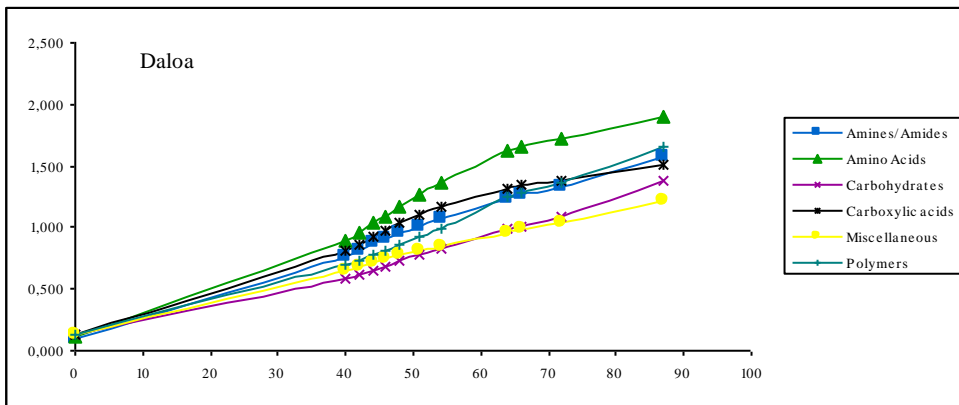


Figure 35 : Activité biologique du sol de Daloa, sur les différents substrats

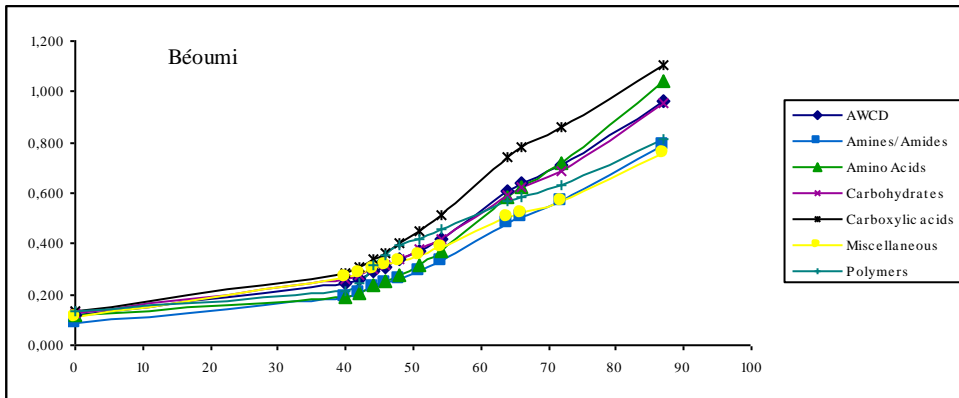


Figure 36 : Activité biologique du sol de Béoumi, sur les différents substrats

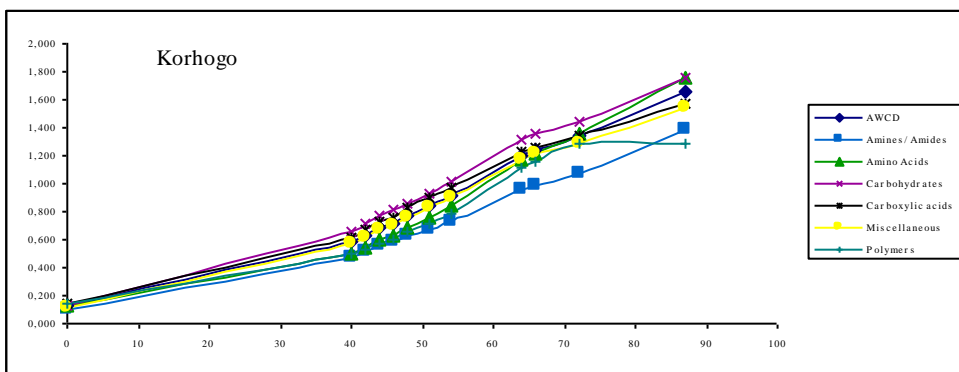


Figure 37 : Activité biologique du sol de Korhogo, sur les différents substrats

#### 4-4 Relations entre les facteurs biotiques des sols et l'expression de la fusariose vasculaire

Une analyse discriminante a été faite pour apprécier les éléments biologiques qui séparent les sols résistants des sols sensibles à la fusariose vasculaire. Les variables (facteurs biotiques mesurés) sont : les quantités de bactéries, de champignons, de *F. oxysporum*, de *F. solani*, de *F. roseum*, *F. redolens* par gramme de sol, les valeurs TTF à 0 heure et 24 heures d'incubation sans amendement et avec amendement glucose, les valeurs A.W.C.D. à 48 heures d'incubation et les valeurs A.U.D.P.C. à la dose maximale (annexes VI). Le test d'égalité des moyennes des groupes montre que les quantités de *F. oxysporum* et *F. solani* par gramme de sol et les valeurs A.W.C.D. à 48 heures d'incubation discriminent, significativement (au seuil de 5 %), les sols résistants des sols sensibles.

## CHAPITRE II : DISCUSSIONS

### I- STRUCTURE DES POPULATIONS DE *F. OXYSPORUM* F.SP. *VASINFECTUM*

#### 1-1 Pouvoir pathogène des isolats de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* de Côte d'Ivoire

Le test d'inoculation, par trempage de jeunes plants de cotonnier dans des suspensions de *F. oxysporum*, nous a permis d'identifier 17 isolats pathogènes qui ont été utilisées dans notre étude. L'agressivité de ces 17 isolats a été évaluée à l'aide de deux indices : l'Indice de Flétrissement (I.F.) ou "wilt index" (W.I.), d'ailleurs très variable d'un isolat à un autre et l'Indice de Rabougrissement (I.R.), relativement élevé pour l'ensemble des isolats, traduisant ainsi un déficit d'accroissement dû, selon Follin (1988) et Assigbetsé (1989), à la diminution de la surface foliaire et donc photosynthétique. Ces deux indices ne sont pas toujours corrélés. En d'autres termes, dans un sens, une forte diminution de la surface foliaire traduit un fort déficit d'accroissement ; ce qui est naturellement observé dans de telles situations ; mais par contre, un fort déficit de croissance n'est pas synonyme d'une réduction conséquente de la surface foliaire, comme c'est le cas, par exemple, des souches FOV11 et FOV17. Ce fait peut s'expliquer par le stade pendant lequel le plant de cotonnier est effectivement infecté. D'ailleurs au champ, la fusariose peut attaquer à tout âge cette plante (Roger, 1953 ; Follin, 1988). Mais comme le test a été réalisé dans les mêmes conditions, cette explication, acceptable en conditions naturelles, ne saurait être vérifiée ici. L'explication la plus plausible serait 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, conséquence de l'infection (Shi *et al.*, 1991 ; Shi *et al.*, 1992 ; Zhang *et al.*, 1993) dont l'impact peut être plus spectaculaire sur les feuilles et pas sur la longueur des entrenœuds à l'instant de la mesure.

Ces indices sont de simples indicateurs de la pathogénicité des souches à un moment donné ; car dans les formes spéciales de *F. oxysporum*, il y a une variabilité de l'agressivité dans la descendance par conidies (Laville, 1966 cité par Assigbetsé, 1989).

La technique d'inoculation, par trempage, est intéressante et efficace pour détecter une souche pathogène du fait du contact direct des racines avec les spores et l'adsorption facilitée de ces dernières à la surface racinaire, contrairement à la technique d'inoculation du sol de culture (Assigbetsé, 1988, 1989, 1993). Par ailleurs, le test que nous avons conduit ne donne qu'une idée partielle de la pathogénicité des isolats initialement testés et dont le nombre aurait pu être plus grand. En effet, comme nous avons testé les isolats sur les seules variétés GL7 et ISA 205 K de *Gossypium hirsutum*, et du fait de l'existence de 6 races physiologiques (Armstrong et Armstrong, 1958 & Armstrong et Armstrong, 1978), des isolats pathogènes ont pu être écartés seulement parce que n'étant pas pathogènes des variétés utilisées. Les races physiologiques, présentes en Côte d'Ivoire, ne seraient donc pas toutes connues de ce fait. Assigbetsé *et al.* (1994), Fernandez *et al.* (1993) nous donnent, néanmoins, une idée de ce qu'elles peuvent être. Les isolats ivoiriens de leurs études, isolés sur *Gossypium hirsutum*, ont

été assignés au groupe A, caractérisé par des méthodes classiques d'inoculation et par des méthodes moléculaires, notamment par P.C.R./R.A.P.D. Le groupe A, selon ces auteurs, se réfère aux races 1, 2 ou 6 de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* dont les aires d'expression, à l'origine, sont les continents Américain et Africain.

Néanmoins, le crible que nous avons effectué, malgré le biais que constitue la non prise en compte des nombreux cultivars susceptibles de révéler les différentes races au sein des isolats collectés, nous a permis de mettre en évidence et de caractériser une diversité très importante et inattendue des populations de FOV en Côte d'Ivoire. Ce résultat est déjà un progrès énorme dans la connaissance des populations pathogènes contre lesquelles des méthodes devront être développées pour les contrôler. Néanmoins, l'identification des différentes races existant au sein de cette collection constituée, est aisément réalisable en testant ces souches sur un plus grand nombre de cultivars (Armstrong et Armstrong, 1978). Il est tout à fait possible que le résultat de cette analyse révèle un niveau de diversité différent de celui connu jusqu'alors. En outre, pour une caractérisation plus complète de la diversité physiologique des FOV, le crible devrait être entrepris sur un nombre plus grand d'isolats. Il pourrait être accompagné de méthodes moléculaires de détection dans les tissus de cotonnier (Moricca *et al.*, 1998).

#### 1-2 Mise en évidence de nouveaux groupes au sein des populations pathogènes de *F. oxysporum*

Un grand nombre d'isolats étudiés appartiennent à des groupes non encore décrits. Ceux-ci comprennent aussi bien les types IGS (2, 65) que des VCG (1, 2 et 3). Seuls 8 individus testeurs, parmi les 12 VCG de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* déjà décrits, ont été obtenus à partir des collections de cultures. Trois VCG ont été identifiés parmi les nouveaux isolats de Côte d'Ivoire et n'appartenant pas aux 8 VCG décrits auparavant. Ainsi, 3 nouveaux VCG de la forme spéciale *vasinfectum* sont susceptibles d'être présents dans les nouveaux isolats étudiés.

Etant donné la variabilité révélée dans la région IGS d'autres isolats de *F. oxysporum*, la découverte de groupes additionnels aux 48 déjà décrits pouvait être attendue (Edel *et al.*, 1995, 1997, 2001, Lori *et al.*, 2004 et Schouten *et al.*, 2004). Bien que certains des isolats étudiés aient des profils IGS identiques à ceux des souches antérieurement décrites pour des espèces isolées dans des sols en France et en Argentine, où le cotonnier n'a jamais été cultivé (Lori *et al.*, 2004), nous ne savons pas encore si les espèces de *F. oxysporum* isolées sont de la forme spéciale *vasinfectum* car la pathogénicité de ces individus n'a pas été établie pour le cotonnier.

#### 1-3 Comparaison des nouveaux isolats de *Fusarium oxysporum* avec ceux déjà décrits et analyse de leurs affinités

La région IGS des séquences d'ADN ribosomique a été utilisée comme cible pour analyser la diversité génétique des isolats de *F. oxysporum* étudiés à cause de la grande variabilité observée dans cette région (Abd-Elsalam *et al.*, 2002, Appel et Gordon, 1995, Edel *et al.*, 2001, Harrington et Rizzo, 1999, O'Donnell *et al.*, 2004 et Schouten *et al.*, 2004). Ainsi, les isolats qui partagent la même séquence IGS (ou pour les cas présentés dans notre étude, une partie importante de cette séquence) sont, sans doute, intimement liés.

La diversité des pathogènes observée en Côte d'Ivoire est, relativement, très élevée, par comparaison à d'autres populations du complexe d'espèces identifiées ailleurs. Cependant, cette observation concorde avec des résultats d'études réalisées sur d'autres populations de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Kim *et al.*, 2005). Certaines populations de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, comprennent, en général, moins de VCG. Par exemple, Davis *et al.*, (1996) n'indiquent que 2 VCG en Australie.

Sept VCG ont été identifiées dans l'échantillon de Côte d'Ivoire. Ce qui est comparable aux résultats de Fernandez *et al.* (1994), qui ont identifié 3 VCG parmi 8 isolats (dont 2 ont été inclus dans cette étude). D'autres études de *F. oxysporum* ont révélé une diversité importante des VCG. Par exemple, 5 VCG ont été identifiés dans un échantillon de 160 isolats de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* obtenus de la Sicile (Di Primo *et al.*, 2001) et 4 VCG trouvés pour *F.oxysporum* f.sp. *cubense* (Koenig *et al.*, 1997). Pour la forme spéciale *phaseoli*, en Grèce, 8 VCG ont été identifiés dans une population de 23 isolats, avec la plupart des isolats appartenant à un VCG unique (Elena et Pappas, 2002), tandis qu'en Espagne, seulement 3 VCG ont été identifiés (Alves-Santo *et al.*, 1999).

La plupart des groupes, identifiés dans notre étude, semblent avoir une large distribution, car les souches identiques pour l'ensemble des caractères étudiés (IGS, VCG, MAT) sont présents sur tous les continents. Ceci permet d'émettre l'hypothèse selon laquelle les échanges des produits agricoles à travers le monde ont été, en partie, responsables de la relative dispersion géographique de ces pathogènes.

Les relations d'évolution entre les populations de la forme spéciale *vasinfectum* ont déjà fait l'objet d'analyse (Elena et Pappas, 2002). Kim *et al.* (2005) vont dans le même sens et définissent 5 lignées, lignées qui sont comprises dans nos résultats. Il s'agit, notamment, des isolats de la lignée I (Skovegaard *et al.*, 2001), qui comprend les races 3 et 5, toutes appartenant au groupe 9 de notre étude et des isolats de la lignée IV, qui comprennent des souches de la race 4, toutes appartenant à notre groupe 4. Les isolats de la lignée II, qui comprennent les races 1, 2 et 6, ont été identifiés dans 4 différents groupes (groupes 1, 2, 3 et 7 de notre étude). Dans cette étude, c'est la lignée II qui a montré la diversité la plus élevée dans la séquence analysée, avec probablement des sous-groupes. Une importante diversité a également été observée dans cette lignée, avec deux types IGS, 4 VCG différents et la



présence des deux mating types (MAT1 et MAT2). Kim *et al.* (2005) ont également signalé une diversité élevée dans la lignée II, avec 3 types IGS et une faible diversité dans la lignée IV, avec un seul type IGS dans 13 isolats que comprenait celle-ci. Cependant, ils ont signalé une divergence des IGS plus importante dans la lignée I et cela par rapport à ce que nous avons trouvé, avec 3 types IGS dans leurs isolats, par comparaison à notre seul et unique type IGS. D'une manière générale, les résultats présentés ici concourent à l'idée d'une polyphylie de la forme spéciale *vasinfectum* de *F. oxysporum* (Baayen *et al.*, 2000, Kim *et al.*, 2005 et Skovegaard *et al.*, 2001).

#### 1-4 Mise en évidence de la clonalité des pathogènes

Des résultats d'études de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* ont généralement milité en faveur de la reproduction clonale (Ad-Elsalam *et al.*, 2002, Fernandez *et al.*, 1994, Kim *et al.*, 2005, Skovegaard *et al.*, 2001). Ces études ont montré que dans certaines lignées, notamment la lignée IV, une origine clonale est probable pour tous les isolats (Kim *et al.*, 2005 et Skovegaard *et al.*, 2001). Nos résultats vont dans le sens de cette origine clonale, du moins pour tous les isolats de la lignée IV étudiés, car ils sont identiques pour le type IGS, le VCG le type MAT et la race physiologique. De même, aucune différence n'a été observée au sein des souches de la lignée I, bien que quelques différenciations du type IGS aient été révélées ailleurs (Kim *et al.*, 2005). L'espèce *F. oxysporum* n'a pas de phase sexuelle connue, bien que des études phylogénétiques attachent le taxon au genre *Gibberella* (O'Donnell *et al.*, 1998 et Taylor *et al.*, 1999). Cette assertion est en accord avec ce que l'on sait des espèces asexuées, c'est-à-dire leur relation étroite avec les espèces sexuées (Taylor *et al.*, 1999). La possibilité de regrouper clairement aussi bien les souches de référence que les nouveaux isolats en des ensembles homogènes, déterminés par le type IGS, le VCG et le mating type, montre que la reproduction par voie sexuée n'est actuellement pas présente.

Dans cette étude, certaines souches pourraient être classées dans plus d'un groupe, mais, ceci est dû au fait que le phénotype de la compatibilité végétative des souches n'a pu être connu, à cause de l'auto-incompatibilité à former l'hétérocaryon. La proportion des souches auto-incompatibles (5 sur 17 isolats de Côte d'Ivoire) est également très élevée. Ce qui pourrait être dû à la taille relativement faible de l'échantillon et certainement à la chance de les avoir eu dans une telle collection ; ou alors, cela pourrait refléter une réelle tendance de ces souches vers une auto-incompatibilité. Un nombre plus important d'isolats doivent être collectés en vue de déterminer la plus plausible de ces hypothèses.

Il est évident que les isolats de la lignée II n'appartiennent pas tous au même clone et la présence des deux idiomorphes de mating type dans la lignée suggère qu'il pourrait y avoir

eu une recombinaison des gènes au cours de l'évolution dans un passé récent. Les souches appartenant à cette lignée sont de celles qui partagent le type IGS 14. Il nous a été possible d'obtenir 3 groupes à partir de ces isolats correspondant à 3 lignées clonales potentielles, chaque lignée potentielle ayant les mêmes types IGS et VCG avec un idiomorphe de mating type donné. Deux d'entre ces groupes (1 et 2) diffèrent seulement par rapport aux VCG, et pourraient être ainsi liés par une simple mutation, ayant altéré le locus *vic*. Le troisième groupe (groupe 3) est beaucoup plus complexe, d'autant qu'il ne diffère pas seulement par rapport au phénotype VCG, mais a également un idiomorphe mating type différent. Deux hypothèses peuvent être considérées pour expliquer l'origine du groupe 3 : 1) soit ce groupe provient d'une recombinaison de gènes de pathogénicité et *vic* pour donner des groupes de pathogènes, avec différents phénotypes de VCG, hypothèse renforcée, dans une certaine mesure, par la présence des deux idiomorphes de mating type dans le type IGS ; 2) soit il y a eu une mutation dans le groupe, conférant aux souches de MAT2 une pathogénicité. En l'absence de toute preuve évidente sur la recombinaison dans ce groupe, ces hypothèses ne sont pas vérifiables. Taylor *et al.* (1999) et d'autres auteurs ont montré que sur un grand échantillon de taxons fongiques, les populations asexuées sont phylogénétiquement très liées à celles qui développent une phase sexuée et qu'aucun groupe asexué n'est strictement détaché au-dessus du niveau d'espèce chez les champignons. L'on s'attendrait, alors, à l'idée que toutes les souches, finalement, auraient une origine sexuelle, qu'elles soient clonales maintenant ou pas, en tant que taxons asexués parmi les eucaryotes, et qu'elles sont éphémères (Taylor *et al.*, 1999). Comme indiqué par Maynard *et al.* (1993), plusieurs organismes suivent un voie d'évolution, dans laquelle une recombinaison sexuée engendre des variants suivie par une explosion épidémique provenant d'une propagation clonale de "variétés" opportunistes. Le modèle épidémique sur l'origine des souches va bien dans le sens de nos résultats, suggérant ainsi qu'il y aurait eu plus d'une épidémie due au complexe *F. oxysporum*, donnant naissance à différents variants dans la forme spéciale *vasinfectum*.

La diversité des populations de FOV en Côte d'Ivoire est énorme, supérieure à celle observée dans d'autres pays producteurs. La mise en évidence d'une absence d'apparition de génotypes pathogènes récents dans les populations de FOV de Côte d'Ivoire associée à une telle diversité suppose que des formes pathogènes ont été introduites en Côte d'Ivoire sans doute lors de l'importation de semences ou d'autres activités d'échanges internationaux. Il serait donc important d'établir une stratégie au niveau national visant à tester la présence de FOV dans tous les lots de semences distribués aux producteurs ou ceux importés dans le cadre de programmes de recherche, de même que pour l'ensemble des matériels et produits liés à la culture des sols destinés à recevoir du coton. Les méthodes moléculaires de détection sont

sensibles, adaptables à la recherche de FOV, et leur mise en œuvre est aisée. Elles devraient permettre de prévenir l'entrée de nouveaux pathogènes en Côte d'Ivoire.

L'ensemble des travaux relatifs à la caractérisation de la diversité des populations de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* en Côte d'Ivoire a fait l'objet d'une publication (Abo *et al.*, 2005).

## II- ANALYSE DE L'EXPRESSION DE LA MALADIE EN RELATION AVEC L'ENVIRONNEMENT DES SOLS

### 2-1 Réceptivité des sols de culture à la fusariose vasculaire

Il ressort de l'étude sur la réceptivité des sols, par le test sur le couple lin – *F. oxysporum* f.sp. *lini*, que seuls le sol de Daloa n'exprime pas la trachéomyose du lin ; le sol de Dijon aurait la même tendance avec un très faible taux de mortalité. Les autres sols, c'est-à-dire, ceux de Bouaké et de Béoumi, qui expriment déjà la fusariose en champ et celui de Korhogo, indemne de fusariose du cotonnier, ont permis la manifestation de la fusariose vasculaire du lin. Le test de pathogénicité des souches de *F. oxysporum* isolées des mêmes sols, ne révèle des souches pathogènes que dans les sols de Bouaké et de Béoumi.

Les observations sur le terrain confirment le caractère réceptif des deux premiers et la présence *in situ* de la population pathogène alors que dans le cas du sol de Korhogo, le pathogène n'est pas présent, mais le risque est réel. Le modèle lin – *F. oxysporum* f.sp. *lini*, ayant été corrélé avec d'autres couples plante hôte – *F. oxysporum* pathogène, il nous apparaît pertinent de dire que le sol de Korhogo pourrait exprimer la maladie en Côte d'Ivoire. La situation actuelle de culture cotonnière indemne de fusariose serait le fait de l'absence de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* dans cette région ou que des conditions relevant de pratiques, entre autres, agricoles, non évaluées par nos études ne soient pas réunies pour une meilleure expression de la maladie à Korhogo. Ainsi, l'introduction d'origine accidentelle (activités humaines, dispersion naturelle ou mécanique) d'isolats de FOV dans ces parcelles aboutirait obligatoirement à l'établissement des populations de FOV et à l'expression de leur activité infectieuse vis-à-vis du cotonnier. Il est donc nécessaire de mettre l'accent sur les mesures prophylactiques pour protéger cette zone de la fusariose.

La résistance du sol de Daloa à la trachéomyose du cotonnier est un fait probant et serait due à des éléments déjà évoqués, entre autres, la forte concentration de *F. solani* non pathogènes, comme l'ont montré Alabouvette *et al.*, (1979) et Rovira (1982) , la forte activité biologique globale, la forte activité bactérienne, l'impact de communautés spécifiques bactériennes, etc. Ces résultats concordent avec d'autres travaux sur la réceptivité des sols aux maladies (Louvét *et al.*, 1976 ; Rouxel *et al.*, 1977 ; Rouxel *et al.*, 1978 ; Alabouvette, 1983 ; Alabouvette *et al.*, 1996 ; Steinberg *et al.*, 1997, 2001, 2004, 2006 sous presse).

## 2-2 Relations entre facteurs du sol et expression de la maladie

De l'analyse de la microflore tellurique, il ressort que le sol de Bouaké (sol à fusariose) est le plus pourvu en colonies bactériennes. Suivent ensuite les sols de Daloa (sol sans fusariose), Korhogo (sol sans fusariose) et Béoumi (sol à fusariose). Il apparaît qu'il n'y a pas de corrélation entre le nombre total de bactéries et l'expression de la maladie *in situ*. Il ressort la même tendance en ce qui concerne la microflore fongique. Le sol de Bouaké, comme précédemment, est le plus riche en champignons. Viennent ensuite les sols de Korhogo, de Béoumi et de Daloa. Il n'y a toujours pas de relation explicite entre la présence de la maladie aux champs et la microflore fongique totale.

On note, cependant, que le sol de Daloa, qui n'exprime pas la maladie, a une microflore fongique moins dense que les autres sols. Ce qui est inversement corrélé avec un nombre relativement plus élevé de bactéries dans le même sol. Un nombre élevé de bactéries, certaines probablement antagonistes, conduirait à une diminution du nombre de champignons, dont les pathogènes.

Ces relations entre flores fongiques pathogènes et flores bactériennes antagonistes ont été développées dans plusieurs travaux (Burke, 1965; Cook et Baker, 1983 ; Lemanceau *et al.*, 1988 ; Hebbar *et al.*, 1992 ; Steinberg *et al.*, 1997 ; Zegerman *et al.*, 1997 ; etc.)

Les indices globaux, à savoir la microflore bactérienne totale et la microflore fongique totale, ne dégagent pas toujours la part des pathogènes et celle des antagonistes. Ce qui laisse supposer, dans notre cas, que la résistance du sol résulterait d'une action spécifique d'une microflore spécifique. C'est ce que Cook et Baker (1983) ont voulu exprimer par le concept de résistance spécifique des sols. En effet, ces auteurs définissent deux types de résistance : la résistance générale et la résistance spécifique. La résistance générale ferait intervenir l'activité de la biomasse microbienne totale ; la résistance spécifique, quant à elle, serait liée à l'activité antagoniste d'une population microbienne particulière vis-à-vis de l'agent pathogène.

L'analyse de la microflore fusarienne totale révèle une dominance du sol de Daloa ; les quantités de cette flore décroissent en passant de Béoumi et Bouaké (sols sensibles) à Korhogo (sol sans fusariose). Ici encore, nous n'avons pas de relation directe entre la quantité de *Fusarium* total et la présence de la maladie. Ce qui serait curieux d'autant plus que la grande quantité de *Fusarium*, dans le sol de Daloa, aurait pu exprimer sa sensibilité, si éventuellement ceux –ci étaient pathogènes. Ces résultats apparaissent d'intérêts au moins pour les deux sols sans fusariose (Daloa et Korhogo). Le sol de Daloa n'exprime pas la maladie parce qu'il contient un grand nombre de *F. solani* non pathogènes pour le cotonnier et un faible nombre de *F. oxysporum*, eux – mêmes, non pathogènes, fait confirmé par le test de pathogénicité. Si ce sol est résistant de ce fait, alors cette résistance proviendrait, en partie, de l'action des *F. solani*, et dans une certaine mesure, de celle des *F. oxysporum* non pathogènes comme cela a été montré, en France, dans le cas du sol de Chateaufort résistant aux fusarioses vasculaires (Alabouvette, 1986). Néanmoins, cette résistance spécifique s'inscrit sur un fond plus global de résistance générale due à l'activité biologique de l'ensemble de la microflore. Cette activité générale, quand elle est intense conduit à une

déplétion permanente des nutriments pour lesquels les microorganismes sont en compétition (notamment les substrats carbonés). Cette compétition trophique aboutit à une situation de fongistase, c'est-à-dire que les champignons sont présents dans le sol, mais n'ayant pas de nutriments disponibles en quantité, pour assurer leur développement, ils restent sous forme de spores, dans un état quiescent. La biodiversité est préservée, mais l'activité, incluant l'activité infectieuse, est limitée. Ce résultat est en concordance avec de nombreux travaux déjà réalisés sur les relations entre *Fusarium* pathogènes et ceux non pathogènes dans la résistance des sols à une maladie donnée (Cook et Baker, 1983 ; Olivain et Alabouvette, 1997 ; Steinberg *et al.*, 1999a, 1999b ; etc.).

Le sol de Korhogo contient un faible nombre de *F. oxysporum* qui seraient eux-mêmes non pathogènes. Cela explique, en partie, l'absence de fusariose dans ce type de sol, au Nord de la Côte d'Ivoire. Il est donc vraisemblable que dans ce sol, l'introduction d'une population de pathogènes conduirait à établissement de celle-ci et à la manifestation de la maladie car la compétition conduisant à la fongistase ne serait pas assurée par les populations de *Fusarium* sp. dont la densité est faible.

Pour les éléments physico-chimiques du sol, le calcium apparaît, à quelques endroits, plus élevés dans les sols sans fusariose que dans les sols sensibles ; un faible taux d'argile est noté dans les sols de Kounahiri, de Tiéningboué, de Béoumi, sols sensibles et un fort taux dans les sols de Daloa, Dokaha, Zanakpokaha, sols sans fusariose. Cela concorde bien avec d'autres résultats d'études sur l'effet d'éléments physico-chimiques dans la sensibilité ou la résistance de certains sols à une maladie donnée (Höper et Alabouvette, 1996 ; Alabouvette *et al.*, 1996). Cependant, le sol de Bouaké, sol à fusariose, a également un fort taux d'argile. Il en résulterait alors que l'élément argile n'ait pas un effet sur l'expression de la fusariose dans ce type de sol ou que le type d'argile agissant ne soit pas le même dans tous les sols. En effet, le type d'argile, dans le sol, a un rôle dans la sensibilité du sol à une maladie. Höper *et al.* (1995), Alabouvette *et al.* (1996) et Lyda (1982) montrent que les argiles, comme la montmorillonite, ont un effet suppressif. Il faut noter, cependant, que la relation directe des éléments du sol n'est pas toujours perceptible. Les résultats de l'analyse des sols peuvent varier dans plusieurs sens et n'être que le résultat du type d'environnement agro-écologique (les systèmes de cultures pratiqués, l'antécédent cultural, le précédent de fertilisation, la végétation, l'usage de pesticides, etc.) ou ne pas exprimer la relation directe avec la maladie, mais plutôt une relation avec l'activité microbienne (Besri, 1975 ; de Franqueville et Renard, 1988 ; de Franqueville, 1991 ; Renard et de Franqueville, 1991 ; Smith et Snyder, 1975 ; Burke, 1965 ; Rovira, 1982 ; Larkin *et al.*, 1993 ; Janvier *et al.*, 2006 sous presse).

Il ressort par ailleurs, dans cette étude, et de façon plus ou moins nette, en considérant les rapports pondéraux des éléments du sol, que les sols à fusariose sont déficitaires en matière organique, en K pour certains et Ca + Mg pour d'autres. Ce qui concorde avec les réflexions de Stover (1962) qui pense que l'explosion de la maladie proviendrait d'un déséquilibre des sols par rapport à l'ensemble des éléments physico-chimiques. En d'autres termes, la trachéomycose se montre moins désastreuse lorsque les éléments nutritifs sont bien équilibrés pour la plante.

Dans d'autres travaux, il est montré, souvent, que les éléments physico-chimiques ont une action moindre. L'action la plus perceptible est celle due à l'activité microbienne, elle-même influencée par ces éléments du sol (Cook et Baker, 1983 ; Alabouvette *et al.*, 1996). D'après ces auteurs, des mécanismes impliqués dans la résistance des sols aux maladies ont montré que les activités, à la fois, de la microflore totale et de la microflore spécifique d'antagonistes peuvent être responsables de la résistance des sols. Les interactions entre les populations antagonistes et les pathogènes entraînent divers mécanismes incluant la compétition pour les ressources trophiques et des antibioses résultant de la production de métabolites toxiques. Il apparaît évident que la résistance n'est pas indépendante des propriétés physiques et chimiques des sols, qui auraient un rôle direct ou indirect. Les facteurs abiotiques favoriseraient l'activité de la biomasse microbienne ou influenceraient l'équilibre entre les agents pathogènes et leurs antagonistes spécifiques (Cook et Baker, 1983 ; Stotzky, 1986).

L'analyse de l'activité biologique microbienne de nos sols pourrait nous renseigner davantage. L'activité biologique, ici, a été appréciée sur deux plans. Elle a été mesurée, d'une part, par l'activité respiratoire qui est une mesure globale et d'autre part, par l'analyse spécifique bactérienne (profil physiologique de la communauté bactérienne par la méthode Biolog). Du point de vue de l'activité déshydrogénase, on note une forte activité dans le sol de Daloa, quelles que soient les conditions expérimentales. Il existe, cependant, une relation entre cette activité et la susceptibilité des sols à la maladie. En d'autres termes, si pour Daloa, la forte activité peut être à l'origine de l'absence de la maladie, dans le sol de Korhogo, ce ne serait pas le cas, d'autant que l'activité globale y est faible et ce sol est réceptif. Ces résultats sont en concordance, en partie, avec ceux obtenus par la méthode Biolog où on note encore une forte activité dans le sol de Daloa au vu des valeurs élevées de l'A.W.C.D. Des études réalisées dans le même ordre, pour comparer des sols résistants et des sols sensibles, vont dans le même sens, étude où il est montré, par exemple, une forte activité respiratoire dans les sols résistants et une faible activité dans ceux qui sont sensibles (Benson et Baker, 1970 ; Alabouvette *et al.*, 1985 ; Steinberg *et al.*, 2004). La méthode Biolog discrimine très nettement le groupe des sols sans fusariose (Daloa et Korhogo) et ceux qui expriment la maladie (Bouaké et Béoumi) ; les valeurs AWCD étant plus élevées dans le premier groupe que dans le dernier. Néanmoins le sol de Korhogo, dont la communauté bactérienne est moins active que celle de Daloa, est un sol sensible dans lequel la maladie pourrait se manifester si les pathogènes étaient introduits. Cela voudrait dire que la présence ou l'absence de la maladie serait déterminée par l'activité bactérienne en complément de l'activité globale. Ainsi, dans le sol de Daloa, l'ensemble concourt à represser la manifestation de la maladie : le sol est résistant malgré l'introduction du pathogène. Dans celui de Korhogo, l'activité bactérienne seule ne contribue pas suffisamment à une activité globale élevée. Le sol est réceptif, le potentiel d'expression de la maladie est donc présent. Pour les autres localités, où la maladie se manifeste, d'ores et déjà, sur le terrain, les sols sont réceptifs et les activités biologiques globales relatives aux communautés bactériennes respectives sont faibles.

L'analyse des groupes fonctionnels nous conforte sur cette voie quant à l'impact d'un élément biologique spécifique dans le sol. Elle montre, en effet, que les sols ne sont pas constitués, du moins qualitativement ou quantitativement, des mêmes microflore bactériennes, et que ces dernières, tout comme les microflore fongiques, sont soumises à l'environnement édaphique qui détermine leur niveau d'activité ou conduit à la fongistase. Il est donc difficile de dissocier chacune des composantes du système agro-biologique que constitue la parcelle, néanmoins la concordance des mesures réalisées permet de comprendre son fonctionnement.

En considérant les substrats, par exemple, on note une nette séparation entre les sols sensibles et les sols sans maladie ; les bactéries étant actives sur tous les substrats de façon prépondérante dans les sols sans fusariose que dans les sols sensibles. En considérant, par ailleurs, les sols, on note cependant que l'activité globale, dans un sol donné, n'est pas due à la prépondérance du même substrat. Par exemple, dans les sols sensibles, on note la prépondérance de l'activité bactérienne sur les acides carboxyliques tandis que pour les sols sans fusariose, le niveau d'activité est déterminé par une prépondérance de la dégradation des carbohydrates pour le sol de Korhogo et les acides aminés pour le sol de Daloa.

Ces résultats démontrent, encore une fois, l'importance de l'activité d'une communauté spécifique qui serait différente quantitativement ou qualitativement d'un sol à un autre, se traduisant par la différence de dégradation de substrats d'un sol à un autre. En d'autres termes, il existerait, dans les sols sensibles, plus de bactéries à activité plus forte sur les acides carboxyliques ; mais ces bactéries n'auraient pas d'effet antagoniste sur les pathogènes. Il existerait, par ailleurs, des communautés bactériennes plus actives, les unes sur les carbohydrates à Korhogo, les autres sur les acides aminés à Daloa, ces dernières pouvant être des antagonistes à d'éventuels pathogènes, expliquant donc l'absence de fusariose dans ce sol. Ces résultats concordent bien avec d'autres études menées sur l'importance de l'activité spécifique bactérienne dans le caractère suppressif d'un sol à une maladie (Cook et Baker, 1983) ou du substrat carboné dans un sol donné. Youssef et Heitefuss (1983) montrent qu'il y a une différence d'exsudation de sucres entre des cultivars sensibles et des cultivars de cotonnier résistants à *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. Ils notent, par ailleurs, que l'application d'herbicides, comme le Trifluralin et la Prométryne, augmentait l'exsudation d'acides aminés chez les deux types de cultivars, aussi bien quantitativement et qualitativement dans le spectre de ces acides aminés. Cela laisse suggérer que dans un système de culture continu à base de coton, l'usage d'un type de variété peut induire le stockage d'un type de substrat carboné ou que l'usage d'un type d'herbicides, comme il est courant en culture cotonnière en Côte d'Ivoire, peut également stimuler le stockage dans le sol, d'un type de substrat carboné et donc favoriser le développement d'une communauté bactérienne particulière.

### III- RELATIONS ENTRE LA DIVERSITE DES POPULATIONS DE *F. OXYSPORUM* F. SP. *VASINFECTUM*, LES ELEMENTS DE L'ENVIRONNEMENT DES SOLS ET L'ÉCOLOGIE DE LA FUSARIOSE VASCULAIRE DU COTONNIER EN CÔTE D'IVOIRE

De cette étude, une grande diversité se dégage à deux niveaux : niveau phénotypique par les groupes de compatibilité végétative et niveau génomique par les groupes IGS et les idiomorphes de mating type. Des éléments, du point de vu génétique, notamment l'idée de la clonalité, des mutations et surtout de la polyphyllie à l'origine des populations, pourraient expliquer cette diversité. Par ailleurs, l'histoire de la production et de la recherche cotonnière en Côte d'Ivoire nous suggère des éléments complémentaires, de nature écologique, qui pourraient expliquer cette diversité. En effet, depuis des décennies, avec l'I.R.C.T., puis l'I.DES.SA. et maintenant, le C.N.R.A., nous sommes passés des variétés de *G. barbadense* à celles de *G. hirsutum*, voire des hybrides, toujours en vue de rechercher des performances. Cette recherche a enrichi notre potentiel en matériel végétal par l'intégration de cotonniers venant de divers Laboratoires ou de pays cotonniers du monde. Nous savons aussi que l'agent pathogène peut se transmettre par les semences (Wickens, 1963 ; Snyder & Shirley, 1981 ; Follin, 1988 ; ) et qu'il n'est pas strictement inféodé au cotonnier (Smith *et al.*, 1981) ; il peut donc attaquer d'autres plantes (d'autres Malvales et certaines Fabaceae) selon Armstrong & Armstrong (1958, 1960, 1978, 1980) ; Wood & Ebbels (1972) et qu'aussi ce champignon se conserve facilement dans le sol et même pendant des années (Smith *et al.*, 1981), chose pouvant être également favorisée par les systèmes de culture caractérisés par l'association culturale. En conséquence, on aurait introduit, dans les zones cotonnières, une diversité de populations de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* au cours du temps, à l'image de la diversité des origines du matériel importé pour enrichir la collection variétale ivoirienne. Cela apparait évident que l'explosion de la fusariose ait commencé d'abord dans les stations de recherche et dans les postes d'expérimentation du cotonnier, recevant chaque année et cela depuis des décennies, de nouvelles variétés de cotonniers.

Pourquoi alors une différence d'attaque selon les zones ? Des zones à pression culturale élevée comme Korhogo n'ont pas la maladie ; d'autres, par contre, l'expriment alors que la pression culturale n'est pas aussi forte. Notre étude montre que Korhogo (Dokaha précisément) est une zone sensible à la fusariose. L'absence de la maladie, jusqu'alors, vient du fait qu'on n'y ait pas encore introduit l'agent pathogène. Ce qui est confirmé, d'ailleurs, par le test de pathogénicité des isolats en provenance des sols de Dokaha. Aucun d'entre eux, en effet, n'a été pathogène sur la variété sensible GL7. Cette absence d'introduction du pathogène pourrait aussi s'expliquer par le fait que les mouvements de populations du Nord pour l'acquisition de nouvelles terres se font dans le sens Nord – Sud. Ce qui réduit des chances de contamination des sols par les outils de labour (tracteurs, tractions animales, etc) qui sont très généralement utilisés en commun. Les sols de Bouaké et de Béoumi sont également sensibles (sensibilité démontrée par le test de la réceptivité) et se comportent comme ce qui est exprimé sur le terrain. Les isolats obtenus des sols sont presque tous



pathogènes et se montrent, du reste, plus agressifs. Ces zones correspondent, aussi en partie, aux zones expérimentales qui sont supposées avoir reçu une grande diversité de variétés de cotonniers. La probabilité qu'on y ait des populations très diversifiées de FOV y est donc élevée.

La zone de Daloa (Tchébréguhé) est alors le seul sol résistant, selon notre étude. Le test de la réceptivité des sols, utilisant le couple lin – *F. oxysporum* f.sp. *lini* (Foln3B5) nous donne une mortalité nulle. Le test de pathogénicité des isolats de *F. oxysporum* isolés de ce sol, par ailleurs, montre qu'aucun d'eux n'est pathogène vis-à-vis de la variété de cotonnier sensible GL7. Ces analyses montrent bien qu'il y a plus de chance que la maladie ne progresse pas vers les zones forestières dont les sols présentent les mêmes caractéristiques que celles de Tchébréguhé. Par contre, les zones Nord du pays pourraient connaître, à terme, l'apparition de la maladie, notamment à partir des couloirs Bouaké-Katiola et Kounahiri-Béoumi- Tiéningboué, s'il y a bien évidemment de forts mouvements de populations paysannes dans le sens Sud - Nord.

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Etude de la fusariose vasculaire du cotonnier en Côte d'Ivoire, tel est le thème général de cette étude. L'objectif était, d'une part, de caractériser des isolats de la population ivoirienne de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, agent de cette affection et d'autre part, d'analyser les facteurs de l'environnement du sol qui pourraient avoir une relation avec l'expression de la maladie.

Cette étude, concernant les populations de l'agent pathogène, a mis en évidence une diversité importante au niveau génétique. Cette diversité a été révélée à travers l'analyse des séquences d'ADNr, dans une région de l'IGS et à travers les groupes de compatibilité végétative (VCG). En effet, nous avons identifié 7 types IGS parmi une population mondiale de 46 souches. Le type IGS 14 est le plus fréquent et concerne 19 souches sur 46. Sur les 19 souches originaires de Côte d'Ivoire, il a été détecté 4 types IGS dont deux identifiés parmi les souches africaines. Les 16 autres souches, en provenance de divers autres continents, sont distribuées dans 4 types IGS dont 3 sont communs aux souches africaines. Le type IGS 2 et 65 n'ont été identifiés que dans les souches ivoiriennes. Le rapport mating type 1 et 2 est de l'ordre de 32 sur 14. On note, par ailleurs, que le type IGS 14 a les deux mating types ; les autres n'en ont que un.

Concernant les groupes de compatibilité végétative, nous avons identifié 7 VCG dans la population ivoirienne soumise à notre étude dont 4 sont déjà décrits auparavant ; les 3 autres étant nouveaux. On note également que 8 souches sont auto-incompatibles dont 5 de la population ivoirienne. En outre, des souches d'un même VCG ont aussi les mêmes types IGS et le même mating type. Cependant des types IGS peuvent contenir plusieurs VCG.

Les 46 souches ont ainsi été regroupées dans 11 groupes selon ces relations d'affinité dont 7 parmi eux ont des représentants en Côte d'Ivoire.

Au titre de l'analyse de l'expression de la fusariose vasculaire en relation avec des facteurs de l'environnement du sol, on retient que les quantités de microflores totales ne discriminent pas nettement les sols sensibles des sols résistants. La résistance du sol serait due à l'action spécifique d'une partie de la microflore fongique, en particulier de *F. solani* très abondant dans le sol de Daloa jusqu'alors indemne de fusariose ou à l'activité métabolique des bactéries très nettement démontrée par la détermination du profil physiologique des communautés bactériennes. Les valeurs d'AWCD sont plus élevées dans les sols sans fusariose que dans les sols sensibles. La spécificité de l'action bactérienne est aussi démontrée par des valeurs d'activité discriminant très nettement les sols en fonction des substrats.

On note, par ailleurs, un fort taux de matière organique dans le sol de Daloa, sol sans maladie et ensuite dans celui de Bouaké, sol à fusariose, traduisant ainsi la difficulté à établir des relations directes entre les éléments du sol et l'expression de la maladie. Parmi les autres éléments discriminants connus, comme le potassium, le taux et le type d'argile, le calcium, etc, il est apparu, dans notre étude, que les sols sensibles (Bouaké, Béoumi et Korhogo) sont distincts du sol de Daloa indemne de maladie par les éléments constitués par l'argile, l'azote, la capacité d'échange cationique et le magnésium. Par ailleurs, les sols sensibles sont moins

fertiles et moins équilibrés au vu des rapports pondéraux établis à partir des éléments physico-chimiques des sols.

Il ressort de l'analyse de ces éléments, combinée aux résultats du test de réceptivité des sols et ceux du test de pathogénicité des isolats de ces mêmes sols, que le sol de Daloa est résistant, et que celui de Korhogo pourrait être moyennement sensible. L'absence de maladie dans ce sol serait due à l'absence de souches de *F. oxysporum* pathogènes du cotonnier dans cette localité.

Au vu des résultats exposés, nous pouvons conclure à des acquis intéressants, qui suscitent, cependant, d'autres interrogations et suggèrent donc la poursuite de cette étude dans la perspective globale d'apprécier et de bien comprendre la structure des populations pathogènes, en priorité, et non pathogènes dans une certaine mesure, puis l'écologie de cette affection fongique en Côte d'Ivoire.

Il est apparu, en effet, dans cette étude que la diversité des populations de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (FOV) en Côte d'Ivoire était particulièrement importante et nous l'avons attribuée à des activités anthropiques, qu'elles soient d'ordre commerciales ou scientifiques (importations de semences) ou accidentelles (transports de propagules lors des migrations humaines en relation avec les pratiques agricoles ou pour des raisons socio-économiques). Des méthodes moléculaires permettent maintenant de détecter, rapidement et avec une sensibilité pertinente, la présence de pathogènes dans différents types d'échantillons. Il serait important de mettre en œuvre une stratégie assurant le développement de ces méthodes dans notre pays pour contrôler les migrations de ces populations de pathogènes et prévenir leur propagation vers des zones sensibles.

Il a été également mis en évidence l'existence de sols sensibles et de sols résistants à la manifestation de la maladie, mais également et surtout l'existence de sols sensibles, mais indemnes de fusariose *in situ*. Il semble, de ce fait, urgent de mettre en place une démarche prophylactique pour éviter l'introduction de pathogènes dans les parcelles sensibles et indemnes de maladie. Par ailleurs, l'existence de parcelles naturellement résistantes suggère l'existence d'un potentiel de résistance dans les sols ivoiriens. Il serait judicieux d'identifier les mécanismes responsables de cette résistance de manière à pouvoir les mettre en œuvre dans les sols sensibles afin de les prémunir de l'extension de la maladie. Nos travaux ont déjà révélé un certains nombres de paramètres importants, notamment une forte activité biologique. Nous devons alors déterminer les pratiques culturales compatibles avec la production du coton et susceptibles de stimuler le fonctionnement biologique du sol incluant les activités microbiennes et, sans doute, aussi microfaunistique. Les connaissances relatives à la faune tellurique étant peu disponibles, un effort important devrait y être consacré. Ainsi, des pratiques telles que les amendements organiques (notre étude montre que la matière organique est positivement associée à la résistance du sol) pourraient stimuler les bactéries, consommateurs des éléments immédiatement disponibles, les champignons du sol, capables de décomposer les éléments plus complexes tels que les lignines et celluloses, les vers de terre et les enchytréides, capables d'incorporer les déchets organiques à la matrice du sol. La stimulation globale de ces composantes de la microflore et microfaune, compatible avec une

agriculture durable, respectueuse de l'environnement et associée à une gestion des déchets organiques aurait-elle un intérêt pour réduire la gravité de la maladie due à *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*? C'est une des interrogations que soulève notre travail et à laquelle il nous semble important de pouvoir répondre. De nombreux travaux, réalisés en France (en particulier à Dijon), en collaboration avec plusieurs laboratoires européens, ont montré que les amendements organiques pouvaient constituer une alternative intéressante pour réduire les fusarioses dans des cultures. Cette option peut être prise dans le cadre des fusarioses en Côte d'Ivoire. Des tests en laboratoire, mais surtout en plein champ, sont à envisager dans les différentes zones sensibles à la fusariose en Côte d'Ivoire.

Au delà de ces interrogations globales soulevées par notre étude, des aspects plus précis peuvent également être avancés. Nous avons travaillé sur une population de 17 nouvelles souches ivoiriennes de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, ce qui est naturellement peu vu que *F. oxysporum* est une des espèces de champignons les plus rencontrées dans les sols. Il est, dès lors, important de poursuivre les isollements sur toute l'étendue de la zone cotonnière. Etant donné qu'il y a plusieurs races physiologiques chez *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, il convient d'intégrer cet aspect aux autres éléments évoqués dans l'étude à savoir l'IGS, les VCG et les mating types. La poursuite de l'étude prendra ainsi en compte, aussi bien, des méthodes classiques d'inoculation que des méthodes moléculaires de plus en plus précises et efficaces.

Pour les interactions hôte – pathogène – sol, il convient, dans la poursuite de cette étude, de multiplier les sites de prélèvement des sols. En d'autres termes, les analyses physico-chimiques et biologiques (intégrant cette fois l'étude de la nématofaune parasite du cotonnier) doivent couvrir l'ensemble de la zone cotonnière. Il apparaît urgent, pour appuyer cette démarche, de détecter un couple, aussi intéressant que *F. oxysporum* f.sp. *lini* / *lin*, pour mieux apprécier la réceptivité des sols de Côte d'Ivoire à la fusariose vasculaire du cotonnier. Le test du potentiel infectieux des sols, loin d'être une alternative au test de réceptivité, sera un outil complémentaire qui pourra nous permettre de mieux apprécier l'énergie infectieuse des différents sols. Le matériel végétal devra être aussi varié pour prendre en compte la possibilité de l'existence de nombreuses races physiologiques de l'agent pathogène en Côte d'Ivoire. Au niveau des méthodes, encore une fois, le recours à la biologie moléculaire pourrait être d'une grande utilité pour apprécier la part des différents éléments biologiques dans la réceptivité des sols.

Ces éléments doivent être bien perçus par les acteurs de l'encadrement et de la vulgarisation en matière de production cotonnière en Côte d'Ivoire car l'expression épidémique est influencée par des déterminants principaux dont l'inoculum, l'environnement cultural ou agro-écologique. Si pour certains facteurs, les choses sont précises (fertilisation, choix et fourniture des semences de coton, etc) car dictées par les sociétés cotonnières, pour d'autres, des études méritent d'être conduites. En effet *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* a une spécificité lâche. Il s'attaque, en effet, à d'autres plantes. Il est, dès lors, important de connaître la répartition géographique des plantes qui partagent le même biotope que le cotonnier, car pouvant être des potentiels hôtes alternatifs du pathogène. Par ailleurs, une

bonne connaissance des pratiques culturales (fourniture des intrants et leur qualité, notamment, la qualité sanitaire des semences, les types d'associations de cultures, les rotations, etc) apparaît indispensable.

C'est en combinant tous ces éléments (structures des populations du pathogène, facteurs édaphiques, éléments phytogéographiques et autres facteurs écologiques incluant les facteurs anthropiques) que nous arriverons, à une bonne maîtrise de la lutte contre la fusariose vasculaire du cotonnier en Côte d'Ivoire.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abadie C. 1995. La fusariose du palmier à huile. Influence des facteurs édaphiques et culturaux sur la gravité de la maladie. Thèse de Docteur en Sciences de l'Université Paris XI, Orsay, 138 p.
- Abawi G.S., and Widmer T.L. 2000. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. *Applied Soil Ecology*, 15:37 - 47.
- Abd-Elsalam K., Khalil M., Aly, A.-H., and Asran-Amal A.-M. 2002. Genetic diversity among *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* isolates revealed by UP-PCR and AFLP markers. *Phytopathol. Mediter.* 41:252 - 258.
- Abo K., Klein K.K., Edel-Hermann V., Gautheron N., Traoré D., and Steinberg C. 2005. High genetic diversity among strains of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* from cotton in Ivory Coast. *Phytopathology*, 95 (12) : 1391 – 1396.
- Alabouvette C. 1983. La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires. Rôle de la compétition nutritive entre micro-organismes. Thèse de Docteur ès-Sciences Naturelles. Université de Nancy I, 158 p.
- Alabouvette C. 1986. *Fusarium*- wilt suppressive soil from the Chateaufort region : review of a 10- year study. *Agronomie*, 6 : 273 – 284.
- Alabouvette C., Rouxel F., and Louvet J. 1979. Characteristics of *Fusarium* wilt suppressive soils and prospects for their utilization in biological control. *In Soil-Borne Plant Pathogens*. Schippers B. & Gams W. Eds. Academic Press, 165 - 182.
- Alabouvette C., Couteaudier Y., et Louvet J. 1982. Comparaison de la réceptivité de différents sols et substrats de culture aux fusarioses vasculaires. *Agronomie*, 2 : 1 – 16.
- Alabouvette C., Couteaudier Y., et Louvet J. 1984. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. IX. Dynamique des populations du *Fusarium* spp. et de *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* dans le sol résistant et un sol sensible aux fusarioses vasculaires. *Agronomie*, 4(8) : 729 - 733.
- Alabouvette C., Couteaudier Y., et Louvet J. 1985. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. XI. Etude comparative du comportement des *Fusarium* spp., dans un sol résistant et un sol sensible aux fusarioses enrichis en glucose. *Agronomie*, 5 (1) : 63 - 68.
- Alabouvette C., Hoepfer H., Lemanceau P., and Steinberg C. 1996. Soil suppressiveness to diseases induced by soilborne plant pathogens. *Soil Biochemistry*, 9 : 371 – 413. Eds. G. Stotzky and J-M. Bollag.

Alabouvette C., Backhouse D., Steinberg C., Donovan N.J., Edel-Hermann V., and Burgess L.W. 2004. Microbial diversity in soil - effects on crop health. In *Managing Soil Quality - Challenges in Modern Agriculture*, edited by P. Schjonning, S. Emholt and B. T. Christensen. Wallingford UK: CABI Publishing. pp 121 - 138.

Alves-Santos F. M., Benito E. P., Eslava A. P., and Diaz-Minguez, J. M. 1999. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* strains from common bean fields in Spain. *Applied and Environmental Microbiology.*, 65 : 3335 - 3340.

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.

Amir H., and Alabouvette C. 1993. Involvement of soil abiotic factors in the mechanisms of soil suppressiveness to *Fusarium* wilts. *Soil Biology and Biochemistry*, 25 : 157 – 164.

Appel D. J., and Gordon T. R. 1995. Interspecific variation within populations of *Fusarium oxysporum* based on RFLP analysis of the intergenic spacer region of the rDNA. *Experimental. Mycology.*, 19 : 120 - 128.

Arie, T., Kaneko, I., Yoshida, T., Noguchi, M., Nomura, Y., and Yamaguchi, I. (2000). Mating-type genes from asexual phytopathogenic ascomycetes *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13(12) : 1330 - 1339.

A.PRO.COT.CI. 2005. Résultats de la campagne 2004-2005 : la campagne 2004/2005 en chiffres. *Coton magazine*, 21 : 12 - 19.

Armstrong G.M., and Armstrong J.K. 1958. A race of the cotton-wilt *Fusarium* causing wilt of yellow soybean and flue-cured tobacco. *Plant Disease Reporter*, 42 : 147 – 151.

Armstrong G.M., and Armstrong J.K. 1960. American, Egyptian and Indian cotton-wilt *Fusaria*. Their pathogenicity and relationship to other wilt *Fusaria*. U.S. Dept. Agric. Techn. Bull., p 1219.

Armstrong G.M., and Armstrong J.K. 1978. A new race (race 6) of the cotton-wilt *Fusarium* from Brasil. *Plant Disease Reporter*, 62 : 421 – 423.

Armstrong G.M., and Armstrong J.K. 1980. Race 6 of the cotton-wilt *Fusarium* from Paraguay. *Plant Disease*, 64 : 596.

Armstrong G.M., and 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. pp: 391-399.

Assigbetsé K. 1988. Etude de la variabilité intraclonale du pouvoir pathogène et de la morphologie dans la descendance par microconidies de trois souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, agent causal de la fusariose du cotonnier. Diplôme d'Agronomie Tropicale. Centre national d'études agronomiques des régions chaudes. Ecole supérieure d'agronomie tropicale de Montpellier, 62 p.

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. 20 p.

Assigbetsé K. 1993. Pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. & H., agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc, 205 p.

Assigbetsé K.B., Fernandez D, Dubois M.P., and Geyger J.-P. 1994. Differentiation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* races on cotton by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *APS. Phytopathology*, 84 (6) : 622 – 626.

Baird R., and Carling D. 1998. Survival of parasitic and saprophytic fungi on intact senescent cotton roots. *The Journal of Cotton Science*, 2 : 27 – 34.

Baker R. 1968. Mechanisms of biological control of soil borne pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 6 : 263 – 294.

Baker R., Maurer C.L., and Maurer R.A. 1967. Ecology of plant pathogens in soil. VII. Mathematical models and inoculum density. *Phytopathology*, 57 : 662 – 666.

Baayen R. P., O'Donnell K., Bonants P. J. M., Cigelnik E., Kroon L. P. N. M., Roebroek E. J. A., and Waalwijk C. 2000. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. *Phytopathology*, 90 : 891 - 900.

Beckman C.H., and Talboys P.W. 1981. Anatomy of resistance. pp 487-521. In *Fungal wilt disease of plants*. Mace M., Bell A. & Beckman C.H. Eds.

Beckman C.H., Mueller W.C., Tessier B.J., and Harrison N.A. 1981. Recognition and callose deposition in response to vascular infection in *Fusarium* wilt-resistant and susceptible tomato plants. *Physiological Plant Pathology*, 20 : 1 - 10.



- Benson D. M., and Baker R. 1970. Rhizosphere competition in model soil systems. *Phytopathology*, 60 : 1058 - 1061.
- Besri M. 1975. Recherches sur les fusarioses. Influence du précédent cultural sur l'évolution de la population de *Fusarium oxysporum* dans la rhizosphère de quelques plantes. *Annales de Phytopathologie*, 7 (1) : 1 - 8.
- Boehm E.W.A., Ploetz R.C., and Kistler H.C. 1994. Statistical analysis of electrophoretic karyotype variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 7 : 196 – 207.
- Booth C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institut. Kew, Surrey, England. 237 p.
- Booth C. 1977. *Fusarium*. Laboratory Guide to the identification of the major species. Commonwealth Mycological Institut. Kew, Surrey, England. 56 p.
- Bouhot D. 1980. Le potentiel infectieux des sols. Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Nancy, 151 p.
- Broadbent P., and Baker K.F. 1974. Behaviour of *Phytophthora cinnamomi* in soils suppressive and conducive to root rot. *Australasian Journal of Agricultural Research*, 25 : 121 – 137.
- Broadbent P., and Baker K.F. 1975. Soils suppressive to *Phytophthora* root rot in Eastern Australia. pp 152 – 157. In G.W. Bruehl (Eds). *Biology and control of soil-borne plant pathogens*. A.P.S . Press, St. Paul, Minnesota.
- Bugbee W.M. 1970. Vascular response of cotton to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. *Phytopathology*, 60 : 121-123.
- Burgess L.W., Nelson P.E. and Summerell B.A. (1989). Variability and stability of characters in *Fusarium oxysporum*. *Mycologia*, 81 : 818 – 822.
- Burgess L.W., Summerell B.A., Bullock S., Gott K.P., and Backhouse D. 1994. Laboratory Manual for *Fusarium* research. Third Edition. *Fusarium* research Laboratory, Department of Crop Sciences, University of Sydney and Royal Botanic Garden. Sydney, 133 p.
- Burke D.W. 1965. *Fusarium* root rot of bean and behavior of the pathogen in different soil. *Phytopathology*, 55 : 1122 - 1126.
- Burnet J.H. 1984. Aspects of *Fusarium* genetics. In “The Applied Mycology of *Fusarium*”. Moss M.O. & Smith J.E. Eds. pp 39-69. Cambridge University Press, Cambridge.
- Carlile M.J., and Watkinson S.C. 1995. The fungi. Academic Press, San Diego. 482 p.

Charoudattan R. 1969. Studies on strains of *Fusarium vasinfectum* Atk. I. On their morphology and pathogenicity on cotton. Proceeding of the Indian Academy of Science. (Sect. B), 70 : 139 - 156.

C.I.D.T. 1997. Rapport annuel. Compagnie Ivoirienne pour le Développement des Textiles. Campagne agricole 1996/1997. 69 p.

C.I.R.A.D. 1994. Coton DOC, Système multimédia sur le cotonnier et ses ennemis en Afrique francophone au Sud du Sahara. Volume 1. C.I.R.A.D et AUPELF-UREF.

Cook R.J., and Papendick R.I. 1972. Influence of water potential of soil and plants on root disease. Ann. Rev. Phytopathology, 10 : 349 – 374.

Cook R.J., and Baker K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. In R.J. COOK R.J. and K.F. BAKER (Eds), APS Press, St Paul. Minnesota, 539 p.

Correll J.C., Klittich C.J.R., and Leslie J.F. 1987. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. Phytopathology, 77 (12) : 1640 – 1646.

Correll J.C., Puhalla J.E., and Schneider R.W. 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *apii* on the basis of colony size, virulence and vegetative compatibility. Phytopathology, 76 (4) : 396 – 400.

Cove D.J. 1976. Chlorate toxicity in *Aspergillus nidulans*. Studies of mutants altered in nitrate assimilation. Molecular Genetics, 146 : 147 – 159.

Cubeta M.A., and Vilgalys R. 1997. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. Phytopathology, 87 : 480 - 484.

Daboussi M.J., and Langin T. 1994. Transposable elements in the fungal plant pathogen *Fusarium oxysporum*. Genetica, 93 : 49 - 59.

Davis R. D., Moore N. Y., and Kochman J. K. 1996. Characterization of a population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* causing wilt of cotton in Australian Journal of Agricultural Research., 47:1143 - 1156.

D.C.G.Tx. 1967. Classification des sols. Tableaux des classes et sous-classes, groupes et sous-groupes des sols. Commission de Pédologie et de Cartographie des Sols (C.P.C.S.). Abidjan. Direction et Contrôle des Grands Travaux 63 p.

De Franqueville H. 1991. Antécédent savane ou antécédent forêt : influence des isolats du pathogène sur le comportement des lignées de palmier à huile vis-à-vis de la fusariose. Oléagineux, 46 (5) : 179 - 185.

De Franqueville H., et Renard J.L. 1988. La fusariose du palmier à huile en replantation. Méthodes d'études et mise en évidence de quelques facteurs de l'environnement sur l'expression de la maladie. *Oléagineux*, 43 (4) : 149 - 152.

Déclert C. 1990. Manuel de phytopathologie maraîchère tropicale. Cultures de Côte d'Ivoire. Editions de l'ORSTOM. Collections didactiques . Paris, France. pp 20 – 21.

Delhove G., Mulamba N.L., et Drion A. 1992. Maladies et ravageurs du cotonnier. *In*. Le cotonnier au Zaïre. Publication agricole n° 29. AGCD. pp 27 – 42.

Demol J. 1992. Connaissance de la plante. *In*. Le cotonnier au Zaïre. Publication agricole n° 29. AGCD. pp 17 – 26.

Di Primo P., Cartia G., and Katan T. 2001. Vegetative compatibility and heterokaryon stability in *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis-lycopersici* from Italy. *Plant Pathology*, 50 : 371 - 382.

Dimond A.E. 1970. Biophysics and biochemistry of vascular wilt syndrome. *Ann. Review Phytopathology*, 8 : 301 - 322.

Ebbels D.L. 1975. *Fusarium* wilt of cotton : A review with special reference to Tanzania. *Cotton Grower Review*, 52 : 295 - 339.

Echiman M., Aman C., Kanon Y.S., Gnigou J.S., Zakra N. et Blehoué N. 1992. Le cotonnier. *In* Le guide de l'agriculteur de Côte d'Ivoire. 2 : 185 – 200.

Edel V. 1998a. Polymerase Chain Reaction. *In* *Mycology : an overview*. CAB International. Application of PCR in Mycology, 19 p.

Edel V. 1998b. Use of PCR and RFLP in Fungal Systematics, *In* *Chemical Fungal Taxonomy*. Edited by Frisvad J.C., Bridge P.D. and Arora D.K. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong, pp 51 – 76.

Edel V. 1999. Développement de méthodes d'identification et de caractérisation moléculaire pour l'étude de l'écologie de *Fusarium oxysporum*. Thèse de Doctorat. Université de Bourgogne, Dijon, France, 130 p.

Edel V., Steinberg C., Gautheron N., and Alabouvette C. 1996. Evaluation of restriction analysis of polymerase chain reaction (PCR) – amplified ribosomal DNA for the identification of *Fusarium* species. *Mycological Research*, 101 (2) : 179 – 187.

Edel V., Steinberg C., Gautheron N., and Alabouvette C. 1997. Populations of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* associated with roots of four plant species compared to soilborne populations. *Phytopathology*, 87 (7) : 693 – 697.

Edel V., Steinberg C., Avelange I., Lagerre G., and Alabouvette C. 1995. Comparison of three molecular methods for the characterisation of *Fusarium oxysporum* strains. *Phytopathology*, 85 (5) : 579 – 585.

Edel V., Steinberg C., Gautheron N., Recorbet G., and Alabouvette C. 2001. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* populations isolated from different soil in France. *FEMS Microbiology Ecology*, 36 : 61 – 71.

Elena K., and Pappas A. C. 2002. Pathogenicity and vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in Greece *Journal of Phytopathology*, 150: 495 - 499.

Elias K.S., Zamir D., Lichtman-Pleban T., and Katan T. 1993. Population structure of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* : restriction fragment length polymorphisms provide genetic evidence that vegetative compatibility group is an indicator of evolutionary origin. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 6 : 565 - 572.

Excoffier L., Smouse P.E., and Quattro J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA halotypes : Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131 : 479 – 491.

Fernandez D., Assigbetsé K.B., Dubois M.P., and Geiger J.P. 1993. Differentiation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* races on cotton by RFLP and RAPD analysis. 6<sup>th</sup> International Congress Plant Pathology, Montreal. p 134.

Fernandez D., Assigbetsé K., Dubois M.-P., and Geiger J.-P. 1994. Molecular characterization of races and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Applied Environmental Microbiology*, 60 : 4039 - 4046.

Fokkema N.J. 1996. Biological control of fungal plant diseases. *Entomophaga*, 41 : 33 - 342.

Follin J.C. 1986. La sélection du cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) pour la résistance aux maladies présentes en Afrique au Sud du Sahara. *Supplément à coton et Fibres tropicales*, 30 p.

Follin J.C. 1988. Les maladies du cotonnier en Afrique francophone au Sud du Sahara. *Phytoma*, 403 : 49 – 51.

Follin J.C., et Laville E. 1966. Variation chez le *Fusarium oxysporum*. Comportement des lignées issues des différents organes de multiplication. *Fruits*, 21 : 261 - 268.

Freeman S., Zveibil A., Vintal H., and Maymon M. 2002. Isolation of non-pathogenic mutants of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* for biological control of *Fusarium* wilt in cucurbits. *Phytopathology*, 92 (2) : 164 – 168.

Fulton J.M., Mortimore C.G., and Hildbrand A.A. 1961. Note on the relation soil bulk density to the incidence of *Phytophthora* root and stalk rot of soybeans. Canadian Journal of Soil Science, 41 : 247

Garber R.C., Turgeon B.G., Selker E.U., and Yoder O.C. 1988. Organization of ribosomal RNA genes in the fungus *Cochliobolus heterostrophus*. Current Genetics, 14 : 573 - 582.

Garland J.L., and Mills A.L. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. Applied and Environmental Microbiology, 57 (8) : 2351 – 2359.

Ghirardi S. 1999. Conditions d'utilisation des plaques d'identification bactérienne Biolog pour caractériser la diversité métabolique des communautés microbiennes d'environnements variés. Diplôme d'Etudes Approfondies, Ecologie microbienne, option sol et eau. Université Claude Bernard LYON I. France. 17 p.

Gordon W.L. 1952. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seed. Can. J. Bot., 30 : 209 – 251.

Gordon T.R. 1993. Genetic variation and adaptative potential in an asexual soil borne fungus. pp 217 - 224. In : The Fungal Holomorph Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics. Reynolds D.R. & Taylor J.W. Eds. CAB International, Wallingford, England.

Guillaumet J-L., et Adjanohoun E. 1971. La végétation in : le milieu naturel de la Côte d'Ivoire, ORSTOM, Ed. Abidjan, ORSTOM, 161- 268.

Hala N., et Vassal J.M. 1994. Expérimentation phytosanitaire. Défense des Cultures, Campagne 1993-1994. IDESSA/DCI, Filière Coton. 55 p.

Hancock J.G. 1979. Occurrence of soils suppressive to *Pythium ultimum*, pp 183 – 189. In B. Schippers and W. Gams (Eds). Soil-borne plants pathogens. Academic Press, London.

Harrington T. C., and Rizzo D. M. 1999. Defining species in the fungi. pp 43 – 71. In Structure and dynamics of fungal populations. J. J. Worrall, eds. Kluwer Press, Dordrecht, The Netherlands.

Harrison N.A., and Beckman C.H. 1982. Time / space relationships of colonization and host response in wilt-resistant and susceptible cotton (*Gossypium*) cultivars inoculated with *Verticillium dahliae* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. Physiology Plant Pathology, 21 : 193 - 207.

Hebbar K.P., Davey A.G., and Dart P.J. 1992. *Rhizobacteria* of maize antagonistic to *Fusarium moniliforme*, a soil borne fungal pathogen : isolation and identification. *Soil Biology and Biochemistry*, 24 (10) : 979 - 987.

Hillis D.M., and Dixon M.T. 1991. Ribosomal DNA : molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly review of Biology*, 66 : 411 - 453.

Hillocks R.J. 1984. Production of cotton varieties with resistance to *Fusarium* wilt with special reference to Tanzania. *Tropical Pest Management*, 30 : 234 - 246.

Höper H., and Alabouvette C. 1996. Importance of physical and chemical soil properties in the suppressiveness of soils to plant diseases. *European Journal of Soil Biology*, 32 : 41 - 58.

Höper H. C., Steinberg C., and Alabouvette C. 1995. Involvement of clay type and pH in the mechanisms of soil suppressiveness to fusarium wilt of flax. *Soil Biology and Biochemistry*, 27 (7) : 955 - 967.

Hornby D. 1975. Inoculum of the take-all fungus : nature, measurement, distribution and survival. *EPPO Bulletin*, 5 (4) : 319 – 333.

<http://www.cdl.umn.edu/scab/vcg.html>

<http://NT.ars-grin.gov/>

<http://194.131.255.3/cabipages/Name/NAMES.ASP>

Ibrahim F.M., 1966. A new race of cotton wilt *Fusarium* in the Sudan Geniza. *Cotton Growing Review*, 1975 : 52, 303.

Jacobson D.J., and Gordon T.R. 1988. Vegetative compatibility and self-incompatibility within *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. *Phytopathology*, 78 (6) : 668 – 672.

Janvier C., Villeneuve F., Alabouvette C., Edel-Hermann V., Mateille T., and Steinberg C. 2006 (sous presse). Soil health through soil disease suppression : which strategy from descriptors to indicators? *Soil Biology & Biochemistry*.

Kappelman A.J. 1983. Distribution of races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* within the United States. *Plant Disease*, 67 (11) : 1229 - 1231.

Katan T. 1999. Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytoparasitica*, 27 (1) : 51 – 63.

Katan T., and Katan J. 1988. Vegetative-compatibility grouping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* from tissue and rhizosphere of cotton plants. APS. Phytopathol., 78 (6) : 852 – 855.

Kaufman Z., Netzer D., and Barash I. 1981. The apparent involvement of phytoalexins in the resistance response of cotton plants to *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. Phytopathology Z., 102 : 178 - 182.

Kim W.K., Zerucha T., and Klassen G.R. 1993. A region of heterogeneity adjacent to the 5S ribosomal RNA gene of cereal rust. Current Genetics, 22 : 101 - 105.

Kim Y., Hutmacher R. B., and Davis R. M. 2005. Characterization of California Isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* Plant Disease, 89: 366 - 372.

Kistler H.C., Momol E.A., and Benny U. 1991. Repetitive genomic sequences for determining relatedness among strain of *Fusarium oxysporum*. Phytopathology, 86 : 331-336.

Kistler H.C. 1997. Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. Phytopathology, 87 (4) : 474 – 479.

Kistler H.C, and Miao V.P.W. 1992. New modes of genetic change in filamentous fungi. Annual Review of Phytopathology, 30 : 131 - 152.

Kistler H.C., Alabouvette C., Baayen R.P., Bentley S., Brayford D., Coddington A., Correll J., Daboussi M.-J., Elias K., Fernandez D., Gordon T.R., Katan T., Kim H.G., Leslie J.F., Martyn R.D., Migheli Q., Moore N.Y., O'Donnell K., Ploetz R.C., Rutherford M.A., Summerell B., Waalwijk C., and Woo S. 1998. Systematic numbering of vegetative compatibility groups in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. Phytopathology, 88 : 30 – 32.

Klein K., Edel Hermann V., Gautheron N., and Steinberg C. 2003. Sex and Recombination in an imperfect world : evidence of both in *Fusarium oxysporum* In “22<sup>nd</sup> Fungal Genetics Conference”, Pacific Grove, CA, 18-23/03/2003.

Koenig R. L., Ploetz R. C., and Kistler H. C. 1997. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* consists of a small number of divergent and globally distributed clonal lineages. Phytopathology, 87 : 915 - 923.

Komada H. 1975). Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. Review of Plant Protection Research, 8 : 114 - 124.

Kuo M.S., and Scheffer R.P. 1964. Evaluation of fusaric acid as factor in development of *Fusarium* wilt. Phytopathology, 54 : 104 - 144.

- Lagière R. 1966. Le cotonnier. G-P. Maisonneuve et Larose, Ed. 306 p.
- Langin T., Capy P., and Daboussi M.J. 1995. The transposable element *impala*, a fungal member of the *Tcl*-mariner superfamily. *Molecular and General Genetics*, 246 : 19 - 28.
- Larkin R.P., Hopkins D.L., and Martin F.N. 1993. Suppression of *Fusarium* wilt of watermelon by non pathogenic *Fusarium oxysporum* and other microorganisms recovered from a disease-suppressive soil. *Phytopathology*, 86 : 812 - 819.
- Lemanceau P., Samson R., et Alabouvette C. 1988. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. XV- Comparaison des populations de *Pseudomonas* fluorescents dans un sol résistant et un sol sensible aux fusarioses vasculaires. *Agronomie*, 8 : 243 - 249.
- Leslie J.F. 1991. Mating populations in *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium* section *Liseola*). *Phytopathology*, 81 : 1058 - 1060.
- Leslie J. F. 1993. Fungal vegetative compatibility. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 31 : 127 – 151.
- Leslie J.F. 1995. *Gibberella fujikuroi* : available populations and variable traits. *Canadian Journal of Botany*, 73 : S282 - S291.
- Lori G., Edel-Hermann V., Gautheron N., and Alabouvette C. 2004. Genetic diversity of pathogenic and nonpathogenic populations of *Fusarium oxysporum* isolated from carnation fields in Argentina. *Phytopathology*, 94 : 661 - 668.
- Louvet J. 1973. Les perspectives de lutte biologique contre les champignons parasites des organes souterrains des plantes. In perspectives de lutte biologique contre les champignons parasites des plantes cultivées et tissus ligneux. pp. 48 – 58.
- Louvet J., Rouxel F., et Alabouvette C. 1976. Recherche sur la résistance des sols aux maladies. I- Mise en évidence de la nature microbiologique de la résistance du sol au développement de la fusariose vasculaire du melon. *Annales de Phytopathologie*, 8 : 425 – 436.
- Lucas P., and Nignon M. 1987. Influence du type de sol et de ses composantes physico-chimiques sur les relations entre une variété de blé (*Triticum aestivum*, L. var Rescher) et deux souches agressives et hypoagressives de *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Von Arx et olivier var *tritici* Walker. *Plant Soil*, 97 : 105 – 117.
- Lyda S.D. 1982. Physical and chemical properties of suppressive soils. pp 9-22. In Schneider R.W. Ed. *Suppressive soils and plant diseases*. A.P.S. Press, St. Paul, Minnesota.
- Mace M.E., Veech J.A., and Beckman C.H. 1972. *Fusarium* wilt of susceptible and resistant tomato isolines spores transport. *Phytopathology*, 62 : 651 - 654.



- Mace M.E., Stipanovic R.D., and Bell A.A. 1985. Toxicity and role of terpenoid phytoalexins in *Verticillium* wilt resistance in cotton. *Physiology and Plant Pathology*, 26 : 209 - 218.
- Marriot A.C., Archer S.A., and Buck K.W. 1984. Mitochondrial DNA in *Fusarium oxysporum* is a 46.5 kilobase pair circular molecule. *Journal of General Microbiology*, 130 : 3001 - 3008.
- Maynard S.J., Smith N. H., O'Rourke M., and Spratt B. G. 1993. How clonal are bacteria? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90 : 4384 - 4388.
- Messiaen C.M., et Cassini R. 1968. Recherches sur les fusarioses. IV- La systématique des *Fusarium*. *Annales des Epiphyties*, 18 (2) : 387 – 454.
- Messiaen C.M., et Lafon R. 1970. Les maladies des plantes maraîchères. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). Deuxième édition. 441 p.
- Meyer J.A. 1967. Recherches sur les fusarioses. II- Ecologie et pathogénie du *Fusarium oxysporum*. *Ann. Epiphyties*, 18 (2) : 241 – 247.
- Migheli Q., Steinberg C., Davière J.M., Olivain C., Gerlinger C. Gautheron N., Alabouvette C., and Daboussi M.J. 2000. Recovery of mutants impaired in pathogenicity after transposition of *impala* in *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. *Phytopathology*, 90 : 1279 - 1284.
- Miller D.E., and Burke D.W. 1974. Influence of soil bulk density and water potential on *Fusarium* root rot of bean. *Phytopathol.*, 64 : 526 – 529.
- Ministère de la Coopération et du Développement. 1991. Cotonnier. *In* Memento de l'Agronome. Collection Techniques Rurales en Afrique. République française. pp 1017 – 1032.
- Ministère de l'Agriculture et des Ressources Animales. 1999. L'agriculture ivoirienne à l'aube du XXI<sup>ème</sup> siècle. Une publication du Salon de l'Agriculture et des Ressources Animales d'Abidjan (SARA). 309 p.
- Momol E.A., and Kistler H.C. 1992. Mitochondrial plasmids do not determine host range in crucifer-infecting strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathology*, 41 : 103 - 112.
- Monnier Y. 1978. Sols. *In* Vennetier P. & Laclavère G. (Eds.). Atlas de la Côte d'Ivoire. Les Atlas de Jeune Afrique. Editions J.A. Paris, France. 71 p.
- Monnier Y. 1983. Végétation. *In* Vennetier P. & Laclavère G. (Eds.). Atlas de la Côte d'Ivoire. 2<sup>ème</sup> Edition. Jeune Afrique. Paris, France. 72 p.

Moricca S., Ragazzi A., Kasuga T., and Mitchelson K.R. 1998. Detection of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* in cotton tissue by polymerase chain reaction. *Plant Pathology*, 47 : 486 – 494.

Mulis K.B, Faloona F.A., Scharf S.J., Saiki R.K. Horn G.T., and Erlich H.A. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro : the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51 : 263 - 273.

N'dabalishye I. 1995. Agriculture vivrière Ouest – africaine à travers le cas de la Côte d'Ivoire. Monographie. Institut des Savanes. Abidjan, Côte-d'Ivoire. 383 p.

Nelson P.E., Toussoun T.A., and Cook R.J. 1981. *Fusarium* diseases, Biology and Taxonomy. pp 121 - 128, 427 - 445. Nelson P.E., Toussoun T.A., and Cook R.J. (Eds). The Pennsylvania State University Press, University Park and London.

Nelson P. E., Toussoun T. A., and Marasas W. F. O. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press, University Park and London. 193 p.

O'Donnell K., Cigelnik E., and Nirenberg H. I. 1998. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, 90 : 465 - 493.

O'Donnell K., Kistler H. C., Cigelnik E., and Ploetz R. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 95 : 2044 - 2049.

O'Donnell K., Sutton D. A., Rinaldi M. G., Magnon K. C., Cox P. A., Revankar S. G., Sanche S., Geiser D. M., Juba J. H., van Burik J.-A. H., Walsh T. J., Francesconi A., Anaissie E. J., Padhye A., and Robinson J. S. 2004. Genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium oxysporum* complex inferred from gene genealogies and AFLP analyses: Evidence for the recent dispersion of a geographically widespread clonal lineage and nosocomial origin. *Journal of Clinical Microbiology*, 42 : 5109 - 5120.

Olivain C., and Alabouvette C. 1997. Colonization of tomato root by a non-pathogenic strain of *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist*, 137 : 481 - 494.

Olivain C., and Alabouvette C. 1999. Process of tomato root colonization by a pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in comparison to a non-pathogenic strain. *New Phytologist*, 141 : 497 - 510.

Ollagnier M., et Renard J.L. 1976. Influence du potassium sur la résistance du palmier à huile à la fusariose. *Oléagineux*, 31 (5) : 203 - 207.

- Papendick R.I., and Cook R.J. 1974. Plant water stress and development of *Fusarium* root rot in wheat subjected to different cultural practices. *Phytopathology*, 64 : 358-363.
- Parry G. 1982. Le cotonnier et ses produits. Techniques agricoles et productions tropicales. Maisonneuve & Larose (Ed.). Paris. 502 p.
- Pegg G.F. 1981. Biochemistry and physiology of pathogenesis. *In* Mace M.E., Bell A.A. et Beckman C.H. 1981. Ed. Academic Press, 51 - 78.
- Pérez-Piqueres A., Edel-Hermann V., Alabouvette C., Steinberg C. 2006. Response of soil microbial communities to compost amendments. *Soil Biology & Biochemistry*, 38 : 460-470.
- Perraud A. 1971. Les sols. pp 269-391. *In*. Le milieu naturel de la Côte d'Ivoire, ORSTOM, Ed. Abidjan, ORSTOM.
- Pieri C. 1991. Les bases agronomiques de l'amélioration et du maintien de la fertilité des terres de savanes au Sud du Sahara. Actes des rencontres internationales. Montpellier, 10 – 14 décembre 1990. Ministère de la Coopération, Paris France. pp 43 – 74. *In* Savanes d'Afrique, terres fertiles.
- Ploetz R. C. 1994. Panama disease: return of the first banana menace. *International Journal of Pest Management*, 40 (4): 326 - 336.
- Preston-Mafham J., Boddy L., and Randerson P.F. 2002. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles – a critique. *FEMS microbiology Ecology*, 42 : 1 – 14.
- Puhalla J.E. 1981. Genetic considerations of the genus *Fusarium*. *In* “*Fusarium* : Diseases, biologie and taxonomy”, Nelson P.E., Toussoun T.A. and Cook R.J. Eds. pp. 291 - 305. The Pennsylvania State University Press, University Park and London.
- Puhalla J.E. 1985. Classification of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany*, 63 : 179 -183.
- Ragazzi A. 1992. Different strains of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* from cotton in Angola : Biological aspects and pathogenicity. *Journal of Plant Disease and Protection*, 99 (5) : 499 - 504.
- Rapilly F. 1968. Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). Paris, France. 102 p.
- Rat B. 1979. Mise en évidence de sols résistants au flétrissement bactérien des solanées. *Annales de Phytopathologie*, 11 : 118.

- Renard J.L., et de Franqueville H. 1991. Intérêt des techniques culturales dans un dispositif de lutte intégrée contre la fusariose du palmier à huile. *Oléagineux*, 46 (7) : 255 - 265.
- Robb J., Douglas S.M., Powell K., and Street P.J. 1987. Time course of wall-coating secretion in *Verticillium* infected tomato. *Physiological and Molecular Biology*, 31 : 217 - 226.
- Robert M., and Chenu C. 1992. Interaction between soil minerals and microorganisms. pp 307 – 404. *In* G. Stotzky and J.M. Bollag (Eds), *Soil Biochemistry*, Vol.7. M. Dekker New York.
- Roger L. 1953. Etude descriptive des maladies parasitaires des pays chauds. *Phytopathologie des pays chauds*. Tome II. Ed. Paul LECHEVALIER. Paris, France. pp 2151 – 2161.
- Rohlf F. J. 1993. NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 2.0 ed. State University of New York, Stony Brook.
- Rouxel F. 1978. Etude de la résistance microbiologique des sols aux fusarioses vasculaires. Application aux sols de la Basse Vallée de la Durance. Thèse Docteur ès Sciences. Université de Dijon. 134 p.
- Rouxel F. 1991. Natural suppressiveness of soils to plant diseases. *In* *Biotic interactions and soilborne diseases*, edited by A. B. R. Beemster. Amsterdam: Elsevier. pp 287-296.
- Rouxel F., Alabouvette C., et Louvet J. 1977. Recherche sur la résistance des sols aux maladies. II- Incidence des traitements thermiques sur la résistance microbiologique d'un sol à la fusariose vasculaire du melon. *Annales de Phytopathologie*, 9 : 183 – 192.
- Rovira A.D. 1982. Organisms and mechanisms involved in some soils suppressive to soilborne plant diseases. pp 23-34. *In* Schneider R.W. Ed. *Suppressive soils and plant diseases*. A.P.S. Press, St. Paul, Minnesota.
- Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G.T., Erlich H.A., and Arnheim N. 1985. Enzymatic amplification of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230 : 1350 - 1354.
- Samac D.A., and Leong S.A. 1989. Mitochondrial plasmids of filamentous fungi : characteristics and use in transformation vectors. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2 : 155 - 159.
- Scher F.M., and Baker K.F. 1980. Mechanism of biological control in a *Fusarium* suppressive soil. *Phytopathology*, 70 : 412 – 417.
- Scher F.M., and Baker K.F. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens . *Phytopathology*, 72 : 1567 – 1573.

Schi J., Mueller W.C., and Beckman C.H. 1991a. Ultrastructure responses of vessel contact cells in cotton plants resistant or susceptible to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 38 : 211 - 222.

Schi J., Mueller W.C., and 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., and 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.

Schi J., Mueller W.C., and Beckman C.H. 1993. The inhibition of fungal growth in resistant cotton plants infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. *Phytopathology*, 139 : 253 – 260.

Schouten A., van den Berg G., Edel-Hermann V., Steinberg C., Gautheron N., Alabouvette C., de Vos C. H., Lemanceau P., and Raaijmakers J. M. 2004. Defense responses of *Fusarium oxysporum* to 2,4-diacetylphloroglucinol, a broad-spectrum antibiotic produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 17 : 1201 - 1211.

Singh K., Frisvad J.C., and Mathur S.B. 1991. An illustrated manual on identification of some seed-borne *Aspergilli*, *Fusaria*, *Penicillia* and their mycotoxins. Edition 1991. Hellerup, Denmark. 132 p.

Skovgaard K., Nirenberg H.I., O'Donnell K., and Rosendahl S. 2001. Evolution of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* races inferred from multigene genealogies. *Phytopathology*, 91 (12) : 1231 – 1237.

Smith N.S., and Snyder W.C. 1971. Relationship of inoculum density and soil types to severity of *Fusarium* wilt of sweet potato. *Phytopathology*, 61 : 1049 – 1051.

Smith S.N., and Snyder W.C. 1975. Persistence of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* in fields in the absence of cotton. *Phytopathology*, 65 : 190 - 196.

Smith S.N., and Pugh G.J.F. 1979. Evaluation of dehydrogenase as a suitable indicator of soil microflora activity. *Enzyme Microbial Technology*, 1 : 279 – 281.

Smith S.N., Ebbels D.L., Garber R.H., and Kappelman A.J. 1981. *Fusarium* wilt of cotton. In *Fusarium. Disease, Biology and Taxonomy*. Nelson P., Toussoun T. & Cook R. Eds. Penn. State University Press, 29 – 38.

- Smith J.M., Smith N.H., O'Rourke M., and Spratt B.G. 1993. How clonal are bacteria? Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90 : 4384 - 4388.
- Sneath P. H. A., and Sokal R. R. 1973. Numerical Taxonomy. The Principles and Practise on Numerical Classification. San Francisco. Freeman, W.H. & Co. 573 p.
- Snyder W.C., and Shirley N.S. 1981. Current statuts. In Fungal wilt diseases of plants. Mace M., Bell A., Beckman C. Eds. pp 25 - 48.
- Souop D. 1986. Etude de la variabilité intraclonale du pouvoir pathogène et de la morphologie dans la descendance par microconidies de quatre isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, agent causal de la fusariose du cotonnier. Mémoire D.A.T. ESAT CNEARC. 42 p.
- Southern E.M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments sparated by gel electrophoresis. Journal of Molecular Biology, 98 : 503-517.
- Starr J. L., Jeger M.J., Martyn R.D., and K. Schilling. 1989. Effects of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* on plant mortality and yield of cotton. Phytopathology, 79 (6) : 640 – 646.
- Steinberg C. 2001. Synthèse des activités d'enseignement, d'encadrement et de recherche. Présentée pour l'habilitation à diriger des recherches. Université de Bourgogne. Dijon, France. 106 p.
- Steinberg C., Edel V., et 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.
- Steinberg C., Whipps J.M., Wood D.A., Fenlon J., and Alabouvette C. 1999a. Effects of nutritional sources on growth of non-pathogenic strain and four strains of *Fusarium oxysporum* pathogenic on tomato. Mycological Research, 103 (6) : 769-778.
- Steinberg C., Whipps J.M., Wood D.A., Fenlon J., and Alabouvette C. 1999b. Mycelial development of *Fusarium oxysporum* in the vicinity of tomato roots. Mycological Research, 103 : 769 - 778.
- Steinberg C., Guillemaut C., Edel V., Gautheron N., Höper H., Singh P., and Alabouvette C. 2002. Soil suppressiveness to soilborne diseases : Interactions between biotic and abiotic antagonistic modes of action 24 p. In: Workshop on Soil and Soilborne plant diseases, S.C. Lamprecht ed, 18-19 September 2002, at Plant Protection Research Institute, Stellenbosch, Republic of South Africa.

Steinberg C., Edel-Hermann V., Alabouvette C., and Lemanceau P. 2006 (sous presse). Soil suppressiveness to plant diseases. In *Modern Soil Microbiology*, eds. van Elsas, J.D., Jansson, J. and Trevors, J.T., CRC Press.

Steinberg C., Edel-Hermann V., Guillemaut C., Pérez-Piqueres A., Singh P., and Alabouvette C. (2004). Impact of organic amendments on soil suppressiveness to diseases. In *Multitrophic interactions in soil and integrated control*, eds. Sikora, R.A., Gowen, S., Hauschild, R. and Kiewnick, S., Vol. 27 (1), IOBC wprs Bulletin / Bulletin OILB srop, pp. 259-266.

Stolzy L.H., Letey J., Klotz L.J., and Labanauskas C.K. 1965. Water and aeration as factors in root decay of *Citrus sinensis*. *Phytopathology*, 55 : 270 – 275.

Stotzky G. 1986. Influence of soil mineral colloids on metabolic processes, growth, adhesion, and ecology of microbes and viruses. pp 305 – 428. In P.M. Huang and M. Schnitzer Eds., *interactions of soil minerals with natural organisms and microbes*. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.

Stotzky G., Dawson J.E. Martin R.T., and Ter Kuile G.H.H. 1961. Soil mineralogy as a factor in the spread of *Fusarium* wilt of banana. *Science*, 133 : 1483 – 1485.

Stover R. H. 1962. Fusarial wilt (Panama disease) of bananas and other *Musa* species. 128 p.

Talboys P.W. 1972. Resistance to vascular wilt fungi. *Proc. Roy. Soc. London B*, 181 : 319 - 332.

Tantaoui A., Ouinten M., Geiger J.-P., and Fernandez D. 1996. Characterization of a single clonal lineage of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* causing Bayoud disease of date palm in Morocco. *Phytopathology*, 86 : 787 - 792.

Taylor J. W., Jacobson D. J., and Fisher M. C. 1999. The evolution of asexual fungi: reproduction, speciation, and classification. *Annual Review of Phytopathology*, 37 : 197 - 246.

Tello Marquina J.C., Alabouvette C, et Louvet J. 1980. Aptitude à la conservation des micronidies de *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. *Annales de Phytopathologie*, 12 : 227 - 233.

Tivoli B., Corbière R., et Lemarchand E. 1990. Relation entre le pH des sols et leur niveau de réceptivité à *Fusarium solani* var. *coeruleum* et *Fusarium roseum* var. *sambucinum* agents de la pourriture sèche de tubercules de pomme de terre. *Agronomie*, 10 : 63 – 68.

Van Bruggen A.H.C., and Semenov A.M. 2000. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Applied Soil Ecology*, 15 : 13 - 24.

- Vandermolen G.E., Beckman C.H., and Rodehorst E. 1977. Vascular gelation : a general response phenomenon following infection. *Physiological Plant Pathology*, 11 : 95 - 100.
- Walz M. 1995. Electrophoretic karyotyping. *In The Mycota. II. Genetics and Biotechnology.* Esser K. & Lemke P.A. Eds. Springer-Verlag, Berlin.
- Wickens G. M. 1963. *Fusarium* wilt of cotton : seed husk a potential means of dissemination. *The Empire Cotton Growing Review*, 23 – 26.
- Weller D. M., Raaijmakers J. M., Gardener B. B. M., and Thomashow L. S. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 40 : 309.
- Whipps J.M. 1997. Interactions between fungi and plant pathogens in soil and the rhizosphere. *In Multitrophic interactions in terrestrial systems.*, edited by A. C. Gange and V. K. Brown. Oxford, UK : Blackwell Science. pp 47 - 63.
- Wildman H.G. 1995. Influence of habitat on the physiological and metabolic diversity of fungi. *Canadian Journal of Botany*, 73 (suppl 1) : 907 – 916.
- Windels C.E. 1992. *Fusarium*. pp 115-128. *In “ Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi”*. Singleton L.L., J.D.M. & Rush C.M., Eds.. American Phytopathological Society Press, St. Paul.
- Wood C.M., and Ebbels D.L. 1972. Host range and survival of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* in north-western Tanzania. *The Empire Cotton Growing Review*, 49 : 79 - 82.
- Youssef B.A., and Heitefuss R. 1983. Side-effects of herbicides on cotton wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. II. Effect of herbicides on quantitative and qualitative composition of sugars and amino-acids in cotton seed and root exudates. 90 (1) : 36-49.
- Zegerman M., Couteaudier Y., Alabouvette C., et Pave A. 1987. Modélisation du processus de compétition nutritive entre micro-organismes : application aux *Fusarium*., *Agronomie*, 7(10) : 797 - 806.
- Zentmeyer G.A., Wallace P., and Horsfall J.G. 1944. Distance as a dosage factor in the spread of Dutch disease. *Phytopathology*, 34 (12) : 1025 – 1033.
- Zhang J., Mace M.E, Stipanovic R.D., and 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.



## INDEX ALPHABÉTIQUE DES TAXONS CITÉS

- Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. (Malvaceae) : p. 41
- \* *Achatina weynsi* Dautz. (Achatinidae) : p. 20
- Alternaria* (Wallroth) Nees (Dematiaceae) : p. 1, 21
- Aphanomyces* de Bary (Saprolegniaceae) : p. 37
- Aphanomyces euteiches* Drechsler (Saprolegniaceae) : p. 37
- Armillaria* Fries (Agaricaceae) : p. 20
- Calonectria* de Not. (Nectriaceae) : p. 28
- Cassia tora* L. (Caesalpiaceae) : p. 39, 41
- Colletotrichum* Corda. (Melanconiaceae) : p. 1, 20, 21
- \* *Collistopela pellucida* Putzeys (Achatinidae) : p. 20
- Coniothyrium minitans* Campbell (Leptosphaeriaceae) : p. 38
- Diplodia gossypina* Cke. (Sphaeropsidaceae) : p. 1, 21
- \* *Dysdercus* Boisd. (Pyrrhocoridae) : p. 21
- Fusarium* Link (Tuberculariaceae) : p. 1, 20, 25, 26, 27, 28, 33, 34, 37, 63, 64, 67, 71, 90, 118, 119, 142, 143
- Fusarium bulbigenum* Cke. & Masee (Tuberculariaceae) : p. 25
- Fusarium ciliatum* Link (Tuberculariaceae) : p. 26
- Fusarium coeruleum* (Lib.) Sacc. (Tuberculariaceae) : p. 26
- Fusarium conglutinans* Woll. (Tuberculariaceae) : p. 25
- Fusarium malvacearum* Taub. (Tuberculariaceae) : p. 2, 41, 42
- Fusarium moniliforme* Sheldon (Tuberculariaceae) : p. 26, 64, 111
- Fusarium orthoceras* App. & Wr. (Tuberculariaceae) : p. 25
- Fusarium oxysporum* (Schlecht.) Sn. & H. (Tuberculariaceae) : p. 2, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 37, 39, 41, 43, 46, 50, 53, 56, 59, 63, 64, 65, 67, 75, 76, 80, 81, 90, 91, 92, 100, 102, 107, 108, 118, 119, 120, 121, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 143, 147, 149
- Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Kill. & Maire) Gordon (Tuberculariaceae) : p. 65
- Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* (Sm.) Sn. & H. (Tuberculariaceae) : p. 36, 138
- Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* (Bolley) Sn. & H. (Tuberculariaceae) : p. 50, 80, 81, 111, 141, 147, 150
- Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Sn. & H. (Tuberculariaceae) : p. 26
- Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (Atk.) Sn. & H. (Tuberculariaceae) : p. 38
- Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* Kendr. & Sn. (Tuberculariaceae) : p. 138

*Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* Jarv. & Shoem. (Tuberculariaceae) : p. 138

*Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (Atk.) Sn. & H. (Tuberculariaceae) : p. 1, 2, 3, 21, 28, 34, 39, 41, 45, 46, 50, 51, 52, 53, 61, 63, 80, 81, 101, 102, 104, 106, 108, 109, 110, 111, 136, 137, 138, 139, 141, 145, 146, 149, 150

*Fusarium redolens* Woll. (Tuberculariaceae) p. 118, 119, 135

*Fusarium roseum* (Link) Sn. & H. (Tuberculariaceae): p. 26, 90, 118, 119, 135

*Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (Tuberculariaceae) p. 25, 26, 37, 90, 118, 119, 135, 141, 142, 143, 149

*Fusarium solani* var *coeruleum* (Sacc.) Booth (Tuberculariaceae) : p. 36

*Fusarium vasinfectum* Atk. (Tuberculariaceae) : p. 2, 41

*Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx. & Olivier var *tritici* Walker (Diaporthaceae) : p 38

*Gibberella* Sacc. (Nectriaceae) : p. 28

*Gibberella fujikuroi* (Sawada) Ito (Nectriaceae) : p. 63

*Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae) : p. 41

*Gossypium* L. (Malvaceae) : p. 5, 41, 46

*Gossypium anomalum* Wawra (Malvaceae) : p. 7

*Gossypium arboreum* L. (Malvaceae) : p. 5, 7, 41, 42

*Gossypium barbadense* L. (Malvaceae) : p. 5, 7, 11, 19, 41, 42, 45, 146

*Gossypium barbosanum* Phill. & Clem. (Malvaceae) : p. 7

*Gossypium capitiviridis* Mauer (Malvaceae) : p. 7

*Gossypium herbaceum* L. (Malvaceae) : p. 5, 7

*Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae) : p. 5, 7, 11, 19, 41, 50, 80, 81 100, 136, 137, 146

*Gossypium triphyllum* Hochr. (Malvaceae) : p. 7

\* *Heterodera schachtii* Schacht (Heteroderidae) : p. 37

*Hypomyces* (Fr.) Tul. (Nectriaceae) : p. 28

*Linum usitatissimum* L. (Linaceae) : p. 50, 81

*Macrophomina* Petr. (Sphaeropsidaceae) : p. 20

*Medicago sativa* L. (Fabaceae) : p. 41

\* *Meloidogyne* Göldi (Heteroderidae) : p 43

*Nectria* Fr. (Nectriaceae) : p. 28, 63

*Nematospora* Pegl. (Spermophthoraceae) : p. 1, 21

*Nematospora coryli* Pegl. (Spermophthoraceae) : p. 21

*Nematospora gossypii* Ash. & Now (Spermophthoraceae) : p. 21

*Neurospora crassa* Shear & B.O. Dodge (Sordariaceae) ; p. 63

*Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) : p. 41

\* *Peridontopyge spinosissima* Silv. (Spirostreptidae) : p. 20

*Physalis alkekengi* L. (Solanaceae) : p. 41  
*Phytophthora* de Bary (Pythiaceae) : p. 20, 37  
*Plasmodiophora brassicae* Wor. (Plasmodiophoraceae) : p. 36  
\* *Polyphagotarsonemus latus* Banks (Tarsonemidae) : p. 20  
*Pseudomonas* Migula (Pseudomonadaceae) : p. 38  
*Pythium* Prings. (Pythiaceae) : p. 1, 20, 37, 38  
*Pythium ultimum* Trow (Pythiaceae) : p. 36  
*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (Ralstoniaceae) : p. 37  
*Rhizoctonia* Dc. (Mycelia sterilia) : p. 20  
*Rhizoctonia solani* Kühn (Mycelia sterilia) : p. 1, 20, 38, 64  
*Sclerotium rolfsii* Sac. (Mycelia sterilia) : p. 1, 20  
*Streptomyces scabies* (Thaxter) Waksman & Henrici (Streptomycetaceae) : p. 37  
\* *Tetranychus cinnabarinus* Boisd. (Tetranychidae) : p. 20  
*Thermus aquaticus* Brock & Freeze (Thermaceae) : p. 70  
*Trichoderma* (Gray) Persoon (Moniliaceae) : p. 38  
*Verticillium* Nees (Moniliaceae) : p. 20, 37  
*Verticillium biguttatum* Gams (Moniliaceae) : p. 38

(\*) : Les taxons marqués d'un astérisque appartiennent au Règne animal

# LEXIQUE

**Actinomycètes** : Bactéries dont la croissance donne lieu à des colonies constituées d'hyphes, qui irradient, par croissance centrifuge. D'où l'appellation de «Champignons rayonnants» ou "Ray fungi" en Anglais.

**Agressivité** : Composante quantitative du pouvoir pathogène ; elle ne s'exprime que si le parasite est virulent. Elle varie en continu et est gouvernée par plusieurs gènes dont les effets se cumulent.

**Amorce** : Oligonucléotide qui, hybridé avec une matrice d'acide nucléique, permet à une polymérase d'initier la synthèse du brin complémentaire ("primer" en Anglais).

**Amplification** (de gène) : Production *in vivo* de copies supplémentaire d'une séquence d'ADN intra ou extrachromosomique.

**Anastomose** : Fusion des hyphes mycéliennes chez les champignons filamenteux.

**Androcée** : Ensemble des organes mâles, étamines et staminodes, d'une fleur.

**Anthère** : Partie terminale des étamines dans laquelle se forme le pollen.

**Auxotrophe** : Désigne un organisme qui a perdu, à la suite d'une mutation, la possibilité de synthétiser, à partir d'un précurseur, un métabolite essentiel, comme le font les autres individus de son espèce.

**Bases échangeables** : Cations adsorbés à la surface des particules colloïdales du sol, mais pouvant être échangés, c'est-à-dire remplacés par des cations se trouvant en solution dans le sol.

**Bractée** : Feuille atrophiée sur les hampes florales ou feuille modifiée entre fleur et feuille. Petite feuille à l'aisselle de laquelle se développe la fleur ou l'inflorescence.

**Calice** : Ensemble des sépales d'une fleur.

**Callose** : Polysaccharide qui recouvre normalement l'intérieur des cellules phloémiques et qui peut, dans le cas de certaines maladies, former des dépôts anormalement abondants.

**Capacité d'échange cationique** (C.E.C.) : Quantité totale, exprimée en milliéquivalents (meq) par 100 g, de cations qu'un sol ou un milieu peut adsorber et échanger dans des conditions de pH bien définies.

**Capsule** : Fruit sec déhiscent provenant de plusieurs carpelles, à une ou plusieurs loges.

**Carpelle** : Paroi du pistil d'une fleur.

**Caryotype** : Nombre et forme caractéristiques des chromosomes d'une espèce.

**Chancre** : Terme désignant, typiquement, les altérations de l'écorce des plantes ligneuses, est utilisé, par extension, pour décrire les nécroses corticales, tant chez les ligneux que chez les plantes herbacées.

**Chlamydospore** : Spore (généralement issue du thalle) à paroi épaisse ; forme de résistance chez les champignons.

**Cladistique ou phylogénétique** : Qualifie les classifications ou méthodes d'analyse des caractères qui visent à mettre en évidence la séquence évolutive de leurs transformations, c'est-à-dire déterminer leur état plésiomorphe (primitif) et leurs états apomorphes (dérivés).

**Codon** : Triplet de nucléotides de l'ARN messager (ARNm).

**Cofacteur** : Substance non protéique nécessaire au fonctionnement d'une enzyme.

**Complexe absorbant** : Complexe formé dans les sols par certaines argiles et les humus (micelles argilo-humiques) et qui sont doués de capacités d'adsorption des minéraux nutritifs.

**Conidie** : Spore asexuée de certains champignons, formée sur une structure, le conidiophore, préalablement différencié par le thalle.

**Conidiophore** : Structure végétative produite par l'hyphe végétative et portant les conidies.

**Corolle** : Enveloppe de la fleur constituée des pétales. Ensemble des pétales.

**Coton-graine** : Partie récoltée du coton comprenant les graines entourées de leurs fibres.

**Dénaturation** (d'acide nucléique) : Conversion de l'acide nucléique de l'état double brin à l'état simple brin. La séparation des brins est obtenue très fréquemment par la chaleur ou par alcalinisation.

**Dendrogramme** : Vient de "arbre" et "dessin" en Grec. Schéma exprimant les liens entre des taxons sous la forme d'une succession de branchements.

**Deutéromycètes** : Encore appelés Champignons Imparfais ou *Fungi Imperfecti*, sont des champignons à thalle septé et dont on ne connaît pas les formes de reproduction sexuée.

**Dialypétale** : Une corolle dialypétale est celle formée de plusieurs pétales libres.

**Diploïde** : Se dit d'un individu ou d'une cellule dont le noyau possède 2 jeux chromosomiques complets ( $2n$ ).

**Echinulée** : (Se dit pour une paroi de spore) pourvue d'échinulations, c'est-à-dire de petites épines, de petites saillies en cônes minces ou en aiguilles courtes.

**Electrophorèse** (sur gel) : Technique permettant de séparer les acides nucléiques ou les protéines en fonction de leurs tailles, de leurs charges électriques ou d'autres particularités physiques.

**Enchytraeïdes** : "Potworms" en Anglais, sont des petits vers annelés, de 2,5 à 35 mm, en général, habituellement de couleur blanche et beaucoup plus rarement transparents, de couleur rouge ou de couleur foncée.

**Endoderme** : Chez la plante, couche la plus interne de l'écorce dans les racines ; couche cylindrique de cellules qui constitue la barrière entre l'écorce et la stèle.

**Entre-nœud** : Segment de tige d'une plante entre chaque point d'attache des feuilles (nœud).

**Enzyme** : Protéine intervenant en catalyseur dans les réactions biochimiques.

**Enzyme de restriction** : Synonyme d'endonucléase de restriction. Endonucléase capable de cliver l'ADN au niveau de séquences spécifiques. Les enzymes de restriction sont un des outils essentiels du génie génétique

**Epidémie** : Apparition d'un grand nombre de cas d'une maladie infectieuse transmissible, ou accroissement considérable du nombre de cas dans une région donnée au sein d'une population.

**Etamines** : Pièces fertiles mâles de la fleur, productrices de pollen et composées d'un filet et d'une anthère.

**Facteurs abiotiques** : Facteurs environnementaux physico-chimiques, tels que les facteurs climatiques et édaphiques.

**Facteurs biotiques** : Facteurs environnementaux liés à la vie, relatifs aux interactions entre les organismes, directes ou indirectes, immédiates ou différées.

**Ferrallitiques** (sols) : Sols formés sous climat tropical chaud et humide et ayant subi une altération poussée des matériaux primaires sur une épaisseur importante ; les oxydes de fer et d'aluminium libérés se concentrent en quantité élevée.

**Ferrugineux** (sols) : Sols procédant d'une évolution intermédiaire entre la fersiallisation et la ferrallitisation ; l'altération globale des minéraux primaires n'est pas aussi complète que celle qui préside à la ferrallitisation.

**Flétrissement** : Affection se traduisant par une perte de turgescence dans les cellules d'une plante et qui provient d'un déficit en eau ou d'un dysfonctionnement de la conduction du xylème par des parasites radiculaires ou vasculaires.

**Fonte de semis** : Destruction de plantules en germination par un parasite, habituellement fongique (" Dumping off " en Anglais).

**Forme spéciale** (*Formae speciales* : f.sp.) : Entité taxonomique intraspécifique montrant chez les champignons une spécificité parasitaire à l'égard d'une espèce végétale.

**Fragment de restriction** : Polynucléotide produit par digestion d'un ADN à l'aide d'une enzyme de restriction.

**Fusariose** : Affection fongique due aux espèces du genre *Fusarium*, se manifestant, généralement, par des pourritures, des chancres ou des trachéomycoses (affectant les vaisseaux conducteurs de la plante). La trachéomycose causée par les formes spéciales de *Fusarium oxysporum* est appelée fusariose vasculaire.

**Gamopétale** : Se dit d'une fleur dont les pétales sont soudés.

**Génome** : Ensemble du matériel nucléaire héréditaire chez une cellule.

**Génotype** : Constitution génétique d'un individu pour un ou plusieurs caractères.

**Gossypol** : Pigment toxique pour l'homme et les monogastriques en général contenu dans des glandes disséminées dans toutes les parties aériennes du cotonnier.

**Granulométrie** : Répartition, selon la taille, des éléments constitutifs des sols.

**Haploïde** : Se dit d'une cellule dont le noyau ne possède que  $n$  chromosomes.

**Hétérocaryon** : Individu formé par fusion d'hyphes où les noyaux génétiquement distincts coexistent dans le même cytoplasme. Produit de la parasexualité, à la suite de mutation ou à la suite d'une somatogamie (anastomose entre hyphes haploïdes).

**Hôte** : Organisme (plante) qui héberge un parasite.

**Hyphe** : Filament tubulaire (ramifié ou non), cloisonné, constituant le thalle filamenteux des champignons.

**Hypovirulence** : Caractérise les souches d'agents pathogènes présentant une virulence réduite et limitant le développement de souches virulentes.

**Inoculation** : Action d'introduire les germes d'une maladie dans un organisme. Mise en contact des particules infectieuses d'un agent pathogène avec l'organisme (ou l'organe) hôte.

**Inoculum** : Terme générique qui désigne tout élément d'un parasite capable d'infecter l'hôte. Particules de l'agent pathogène atteignant l'organisme hôte et capables de produire l'infection.

**Isolat** : Culture d'un microorganisme obtenu, au laboratoire, sur une source nutritive afin de le déterminer ou de le multiplier.

**Lancéolé (e)** : se dit d'une feuille, d'une bractée, d'une stipule dont le limbe est 3 à 4 fois plus long que large et rétréci progressivement aux extrémités.

**Lignine** : Matériau rigide enchâssé dans la matrice de cellulose de la paroi des cellules chez les vasculaires ; assure le soutien chez les espèces vivant sur la terre ferme.

**Lin** : Plante à fleurs bleues, de la famille des Linaceae, à tige fibreuse utilisée dans le textile, cultivée également pour ses graines oléagineuses.

**Linter** : Le duvet ou "linter" représente l'ensemble des fibres courtes restant attachées à la graine après l'égrenage. Le taux de linter est très faible chez *Gossypium barbadense*.

**Matière organique** : Matériaux d'origine organique, principalement végétale, provenant de la flore naturelle ou apportée par l'homme et s'infiltrant dans les horizons superficiels du sol ; ces matériaux, en s'altérant, donnent naissance à l'humus.

**Monadelphe** (Androcée) : Androcée dont toutes les étamines sont soudées, partiellement ou totalement, entre elles, formant un seul faisceau.

**Monospore** : se dit d'un organisme (champignon) issue de la culture d'une seule spore.

**Mutation** : Événement fortuit ou provoqué, qui entraîne une altération héréditaire du génome. Les mutations peuvent se manifester par l'apparition de nouveaux caractères.

**Nécrose** : Altération résultant de la mort des cellules.

**Nématodes** : Vers ronds non segmentés, souvent microscopiques, transparents, de la classe des némathelminthes, parasites des racines des plantes.

**Oligonucléotide** : Courte séquence d'acide nucléique (généralement inférieure à 100 bases). Les oligonucléotides synthétiques sont utilisés, par exemple, pour introduire des sites de restriction dans un ADN cloné ou pour constituer des gènes synthétiques, etc.

**Ovaire supère** : Ovaire situé au-dessus du plan d'insertion apparent des pièces florales.

**Paire de bases** : Bases complémentaires appartenant à deux brins différents, associés par liaisons hydrogène dans un acide nucléique double brin.

**Palmatilobé (e)** : Se dit d'une feuille découpée en lobes ou segments réguliers et disposés, à partir du centre, comme les doigts d'une main et suivant les nervures divergentes qui partent du centre du limbe. Toutefois, ces échancrures n'atteignent pas le milieu du limbe.

**Parasite** : Être vivant qui puise les substances qui lui sont nécessaires dans l'organisme d'un autre (hôte) auquel il cause un dommage plus ou moins grave.

**Pathogène** : Tout agent capable de provoquer une infection ou une maladie dans une cellule ou un organisme.

**Pétale** : Chacune des pièces, normalement colorées, de la corolle d'une fleur d'Angiosperme.

**Phénétique** : Synonyme de taxonomie numérique, système où les taxons sont identifiés et rangés sur la base de la similitude globale. La signification évolutive des caractères n'est pas prise en compte.

**Phénotype** : Aspect observable d'un organisme déterminé par son génotype et l'environnement.

**Phytoalexine** : Molécule synthétisée par les végétaux en réponse à différents facteurs de stress et possédant une toxicité à l'égard d'un large éventail de microorganismes.

**Phytopathogène** : Qui cause une maladie chez les plantes.

**Pionnote** : Type de stroma, produit notamment par des espèces de *Fusarium*, constituant une masse gélatineuse ou gluante, souvent de couleur saumon ou rouge - brunâtre, formée de filaments porteurs de conidies.

**Pistil** : Ensemble des éléments femelles d'une fleur ; ovaire contenant les ovules, style, stigmate. Le pistil est composé de carpelles.

**Plagiotrope** : Caractère de la croissance d'une pousse selon une orientation horizontale.

**Polymérase (ADN)** : Enzyme catalysant la polymérisation (5' vers 3') des mononucléotides triphosphates qui constituent l'ADN.

**Poquet** : Trou fait dans le sol dans lequel on met une ou plusieurs graines.

**Pourritures** : Les pourritures procèdent d'une décomposition des tissus, qui fait suite à la dislocation des cellules résultant de l'altération enzymatique des pectines des lamelles mitoyennes.

**Propagule** : Partie d'un agent pathogène capable de propager une maladie.

**Pustulé** : Qui porte des pustules ; les pustules sont des petites éminences sur la tige ou les feuilles d'une plante.

**Race physiologique** : Synonyme de Biotype. Entité génétique d'un microorganisme pathogène, définie par rapport à son pouvoir pathogène sur différents cultivars.

**Radicule** : Partie de la plantule qui se transformera en racine.

**Retrotransposon** : Classe de transposons dont la transposition nécessite la transcription inverse de leur ADN messager.

**Ribosome** : Organite synthétisé dans le noyau, composé de deux sous-unités qui assemblent les protéines dans le cytoplasme.

**Saprophyte** : Se dit d'un organisme qui se développe sur de la matière organique en décomposition.

**Sarclage** : Méthode de désherbage consistant à arracher, avec les mains, à couper avec un sarcloir, ou à enlever à la binette les mauvaises herbes présentes dans une culture.

**Sclérote** : Strome fongique globuleux limité par un tégument noirâtre, capable de longue survie en milieu défavorable.

**Sépales** : Verticille de feuilles modifiées chez les Angiospermes qui entoure et protège le bouton floral.

**Séquençage** : Détermination de l'ordre linéaire des composants d'une macromolécule. Par exemple, acides aminés d'une protéine, nucléotides d'un acide nucléique.

**Site de restriction** : Séquence d'ADN, cible d'une enzyme de restriction.

**Souche** : Descendance d'un isolat de microorganisme propagé isolément (*in vitro* ou sur une plante).



**Sporodochium** : Fructification composée de conidiophores courts et agglomérés chez les Deutéromycètes.

**Staminode** : Organe de même origine que les étamines, mais dépourvu de sac pollinique et de forme très modifiée.

**Stigmate** : Partie supérieure gluante du pistil sur laquelle se fixent les grains de pollen au moment de la pollinisation.

**Sympodial** : Relatif à sympode : mode fréquent de ramification de rameaux et rhizomes à croissance définie ; les apex se succèdent,

**Symptômes** : Anomalies du phénotype par rapport à la norme attendue. Les symptômes sont la manifestation du dysfonctionnement dans le métabolisme de la plante.

**Tampon** : Substances qui interagissent avec les ions hydrogènes ou hydroxyles libres et limitent les modifications de pH.

**Tétraploïde** : Se dit d'un individu ou d'une cellule dont le noyau possède 4 jeux chromosomiques complets ( $4n$ ).

**Texture du sol** : Proportions relatives de sable, de limon et d'argile.

**Thalle** : Appareil végétatif de certains organismes inférieurs, ne comportant ni racine, ni tige, ni feuille.

**Trachéomyose** : Maladie due à un champignon colonisant le xylème.

**Transposon** : Fragment d'ADN susceptible de se déplacer d'un endroit du génome dans un autre. Les transposons comportent plusieurs gènes dont ceux qui codent pour leurs fonctions de mobilité.

**Uniloculaire** : Se dit d'un gynécée dont l'ovaire est (d'origine ou par suite de la régression ultérieure des cloisons intercarpellaires) à une seule loge.

**Vasculaire** : Relatif aux tissus conducteurs des plantes.

**Verticille** : Ensemble de pièces, trois ou plusieurs (feuilles, branches ou fleurs), disposées en cercle autour d'un axe (insérées au même niveau sur la tige).

**Virulence** : Composante qualitative du pouvoir pathogène qui permet à un agent pathogène d'attaquer ou non un hôte sensible reconnu.

# ANNEXES

## ANNEXES I : MILIEUX DE CULTURE

### ➤ Milieu Malt

- Eau permutée : 1000 ml
- Malt: 10 g ou 20 g
- Gélose : 15 g ou 20 g

Autoclavage 20 minutes, 120 °C

Si besoin est, acidifier avec 250 mg d 'acide citrique par litre de milieu

### ➤ Milieu P.D.A (Potato Dextrose Agar)

- Eau permutée : 1000 ml
- P.D. A. : 39 g

Autoclavage 20 minutes, 120 °C

### ➤ Milieu L.P.G. A (Levure Peptone Glucose Agar)

- Eau permutée : 1000 ml
- Glucose : 10 g,
- Peptone (Biogélytone) 5 g,
- Extrait de levure 5 g
- Gélose 15 g

Ajuster le pH à 7,5

Autoclavage 30 minutes, 110 °C

### ➤ Milieu Komada

Ce milieu est spécifique de *Fusarium*.

- Eau permutée : 1000 ml
- Asparagine : 2 g
- MgSO<sub>4</sub>-7H<sub>2</sub>O : 0,5 g
- KCl : 0,5 g
- Galactose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>): 20 g
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1 g
- Fer-EDTA: 0,005 g
- Gélose : 15 g

Autoclavage 40 minutes, 110 °C

Pour un litre de milieu Komada, préparer une solution d' antibiotiques . Agiter le mélange (Komada + antibiotiques) et ajuster le pH à l'acide orthophosphorique pur à 5,5.

### ➤ Composition de la solution d'antibiotiques

- Eau permutée : 20 ml
- Tween : 10 gouttes
- Oxgall : 0,5 g
- Tétraborate de sodium : 0,5 g
- Streptomycine : 0,5 g
- PCNB pur : 1 g

➤ **Milieu K.P.S**

Ce milieu est utilisé pour obtenir des mutants *Nit*

- Eau distillée : 1000 ml
- $\text{KClO}_3$  : 15 g
- PDA : 39 g

Autoclavage 15 minutes, 120 °C

➤ **Milieu chlorate**

- Asparagine (modifié Proline) : 1,6 g
- $\text{KClO}_3$  : 15 g
- $\text{NaNO}_3$  : 2 g
- $\text{KH}_2\text{PO}_3$  : 1 g
- $\text{MgSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$  : 0,5 g
- KCl : 0,5 g
- Saccharose : 30 g
- Gélose oxoid : 2 g

Autoclave 110 °C pendant 45 minutes

+ oligo-éléments (2 ml /l)

➤ **Composition de la solution d'oligo-éléments par litre d'eau distillée (ne préparer que 100 ml de la solution qui peut être conservée à l'abri de la lumière, après stérilisation par filtration sur membrane de 0,2 µm ou autoclavée pendant 20 minutes à 120°C) :**

- acide citrique : 5 g
- $\text{ZnSO}_4-7\text{H}_2\text{O}$  : 5 g
- $\text{FeSO}_4-7\text{H}_2\text{O}$  : 4,75 g
- $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2-6\text{H}_2\text{O}$  : 1 g
- $\text{CuSO}_4-5\text{H}_2\text{O}$  : 0,25 g
- $\text{MnSO}_4-\text{H}_2\text{O}$  : 0,05 g
- $\text{H}_3\text{BO}_3$  : 0,05 g
- $\text{NaMoO}_4-2\text{H}_2\text{O}$  : 0,05 g

➤ **Milieu nitrate**

Milieu minimum agar (MMA) pour test VCG. Il sert pour la détermination du type de mutant *Nit*

Par litre d'eau distillée:

- $\text{NaNO}_3$  ; 2 g
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : 1 g
- $\text{MgSO}_4-7\text{H}_2\text{O}$  : 0,5 g
- KCl : 0,5 g
- Saccharose : 30 g
- Agar bactériologique Oxoid : 20 g
- Solution d'oligo-éléments : 2 ml

### ➤ Milieu nitrite

Détermination du type de mutant *Nit* :

Par litre d'eau distillée:

- $\text{NaNO}_2$  : 0,5 g
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : 1 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  : 0,5 g
- $\text{KCl}$  : 0,5 g
- Saccharose : 30 g,
- Agar bactériologique Oxoid : 20 g
- Solution d'oligo - éléments : 2 ml

### ➤ Milieu Hypoxanthine

Détermination du type de mutants *Nit* :

Par litre d'eau distillée:

- Hypoxanthine : 0,2 g
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : 1 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  : 0,5 g
- $\text{KCl}$  : 0,5 g
- Saccharose : 30 g
- Agar bactériologique Oxoid : 20 g
- Solution d'oligo-éléments : 2 ml

**ANNEXE II : CULTURES DE *F. OXYSPORUM* F.SP. *VASINFECTUM*,  
METTANT EN EVIDENCE LA FORMATION D'HETEROCARYONS  
ENTRE DEUX SOUCHES MUTANTES**

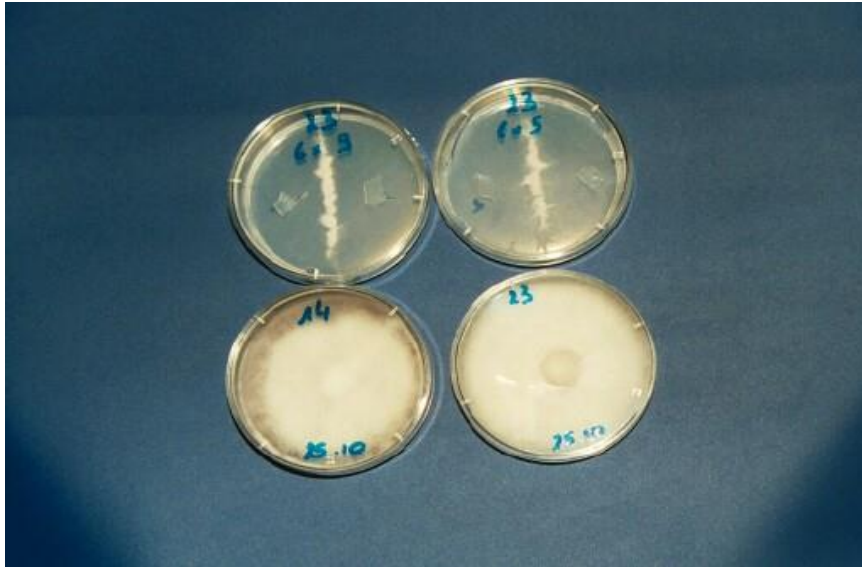


Figure a : Cultures de FOV présentant la formation d'hétérocaryon et une croissance aérienne

En haut : formation d'hétérocaryon au niveau de la zone de confrontation des deux mutants repiqués

En bas : aspect aérien de la souche sauvage



Figure b : Confrontations de souches montrant l'absence d'hétérocaryon et la formation d'hétérocaryon

En haut : absence d'hétérocaryon entre deux mutants non compatibles

En bas : formation d'hétérocaryon révélant la compatibilité de deux souches

## ANNEXES III : PROTOCOLE DE PRODUCTION D'INOCULUM DE *FUSARIUM OXYSPORUM* SUR TALC

**Référence bibliographique :** Tello Marquina J.C. , Alabouvette C. & Louvet J. (1980). Aptitude à la conservation des micronidies de *Fusarium oxysporum* fsp. *melonis*. Ann. Phytopathol., 12 : 227-233.

### Rappels :

L'inoculum talc est un bon support physico chimique inerte qui permet la conservation des champignons pendant plusieurs années ainsi que la réalisation de dilutions **homogènes** et **précises** permettant une quantification exacte de l'inoculum introduit dans les substrats de culture.

### Principe :

- La souche de *Fusarium* est repiquée sur tube de PDA.
- 5 jours après, un erlen de malt liquide 1% est ensemencé (500 ml ou plus en fonction de la quantité d'inoculum à produire) par lavage de la culture en tube incliné . Pour ce faire :
  - introduire 2ml d'eau stérile dans le tube de PDA contenant la culture,
  - vortexer (pour libérer les conidies),
  - verser l'ensemble (eau + conidies) dans l'erlen de malt liquide,
  - mettre à agiter sur l'agitateur rotatif : 250 tpm 25°C pendant 8 jours.
- La culture est filtrée sur un filtre n°2 ( 40-100 µ). Le mycélium est ainsi éliminé, seules les conidies sont conservées.

⇒ Prévoir les filtres n°2 stériles pour le jour de la filtration (1 par souche).

- Les conidies sont récupérées par centrifugation du filtrat obtenu :

⇒ Prévoir les tubes de centrifugation stériles pour le jour de la centrifugation.

♣ Si on utilise la centrifugeuse **JOUAN K82** : 20 min à 3000 trs / min (graduation 3,5 de la centrifugeuse). Utilisée pour de grandes quantités de filtrat à centrifuger : > 500 ml.

♣ Si on utilise la centrifugeuse **HERAEUS BIOFUGE 17RS** : 15 min à 8000 trs / min. → accélération : 6 et décélération : 4.

Le culot est remis en suspension dans de l'eau stérile. L'eau est éliminée et changée trois fois afin de rincer correctement les conidies. Le culot rincé est récupéré dans un volume final (Vf) mesuré à l'éprouvette d'eau stérile de 100 ml et remis en suspension.

L'ensemble eau + conidies (Vf = 100 ml) est mélangé, à la cuillère, à **200 ml** de talc vierge, mesuré à l'éprouvette (1 volume de conidies pour 2 volumes de talc vierge).

- Bien **homogénéiser** l'ensemble et répartir en «meringues » sur un plateau préalablement désinfecté à l'alcool. Recouvrir d'une feuille d'aluminium désinfectée à l'alcool (pour éviter les contaminations extérieures).

Faire sécher dans une étuve ventilée à 20°C pendant 3 jours. Deux étuves sont disponibles :

- étuve ventilée des serres après l'avoir **désinfectée par UV** ;
- étuve de paille au laboratoire après l'avoir désinfectée à l'eau de javel + alcool.

- Le talc, une fois sec, est broyé et tamisé à 200 µm. Pour ce faire on utilise une «pulvérisette» **FRITSCH** qui se trouve dans la salle «manipe de terre».

«Les meringues» de talc séché sont posées dans un tamis de 200 µm avec des billes de verre (les billes de verre recouvrent la totalité de la surface du tamis). Le fond du tamis et les billes ont été préalablement stérilisés à l'autoclave 20 minutes à 120°C cycle sec.

Le talc est broyé et tamisé pendant 5 minutes (repère 5 du cadran de l'appareil).

- Le talc est conservé au laboratoire à 4°C. Il sera titré avant son utilisation.

## Titration de l'inoculum talc et mode d'utilisation

L'estimation de la concentration en propagules du talc est effectuée par la méthode des **supensions- dilutions** sur milieu malt gélosé.

- Trois échantillons de **2g** de talc sont mis en suspension dans **45 ml** d'eau permutée stérile (= SM : solution mère). Pour effectuer les pesées, placer la balance près d'un bec Bunzen et utiliser une spatule préalablement flambée à l'alcool afin d'éviter toute contamination.

⇒ **prévoir** les flacons d'eau permutée stérile pour le jour de l'analyse.

L'ensemble est agité pendant 20 minutes sur des agitateurs (appelés «orangina») :

♣ **Flask Shaker SF1 STUART SCIENTIFIC** (repère 4,5 de l'appareil) ;

♣ **Agitest 86212 BIOBLOCK SCIENTIFIC** (repère 4,5 de l'appareil).

- On effectue des dilutions au  $10^{\text{ème}}$  de cette solution mère : -1, -2, -3, -4 et -5.
- Puis 1 ml des dilutions -3, -4, et -5 sont déposés dans des boîtes de Pétri stériles de 10 cm de Ø, à raison de 5 boîtes par dilution. Dans chaque boîte on ajoute 10 ml de milieu malt gélosé acidifié (250 mg d'acide citrique par litre) maintenu en surfusion. L'ensemble est homogénéisé par agitation manuelle.

⇒ 3 échantillons : A, B et C

⇒ 3 dilutions par échantillon : A-3, A-4, A-5

B-3, B-4, B-5

C-3, C-4, C-5

Cinq (5) boîtes par traitement :  $9 * 5 = 45$  boîtes.

- Les boîtes sont incubées dans une étuve à 25°C.
- Le dénombrement des **Unités Formant Colonies (UFC)** est réalisé après 48 à 72 heures d'incubation : il suffit de compter le nombre de colonies présentes dans chaque boîte.
- Le titre du talc est déterminé avant chaque utilisation.

Exemple:

	Dilution -4	Moyenne	Dilution -5
A	47 50 48 46 53	48,8	8 5 8 1 5
B	40 42 50 48 49	45,8	5 3 3 7 2
C	50 49 47 60 47	50,6	3 6 5 5 6

La moyenne est donc de  $(48,8 + 45,8 + 50,6) / 3 = 48,4$  propagules / ml à la dilution -4

⇒  $4,84 \cdot 10^5$  propagules / ml de SM ( SM = 2g de talc + 45 ml eau)

⇒  $(4,84 \cdot 10^5 * 45) / 2 = \underline{1,089 \cdot 10^7 \text{ CFU / g de talc.}}$

En fonction de la concentration souhaitée de l'inoculum, un aliquote de ce talc est dilué dans du talc de vierge de telle sorte que l'inoculum talc soit toujours de **3g de talc par litre de sol**.

La feuille EXCEL : fiche.xls , permet de calculer :

- la quantité d'inoculum talc nécessaire pour les différentes doses de pathogène, en fonction du nombre de sols à étudier.
- les dilutions d'inoculum talc à effectuer dans le talc vierge.

Le mélange (inoculum talc + talc vierge) est effectué dans des godets en aluminium de 250 ml et mélangé pendant 10 minutes à l'aide d'un appareil (**TURBULA T2C WILLY A. BACHOFEN**). Puis les différentes pesées, correspondant aux différentes doses d'agent pathogène à introduire, sont effectuées dans des boîtes Pétri en verre de Ø 5 cm.

Le talc est incorporé au sol à l'aide d'un agitateur mécanique de type «Turbula» pendant 5 minutes à vitesse moyenne de l'appareil (**TURBULA<sup>R</sup> WAB System SCHATZ**).



**ANNEXES IV : SUBSTRATS DE CARBONE RENCONTRES DANS LES PLAQUES DE MICROTITRATION BIOLOG, D'APRES DOBRANIC & ZAK, 1999 In PRESTON-MAFHAM, *et al.* (2002)**

Groupes	Substrats	Formule chimique	GN/SF-N	GP/SF-P
<b>Amines/amides</b>	2-Amino ethanol	C <sub>2</sub> O <sub>7</sub> NO	*	
	D-Glucosamine	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub>		
	Glucuronamide	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>6</sub>	*	
	Lactamide	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>		*
	L-Alaninamide	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O	*	*
	Phenylethylamine	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N	*	
	Putrescine	C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>	*	*
	Succinamic acid	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	*	*
<b>Amino - acides</b>	γ-Amino butyric acid	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	*	
	D,L-Carnitine	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	*	
	D-Alanine	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	*	*
	D-Serine	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	*	
	Glycyl-L-aspartic acid	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	*	
	Glycyl-L-glutamic acid	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	*	*
	Hydroxy-L-proline	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	*	
	L-Alanine	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	*	*
	L-Alanyl-glycine	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	*	*
	L-Arginine	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>		
	L-Asparagine	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	*	*
	L-Aspartic acid	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub>	*	
	L-Glutamic acid	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	*	*
	L-Histidine	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	*	
	L-Leucine	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	*	
	L-Ornithine	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	*	
	L-Phenylalanine	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	*	
	L-Proline	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	*	
	L-Pyroglutamic acid	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	*	*
	L-Serine	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	*	*
L-Threonine	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	*		

(\*) : entre dans la composition du substrat indiqué en première colonne

## ANNEXES IV (suite 1)

Groupes	Substrats	Formule chimique	GN/SF-N	GP/SF-P
Carbohydrates	$\alpha$ -D-Glucose	$C_6H_{12}O_6$	*	*
	$\alpha$ -D-Lactose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	*	*
	$\alpha$ -Methyl-D-galactoside	$C_7H_{14}O_6$		*
	$\beta$ -Methyl-D-galactoside	$C_7H_{14}O_6$		*
	$\alpha$ -Methyl-D-glucoside	$C_7H_{14}O_6$		*
	$\beta$ -Methyl-D-glucoside	$C_7H_{14}O_6$	*	*
	$\alpha$ -Methyl-D-mannoside	$C_7H_{14}O_6$		*
	Adonitol	$C_5H_{12}O_5$	*	
	Arbutin	$C_{12}H_6O_7$		*
	3-Methyl glucose	$C_7H_{14}O_6$		*
	D-Arabinose	$C_5H_{10}O_5$		
	D-Arabitol	$C_5H_{12}O_5$	*	*
	D-Cellobiose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	*	*
	D-Fructose	$C_6H_{12}O_6$	*	*
	D-Galactose	$C_6H_{12}O_6$	*	*
	D-Mannitol	$C_6H_{14}O_6$	*	*
	D-Mannose	$C_6H_{12}O_6$	*	*
	D-Melezitose	$C_{18}H_{36}O_{16}$		*
	D-Melibiose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	*	*
	D-Psicose	$C_6H_{12}O_6$	*	*
	D-Raffinose	$C_{18}H_{32}O_{16}$	*	*
	D-Ribose	$C_5H_{10}O_5$		*
	D-Sorbitol	$C_6H_{14}O_6$	*	*
	D-Tagatose	$C_6H_{12}O_6$		*
	D-Trehalose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	*	*
	D-Xylose	$C_5H_{10}O_5$		*
	Gentiobiose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	*	*
	<i>i</i> -Erythritol	$C_4H_{10}O_4$	*	
	Lactulose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	*	*
	L-Arabinose	$C_5H_{10}O_5$	*	*
	L-Fucose	$C_6H_{12}O_5$	*	*
	L-Rhamnose	$C_6H_{12}O_5$	*	*
	L-Sorbose	$C_6H_{12}O_6$		
	Maltitol	$C_{12}H_{24}O_{11}$		
	Maltose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	*	*
	Maltotriose	$C_{18}H_{32}O_{16}$		*
	Mannan	$2(C_6H_{10}O_5)_n$		*
	Methyl pyruvate	$C_4H_6O_3$	*	*
	<i>m</i> -Inisitol	$C_6H_{12}O_6$	*	*
	Mono-methyl-succinate	$C_5H_8O_4$	*	*
	<i>N</i> -Acetyl-D-galactosamine	$C_8H_{15}NO_6$	*	
	<i>N</i> -Acetyl-D-glucosamine	$C_8H_{15}NO_6$	*	*
	<i>N</i> -Acetyl-D-mannosamine	$C_8H_{15}NO_6$		*
	Palatinose	$C_{12}H_{22}NO_{11}$		*
	Sedoheptulosan	$C_7H_{12}NO_6$		*
	Stachyose	$C_{24}H_{42}NO_{21}$		*
	Sucrose	$C_{12}H_{22}NO_{11}$	*	*
	Turanose	$C_{12}H_{22}NO_{11}$	*	*
	Xylitol	$C_5H_{12}NO_5$	*	*

(\*) : entre dans la composition du substrat indiqué en première colonne

## ANNEXES IV (suite 2)

Groupes	Substrats	Formule chimique	GN/SF-N	GP/SF-P
	$\alpha$ -Hydroxy butyric acid	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	*	*
<b>Acides</b>	$\beta$ -Hydroxy butyric acid	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	*	*
	$\gamma$ -Hydroxy butyric acid	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	*	*
	<b>carboxyliques</b>	$\alpha$ -Keto butyric acid	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	*
	$\alpha$ -Keto glutaric acid	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>	*	*
	$\alpha$ -Keto valeric acid	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	*	*
	Acetic acid	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	*	*
	2-Keto-D-gluconic acid	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>7</sub>		
	2-Hydroxy benzoic acid	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>		
	4-Hydroxy benzoic acid	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>		
	Citric acid	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	*	
	<i>Cis</i> -aconitic acid	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	*	
	D,L-lactic acid	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	*	
	D-Galactonic acid $\gamma$ -lactone	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	*	
	D-Galacturonic acid	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	*	*
	D-Gluconic acid	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	*	*
	D-Glucosaminic acid	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>6</sub>	*	
	D-Glucuronic acid	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	*	
	D-Malic acid	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>		*
	D-Saccharic acid	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	*	
	Formic acid	CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	*	
	Fumaric acid	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>		
	Itaconic acid	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	*	
	L-Lactic acid	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>		*
	L-Malic acid	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>		*
	Malonic acid	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	*	
	<i>N</i> -Acetyl-L-glutamic acid	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>5</sub>		*
	<i>p</i> -Hydroxy phenylacetic acid	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	*	*
	Propionic acid	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	*	*
	Pyruvic acid	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>		*
	Quinic acid	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	*	
	Sebacic	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	*	
	Succinic acid	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	*	*

(\*) : entre dans la composition du substrat indiqué en première colonne

## ANNEXES IV (suite 3)

Groupes	Substrats	Formule chimique	GN/SF-N	GP/SF-P
<b>Miscellaneous</b>	2,3-Butanediol	$C_4H_{10}O_2$	*	*
	Adenosine	$C_{10}H_{13}N_5O_4$		*
<b>(Divers)</b>	Amygdalin	$C_{20}H_{27}NO_{11}$		*
	2'-Deoxy adenosine	$C_{10}H_{13}N_5O_3$		*
	Adenosine-5' monophosphate	$C_{10}H_{14}N_5O_7P$		*
	Bromo succinic acid	$C_4H_5O_4Br$	*	
	D,L- $\alpha$ -Glycerol phosphate	$C_3H_9O_6P$	*	*
	D-Lactic acid methyl ester	$C_4H_8O_3$		*
	Fructose-6-phosphate	$C_6H_{13}O_9P$		*
	Glucose-1-phosphate	$C_6H_{13}O_9P$	*	*
	Glucose-6-phosphate	$C_6H_{13}O_9P$	*	*
	Glycerol	$C_3H_8O_3$	*	*
	Inosine	$C_{10}H_{12}N_4O_5$	*	*
	Pyruvic acid methyl ester	$C_4H_6O_3$		
	Salicin	$C_{13}H_{18}O_7$		*
	Succinic acid mono-methyl ester	$C_5H_8O_4$		
	Thymidine	$C_{10}H_{14}N_2O_5$	*	*
	Thymidine-5' - monophosphate	$C_{10}H_{15}N_2O_8P$		*
	Uridine	$C_9H_{12}N_2O_6$	*	*
Uridine-5' -monophosphate	$C_9H_{13}N_2O_9P$		*	
Urocanic acid	$C_6H_6N_2O_2$	*		
<b>Polymères</b>	$\alpha$ -Cyclodextrin	$C_{36}H_{60}O_{30}$	*	*
	$\beta$ -Cyclodextrin	$C_{42}H_{70}O_{35}$		*
	Dextrin	$C_6H_{10}O_5$	*	*
	Glycogen	$(C_6H_{10}O_5)_n$	*	*
	Inulin	$(C_6H_{12}O_6)_n$		*
	Tween 40		*	*
	Tween 80		*	*

(\*) : entre dans la composition du substrat indiqué en première colonne

## ANNEXE V : MESURE DU POUVOIR PATHOGENE DES ISOLATS DE FOV DE COTE D'IVOIRE

### ANNEXE 5-1 : Indice de rabougrissement (I.R.)

Isolats	EN1	EN2	EN3	EN4	EN5	EN6	EN7	EN8	Moyenne	I.R.
1	0,3	0,2	4,2	1,3	3,1	1,2	0,1	0,3	1,34	<b>80,65</b>
2	3	0,2	0,6	0,3	4,3	1	2,5	0,3	1,53	<b>77,94</b>
3	0,4	1	1,9	3,8	4,3	5,3	0,9	2,4	2,50	<b>63,83</b>
4	7	2,5	6	4	2	0,5	2	1,6	3,20	<b>53,70</b>
5	0,7	3	0,6	7	1,2	2	6,5	2,8	2,98	<b>56,96</b>
6	3,4	1,5	0,2	0,9	1,9	0,5	1,2	3,4	1,63	<b>76,49</b>
7	1,8	1,2	7,5	2,3	4,5	0,9	1,9	4,2	3,04	<b>56,06</b>
8	0,8	1	5	8	1	4,5	0,9	2,3	2,94	<b>57,50</b>
9	1	2	3,9	6	2,2	4,7	2	4,3	3,26	<b>52,80</b>
10	0,2	1,5	4,6	3	2	5,1	3,7	3,3	2,93	<b>57,69</b>
11	0,3	1,2	2,2	4,5	0,3	6	1,2	0,3	2,00	<b>71,07</b>
12	5	0,5	0,8	0,8	0,1	1,9	1,2	1	1,41	<b>79,57</b>
13	1,6	0,4	1,2	0,7	0,2	2,2	6,5	0,5	1,66	<b>75,95</b>
14	4,8	5,6	1,9	1,8	0,5	3,2	0,9	0,4	2,39	<b>65,46</b>
15	0,3	1,2	0,5	5,3	1,4	0,9	3,8	0,4	1,73	<b>75,05</b>
16	0,6	1,2	4,7	9,7	0,7	4,2	1,2	2	3,04	<b>56,06</b>
17	2,7	1	2,6	0,3	0,6	0,2	2,3	0,9	1,33	<b>80,83</b>
TEMOIN	9,7	4,6	8	8,5	3,5	6,7	11	3,3	6,91	<b>0,00</b>

EN : longueur du premier entre-nœud (en cm)

ANNEXE 5-2 : Indice de flétrissement (I.F. ou W.I.)

<b>Isolats</b>	<b>N1</b>	<b>N2</b>	<b>N3</b>	<b>N4</b>	<b>W.i.</b>
1	2	2	9	7	<b>60,50</b>
2	9	4	4	7	<b>42,50</b>
3	22	3	2	2	<b>13,45</b>
4	25	2	1	1	<b>7,24</b>
5	25	2	4	2	<b>13,94</b>
6	3	0	2	17	<b>81,82</b>
7	15	4	5	5	<b>30,00</b>
8	13	3	1	10	<b>42,22</b>
9	12	1	4	5	<b>33,18</b>
10	19	0	1	11	<b>37,10</b>
11	19	4	5	1	<b>16,21</b>
12	21	1	0	12	<b>36,18</b>
13	11	3	5	7	<b>40,00</b>
14	15	3	4	2	<b>20,42</b>
15	22	6	2	2	<b>15,00</b>
16	15	2	0	11	<b>41,43</b>
17	16	1	8	0	<b>17,20</b>
TEMOIN	39	0	0	0	<b>0,00</b>

## ANNEXES VI : ANALYSES STATISTIQUES

### Annexes 6-1 : Analyses quantitatives des flores fongiques et bactériennes : Logiciel Minitab

#### ■ ANOVA à un facteur contrôlé : flore bactérienne totale en fonction des sols

Bouaké :1, Daloa :2, Béoumi :3, Korhogo :4

Source	DL	SC	CM	F	P
Sols	3	3,148E+14	1,049E+14	14,08	0,001
Erreur	8	5,963E+13	7,454E+12		
Total	11	3,744E+14			

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	Ecart-Type	IC
1	3	23800000	3988734	(-----*-----)
2	3	19300000	1216553	(-----*-----)
3	3	10233333	1761628	(-----*-----)
4	3	14233333	3053413	(-----*-----)

Ecart-type groupé = 2730232

12000000 18000000 24000000

#### Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,176

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 2,306

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3
2	-640593 9640593		
3	8426074 18707260	3926074 14207260	
4	4426074 14707260	-73926 10207260	-9140593 1140593

#### ■ ANOVA à un facteur contrôlé : flore fongique totale en fonction des sols

Source	DL	SC	CM	F	P
Sols	3	1,492E+09	497428968	7,98	0,009
Erreur	8	498561072	62320134		
Total	11	1,991E+09			

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	Ecart-Type	IC
1	3	73657	10206	(-----*-----)
2	3	46474	1361	(-----*-----)
3	3	54572	7013	(-----*-----)
4	3	70225	9700	(-----*-----)

Ecart-type groupé = 7894

45000 60000 75000

#### Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,176

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 2,306

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

		1	2	3
2		12320 42047		
3		4222 33949	-22962 6766	
4		-11432 18296	-38615 -8888	-30517 -790

■ ANOVA à un facteur contrôlé : flore fusarienne totale en fonction des sols

Source	DL	SC	CM	F	P
Sols	3	77516967	25838989	100,92	0,000
Erreur	8	2048333	256042		
Total	11	79565300			

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	Ecart-Type	IC individuel à 95% pour la moyenne			
1	3	3450	295	-----+-----+-----+-----			
				(--*-)			
2	3	9353	773				(-*--)
3	3	5440	572		(--*-)		
4	3	2857	110	(-*--)			
Ecart-type groupé = 506				2500	5000	7500	10000

Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,176

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 2,306

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

		1	2	3
2		-6856 -4951		
3		-2943 -1037	2961 4866	
4		-359 1546	5544 7449	1631 3536

■ ANOVA à un facteur contrôlé : espèces de *Fusarium* en fonction des sols

◆ *F. oxysporum*

Source	DL	SC	CM	F	P
Sols	3	16390299	5463433	777,12	0,000
Erreur	8	56243	7030		
Total	11	16446542			



				IC individuel à 95% pour la moyenne Basé sur Ecart-type groupé	
Niveau	N	Moyenne	Ecart-Type	-----+-----+-----+-----+	
1	3	330,0	22,2	(*)	
2	3	127,0	18,2	(*)	
3	3	2950,0	145,5		(-*)
4	3	315,0	78,3	(*)	
Ecart-type groupé = 83,8				-----+-----+-----+-----+	
				1000	2000
					3000

Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,176

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 2,306

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3
2	45,1 360,9		
3	-2777,9 -2462,1	-2980,9 -2665,1	
4	-142,9 172,9	-345,9 -30,1	2477,1 2792,9

◆ *F. solani*

Source	DL	SC	CM	F	P
Sols	3	109579133	36526378	178,28	0,000
Erreur	8	1639067	204883		
Total	11	111218200			

				IC individuel à 95% pour la moyenne Basé sur Ecart-type groupé	
Niveau	N	Moyenne	E-Type	-----+-----+-----+-----+	
1	3	2286,7	251,5	(-***)	
2	3	9023,3	780,5		(-***)
3	3	1756,7	380,2	(-**-)	
4	3	2133,3	50,3	(--*-)	
Ecart-type groupé = 452,6				-----+-----+-----+-----+	
				2500	5000
					7500
					10000

Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,176

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 2,306

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3
2	-7589 -5884		
3	-322 1382	6414 8119	
4	-699 1006	6038 7742	-1229 476

◆ *F. redolens*

Source	DL	SC	CM	F	P
Sols	3	76214,5	25404,8	478,95	0,000
Erreur	8	424,3	53,0		
Total	11	76638,8			

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	E-Type	
1	3	0,00	0,00	(-*-)
2	3	0,00	0,00	(-*-)
3	3	194,00	9,57	(*-)
4	3	44,20	10,98	(*-)

Ecart-type groupé = 7,28

Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,176

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 2,306

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3
2	-13,71 13,71		
3	-207,71 -180,29	-207,71 -180,29	
4	-57,91 -30,49	-57,91 -30,49	136,09 163,51

◆ *F. roseum*

Source	DL	SC	CM	F	P
SOLS	3	98541	32847	20,42	0,000
Error	8	12869	1609		
Total	11	111410			

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	E-Type	
1	3	132,67	20,50	(-----*-----)
2	3	160,00	26,89	(-----*-----)
3	3	334,33	58,14	(-----*-----)
4	3	318,00	43,71	(-----*-----)

Ecart-type groupé = 40,11

Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,176

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 2,306

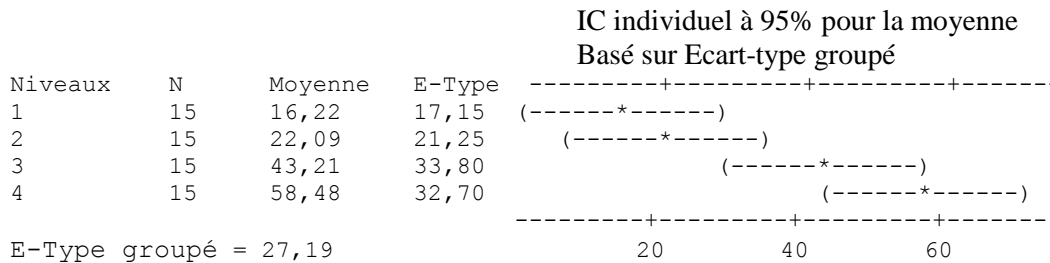


Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3	4
2	-0,55 32,27			
3	-63,98 -31,16	-79,84 -47,02		
4	3,47 36,30	-12,39 20,44	51,05 83,87	
5	-5,52 27,30	-21,38 11,44	42,05 74,87	-25,41 7,41

◆ ANOVA à un facteur contrôlé : : variables en fonction des traitements

Source	DL	SC	CM	F	P
Trait	3	17070	5690	7,70	0,000
Erreur	56	41402	739		
Total	59	58472			



Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,199

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 2,003

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3
2	-25,76 14,02		
3	-46,87 -7,10	-41,00 -1,23	
4	-62,15 -22,37	-56,28 -16,50	-35,16 4,61

☐ Avec glucose à différents temps d'incubation

◆ Modèle linéaire généralisé : variable en fonction des sols; traitements

Facteur	Type	Niveaux	Valeurs
Sols	fixe	5	1 2 3 4 5
Trait	fixe	4	1 2 3 4

Sols : 1 : Dijon, 2 : Bouaké, 3 : Daloa, 4 : Béoumi, 5 : Korhogo

Traitements : 1 : 0 h, 2 : 6 h, 3 : 17 h, 4 : 24 h

Analyse de la variance pour VAR1, en utilisant la SC ajustée pour les tests

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
Sols	4	64293,4	64293,4	16073,4	353,31	0,000
Trait	3	3382,6	3382,6	1127,5	24,78	0,000
Sols*Trait	12	1460,1	1460,1	121,7	2,67	0,010
Erreur	40	1819,7	1819,7	45,5		
Total	59	70955,8				

◆ ANOVA à un facteur contrôlé : variables en fonction de traitements

Source	DL	SC	CM	F	P
Trait	3	3383	1128	0,93	0,430
Erreur	56	67573	1207		
Total	59	70956			

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

Niveau	N	Moyenne	E-Type	IC individuel à 95% pour la moyenne Basé sur Ecart-type groupé			
1	15	40,32	35,53	-----+-----+-----+-----+-----+-----			
2	15	47,95	39,20	(-----*-----)			
3	15	57,80	30,96	(-----*-----)			
4	15	58,48	32,70	(-----*-----)			
E-Type groupé = 34,74				30	45	60	75

Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,199

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 2,003

Intervalle pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3
2	-33,04 17,77		
3	-42,89 7,93	-35,25 15,56	
4	-43,57 7,24	-35,94 14,88	-26,09 24,72

◆ ANOVA à un facteur contrôlé : variables en fonction des sols

Source	DL	SC	CM	F	P
Sols	4	64293	16073	132,69	0,000
Erreur	55	6662	121		
Total	59	70956			

IC individuel à 95% pour la moyenne  
Basé sur Ecart-type groupé

Niveaux	N	Moyenne	E-Type	IC individuel à 95% pour la moyenne Basé sur Ecart-type groupé			
1	12	46,57	7,75	-----+-----+-----+-----+-----+-----			
2	12	40,28	9,89	(---*)			
3	12	114,70	12,36	(---*)			
4	12	30,20	15,01	(---*)			
5	12	23,92	8,35	(---*)			
E-Type groupé = 11,01				30	60	90	120

Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,278

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 2,004

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3	4
2	-2,72 15,29			
3	-77,14 -59,13	-83,42 -65,41		
4	7,36 25,37	1,08 19,08	75,49 93,50	
5	13,64 31,65	7,36 25,36	81,77 99,78	-2,72 15,28

## Annexes 6-3 : AUDPC (Area under disease progress curve) : Logiciel Minitab

### ◆ Modèle linéaire généralisé : variables en fonction des sols, traitements, répétitions

Facteur	Type	Niveaux	Valeurs
Sols	fixe	5	1 2 3 4 5
Trait	fixe	5	1 2 3 4 5
Répét	fixe	3	1 2 3

Sols : 1 :Dijon, 2 : Bouaké, 3 : Daloa, 4 : Béoumi, 5 :Korhogo  
 Trait. (5 doses d'inoculum) : D0, D1, D2, D3, D4.

### ◆ Analyse de la variance pour VAR1, en utilisant la SC ajustée pour les tests

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
Sols	4	1471,20	1471,20	367,80	11,15	0,000
Trait	4	1040,97	1040,97	260,24	7,89	0,000
Répét	2	104,54	104,54	52,27	1,59	0,221
Sols*Trait	16	1480,17	1480,17	92,51	2,81	0,006
Sols*Répét	8	250,06	250,06	31,26	0,95	0,492
Trait*Répét	8	223,29	223,29	27,91	0,85	0,570
Erreur	32	1055,27	1055,27	32,98		
Total	74	5625,50				

### ◆ ANOVA à un facteur contrôlé : variables en fonction des sols

Source	DL	SC	CM	F	P
Sols	4	1471,2	367,8	6,20	0,000
Erreur	70	4154,3	59,3		
Total	74	5625,5			

IC individuel à 95% pour la moyenne  
 Basé sur Ecart-type groupé

Niveaux	N	Moyenne	E-Type	IC 95%
1	15	0,367	1,420	(-----*-----)
2	15	4,467	6,575	(-----*-----)
3	15	-0,000	0,000	(-----*-----)
4	15	6,667	9,585	(-----*-----)
5	15	12,000	12,634	(-----*-----)

E-Type groupé: 7,704

0,0                      6,0                      12,0

Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,279

Taux d'erreur individuel = 0,0500

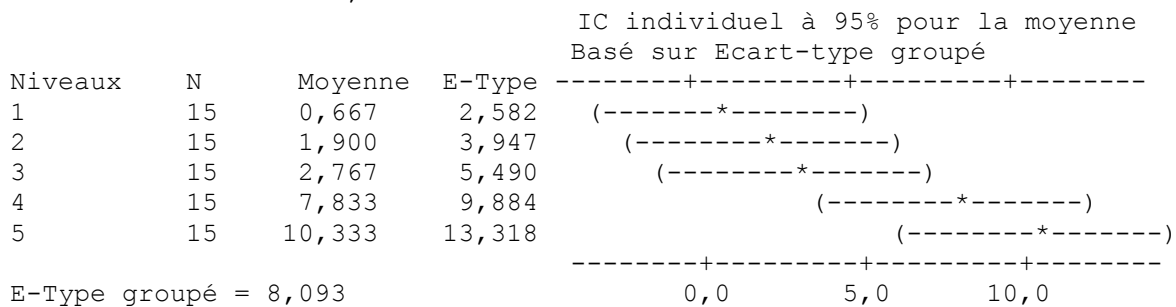
Valeur critique = 1,994

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3	4
2	-9,709 1,509			
3	-5,242 5,976	-1,142 10,076		
4	-11,909 -0,691	-7,809 3,409	-12,276 -1,058	
5	-17,242 -6,024	-13,142 -1,924	-17,609 -6,391	-10,942 0,276

◆ ANOVA à un facteur contrôlé : variables en fonction de traitements

Source	DL	SC	CM	F	P
Trait	4	1041,0	260,2	3,97	0,006
Erreur	70	4584,5	65,5		
Total	74	5625,5			



Comparaisons deux à deux de Fisher

Taux d'erreur famille = 0,279

Taux d'erreur individuel = 0,0500

Valeur critique = 1,994

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3	4
2	-7,126 4,659			
3	-7,992 3,792	-6,759 5,026		
4	-13,059 -1,274	-11,826 -0,041	-10,959 0,826	
5	-15,559 -3,774	-14,326 -2,541	-13,459 -1,674	-8,392 3,392

## Annexes 6-4 : Mesure de l'activité bactérienne (Test Biolog) : Logiciel Statview

NB : b, c, d et e indiquent, respectivement, les sols de Bouaké, de Béoumi et de Korhogo  
S indique la différence est significative (seuil de 5 %)

**Tableau ANOVA pour t48**

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
sol	3	4,007	1,336	87,621	<,0001	262,863	1,000
substrats	5	,247	,049	3,244	,0124	16,218	,863
sol * substrats	15	,547	,036	2,391	,0099	35,864	,961
Résidu	54	,823	,015				

**Tableau ANOVA pour t72**

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
sol	3	5,921	1,974	52,436	<,0001	157,307	1,000
substrats	5	1,042	,208	5,534	,0003	27,671	,989
sol * substrats	15	,986	,066	1,747	,0687	26,207	,858
Résidu	54	2,033	,038				

**Tableau de moyennes pour t48**

**Effet : sol \* substrats**

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
b, Amines/Amides	3	,316	,126	,073
b, Amino Acids	3	,521	,027	,016
b, Carbohydrates	3	,528	,069	,040
b, Carboxylic acids	3	,616	,048	,028
b, Miscellaneous	3	,461	,036	,021
b, Polymers	3	,594	,097	,056
c, Amines/Amides	3	,951	,170	,098
c, Amino Acids	3	1,165	,087	,050
c, Carbohydrates	3	,723	,053	,030
c, Carboxylic acids	3	1,034	,104	,060
c, Miscellaneous	3	,776	,146	,084
c, Polymers	3	,863	,148	,086
d, Amines/Amides	4	,263	,192	,096
d, Amino Acids	4	,277	,068	,034
d, Carbohydrates	4	,343	,244	,122
d, Carboxylic acids	4	,401	,167	,083
d, Miscellaneous	4	,331	,194	,097
d, Polymers	4	,392	,106	,053
e, Amines/Amides	3	,632	,112	,065
e, Amino Acids	3	,688	,037	,021
e, Carbohydrates	3	,860	,039	,023
e, Carboxylic acids	3	,822	,024	,014
e, Miscellaneous	3	,755	,015	,009
e, Polymers	3	,652	,033	,019



**Tableau de moyennes pour t72****Effet : sol \* substrats**

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
b, Amines/Amides	3	,761	,247	,143
b, Amino Acids	3	1,221	,070	,040
b, Carbohydrates	3	1,204	,065	,038
b, Carboxylic acids	3	1,324	,040	,023
b, Miscellaneous	3	1,028	,048	,028
b, Polymers	3	1,232	,112	,064
c, Amines/Amides	3	1,331	,216	,124
c, Amino Acids	3	1,716	,145	,084
c, Carbohydrates	3	1,083	,051	,029
c, Carboxylic acids	3	1,379	,173	,100
c, Miscellaneous	3	1,032	,130	,075
c, Polymers	3	1,361	,179	,103
d, Amines/Amides	4	,568	,446	,223
d, Amino Acids	4	,715	,135	,067
d, Carbohydrates	4	,687	,353	,177
d, Carboxylic acids	4	,860	,173	,087
d, Miscellaneous	4	,568	,228	,114
d, Polymers	4	,629	,231	,115
e, Amines/Amides	3	1,078	,179	,103
e, Amino Acids	3	1,351	,040	,023
e, Carbohydrates	3	1,449	,062	,036
e, Carboxylic acids	3	1,344	,026	,015
e, Miscellaneous	3	1,290	,061	,035
e, Polymers	3	1,284	,151	,087

**Test PLSD de Fisher pour t48****Effet : sol****Niveau de significativité : 5 %**

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
b, c	-,413	,083	<,0001	S
b, d	,171	,077	<,0001	S
b, e	-,229	,083	<,0001	S
c, d	,584	,077	<,0001	S
c, e	,184	,083	<,0001	S
d, e	-,400	,077	<,0001	S

**Test PLSD de Fisher pour t48****Effet : substrats****Niveau de significativité : 5 %**

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Amines/Amides, Amino Acids	-,114	,097	,0223	S
Amines/Amides, Carbohydrates	-,073	,097	,1359	
Amines/Amides, Carboxylic acids	-,175	,097	,0007	S
Amines/Amides, Miscellaneous	-,042	,097	,3862	
Amines/Amides, Polymers	-,088	,097	,0745	
Amino Acids, Carbohydrates	,041	,097	,4054	
Amino Acids, Carboxylic acids	-,061	,097	,2161	
Amino Acids, Miscellaneous	,072	,097	,1450	
Amino Acids, Polymers	,026	,097	,5957	
Carbohydrates, Carboxylic acids	-,101	,097	,0413	S
Carbohydrates, Miscellaneous	,031	,097	,5248	
Carbohydrates, Polymers	-,015	,097	,7616	
Carboxylic acids, Miscellaneous	,132	,097	,0085	S
Carboxylic acids, Polymers	,086	,097	,0798	
Miscellaneous, Polymers	-,046	,097	,3488	

**Test PLSD de Fisher pour t72****Effet : sol****Niveau de significativité : 5 %**

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
b, c	-,189	,130	,0051	S
b, d	,457	,121	<,0001	S
b, e	-,171	,130	,0107	S
c, d	,646	,121	<,0001	S
c, e	,018	,130	,7851	
d, e	-,628	,121	<,0001	S

**Test PLSD de Fisher pour t72****Effet : substrats****Niveau de significativité : 5 %**

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Amines/Amides, Amino Acids	-,303	,153	,0002	S
Amines/Amides, Carbohydrates	-,167	,153	,0324	S
Amines/Amides, Carboxylic acids	-,292	,153	,0003	S
Amines/Amides, Miscellaneous	-,041	,153	,5895	
Amines/Amides, Polymers	-,182	,153	,0203	S
Amino Acids, Carbohydrates	,136	,153	,0792	
Amino Acids, Carboxylic acids	,011	,153	,8840	
Amino Acids, Miscellaneous	,262	,153	,0011	S
Amino Acids, Polymers	,121	,153	,1167	
Carbohydrates, Carboxylic acids	-,125	,153	,1063	
Carbohydrates, Miscellaneous	,126	,153	,1042	
Carbohydrates, Polymers	-,015	,153	,8461	
Carboxylic acids, Miscellaneous	,251	,153	,0017	S
Carboxylic acids, Polymers	,110	,153	,1535	
Miscellaneous, Polymers	-,141	,153	,0701	

## Annexes 6-5 : Analyse discriminante (logiciel SPSS. 11.5)

### ➤ Analyses des variables des facteurs abiotiques

Les observations sont les sols des 12 localités étudiées

#### ○ Tests d'égalité des moyennes des groupes

Variables	Lambda de Wilks	F	ddl1	ddl2	Signification
EG	0,718	3,936	1	10	0,075
A	0,549	8,204	1	10	0,017
LF	0,986	0,147	1	10	0,710
LG	0,974	0,268	1	10	0,616
SF	0,847	1,809	1	10	0,208
SG	0,950	0,530	1	10	0,483
pHeau	0,966	0,352	1	10	0,566
C	0,691	4,480	1	10	0,060
N	0,644	5,527	1	10	0,041
C/N	0,960	0,415	1	10	0,534
PTOTAL	0,975	0,257	1	10	0,623
CEC	0,584	7,126	1	10	0,024
Ca	0,842	1,883	1	10	0,200
Mg	0,665	5,033	1	10	0,049
K	0,762	3,125	1	10	0,108
Na	0,728	3,731	1	10	0,082

NB : EG : éléments grossiers, A : argile, LF : limon fin, LG : limon grossier, SF : sable fin, SG : sable grossier, C : carbone, P : phosphore, CEC : capacité d'échange cationique, Ca : calcium, Mg : magnésium, K : potassium, Na : sodium.

Les variables en rouge sont celles qui discriminent, significativement (5 %), les sols résistants des sols sensibles. Elles sont suivies des variables en bleu, puis celles en noir, mais leur contribution à la séparation des groupes n'est pas significative.

#### ○ Coefficients des fonctions de classement

Dans le tableau sont affichées les fonctions discriminantes. La règle fondée sur ces fonctions est telle que l'on attribue un individu au groupe dont la fonction discriminante donne la valeur la plus élevée

	Fusariose	
	0 (absente)	1 (présente)
EG	0,643	0,021
A	413,226	415,080
LF	294,256	291,613
LG	330,274	330,942
SF	305,378	304,689
SG	328,614	329,663
pHeau	218,671	192,628
C	-11,874	-8,778
N	-464,508	-536,099
C/N	27,607	35,616
(Constante)	-17034,613	-16987,050

Fonctions discriminantes linéaires de Fisher

➤ Analyses des variables des facteurs biotiques

Les observations sont les sols 4 localités étudiées (Bouaké, Béoumi, Daloa, Korhogo) éclatés en 3 sous – échantillons. Ce qui donne 12 observations dont 6 correspondant à des sols sans fusariose et les 6 autres à des sols sensibles.

○ Tests d'égalité des moyennes des groupes

Variables	Lambda de Wilks	F	ddl1	ddl2	Signification
Bactéries	1,000	0,005	1	10	0,947
Champignons	0,950	0,527	1	10	0,484
<i>F. oxysporum</i>	0,633	5,805	1	10	0,037
<i>F. solani</i>	0,659	5,180	1	10	0,046
<i>F. roseum</i>	0,999	0,008	1	10	0,930
<i>F. redolens</i>	0,780	2,814	1	10	0,124
TTF à 0H	0,694	4,412	1	10	0,062
TTF à 24H	0,675	4,815	1	10	0,053
TTF à 0H + glucose	0,737	3,577	1	10	0,088
TTF à 24H + glucose	0,762	3,124	1	10	0,108
AWCD à 48H	0,462	11,647	1	10	0,007
AUDPC D4	0,975	0,256	1	10	0,624

NB : H indique le temps d'incubation

AUDPC D4 indique l' AUDPC à la dose maximale de propagules / g de sol

○ Coefficients des fonctions de classement

Variables	Fusariose	
	0 (absente)	1 (présente)
Bactéries	7,009E-06	9,186E-06
Champignons	0,004	0,004
<i>F. oxysporum</i>	-0,002	0,029
<i>F. solani</i>	0,007	0,001
<i>F. roseum</i>	0,822	0,633
TTF à 0H	0,003	0,005
TTF à 24H	-0,005	-0,015
TTF à 24H + glucose	0,018	0,020
AWCD à 48H	-78,768	-38,322
AUDPC D4	-0,462	-1,171
(Constante)	-322,537	-324,838

Fonctions discriminantes linéaires de Fisher

## ANNEXES VII : ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES SOLS

Tableau de résultats des analyses physiques et chimiques

Identification	E.G. (%)	Granulométrie (%)					pH eau	Matière organique (%)			P total ppm	Complexe absorbant (mé/100)					V (%)
		A	Lf	Lg	Sf	Sg		C	N	C/N		C.E.C.	Ca	Mg	K	Na	
Torgokaha	74	11,7	9,1	8,2	21,5	47,8	6,5	14,9	0,89	17	1051	7,20	3,92	1,32	0,13	0,05	88
Dokaha	48	23,7	10,6	6,4	16,6	38,9	6,5	11,9	0,84	14	610	8,0	2,36	1,44	0,09	0,05	49
Zanakpokaha	58	22,4	7,5	34,8	12,9	18,5	6,4	14,4	0,99	14	620	7,30	1,86	1,51	0,05	0,04	47
Kounahiri		9,9	7,3	11,3	33,5	36,8	7,0	9,4	0,56	17	403	4,40	2,29	1,19	0,16	0,06	84
Po Tiéningb	27	8,0	0,3	13,6	4,0	71,0	6,5	5,8	0,56	10	553	2,40	1,23	0,60	0,10	0,08	84
Dabakalatou		16,1	5,8	7,1	19,2	49,6	7,0	17,0	1,12	15	718	6,16	4,07	1,84	0,27	0,10	101
Tiéfindougou	34	9,8	7,7	7,2	17,9	57,4	6,5	14,3	0,94	15	620	4,40	2,75	1,35	0,14	0,08	98
Gbétitapia	17	16,7	8,2	11,3	5,6	56,9	6,0	17,6	1,60	12	394	7,36	3,60	1,67	0,18	0,06	75
Daloa Do (A)	21	22,8	3,0	3,9	13,8	53,4	6,4	18,9	1,68	11	302	6,80	2,50	1,45	0,15	0,07	61
Tcheblégué		19,1	3,7	3,0	16,3	55,5	6,7	20,5	1,62	12	515	7,60	5,49	1,94	0,13	0,06	100
Bouaké		18,9	11,2	9,4	21,3	36,5	5,9	15,0	1,07	14	1455	8,64	2,25	0,79	0,16	0,05	38
Béoumi		8,5	5,4	3,2	28,4	54,8	6,3	8,7	0,60	14	340	3,92	1,53	0,63	0,34	0,06	65
Dijon		34,9	24,5	20,0	13,5	7,1	8,14	14,7	1,4	10,5	0,131	16,7	3,6	0,17	0,25		

### NB

Lignes 1-3 : Département de Korhogo

Lignes 5-7 : zone de Tiéningboué, Département de Mankono

Lignes 8-10 : Département de Daloa

Bouaké : sol mis en jachère (6 à 12 mois), station de recherche coton du C.N.R.A.

Semis : labour et billonnage dans toutes ces localités sauf à Béoumi où il a été réalisé un semis à plat

Lignes avec trame de fond grise : sols utilisés pour le test de la réceptivité, pour les analyses microbiologiques et les études de l'activité biologique

**ANNEXE VIII : CLASSES DE PATHOGENICITE DES ISOLATS DE *FUSARIUM OXYSPORUM* ISOLEES DES SOLS DE COTE D'IVOIRE (BOUAKE, DALOA, BEOUMI ET KORHOGO)**

ANNEXE 8-1 : Souches de *Fusarium oxysporum* isolées des sols et testées pour leur pathogénicité pour le cotonnier

Souches du sol Bouaké	Souches du sol de Daloa	Souches du sol de Béoumi	Souches du sol de Korhogo
B1, B3,	C1	D18	E5
B4, B5,	C2	D26	E31
B6, B7, B8,	C3	D4	E9
B9, B10, B17,	C4	D6	E1
B22, B23, B26,	C5	D8	E2
B28, B35, B39,	C5 bis	D2	E13
B41, B44, B45,		D90	E11
B47, B52, B56,		D22	E34
B57, B58, B65,		D10	E52
B68, B71, B72,		D14	E45
B78, B79, B84			E41

Témoin (non pathogène) : FO47

ANNEXE 8-2 Isolats ayant exprimé 0 % de mortalité

0 % de mortalité		0 % de mortalité	
FO47 (2)	0	E45	0
D10	0	E41	0
C3	0	E11	0
C5bis	0	E9	0
D14	0	E5	0
B84	0	Témoin2	0
C4	0	B1	0
C5	0	B28	0
C2	0	B35	0
C1	0	B39	0
E2	0	B45	0
E1	0	B47	0
E13	0	B56	0
E31	0	FO47 (1)	0
E34	0	Témoin1	0
E52	0		

B : Bouaké, C : Daloa, D : Béoumi, E : Korhogo

ANNEXE 8-3 : Isolats ayant exprimé 0 exclu à 100 % de mortalité

0 - 25 % de mortalité		25 - 50 de mortalité		50 - 75 % de mortalité		75 - 100 % de mortalité	
<b>D4</b>	16,67	<b>B22</b>	27,27	<b>B17</b>	58,33	<b>B65</b>	81,82
<b>B23</b>	16,67	<b>D22</b>	33,33	<b>B7</b>	63,64	<b>B10</b>	83,33
<b>B72</b>	16,67	<b>B78</b>	33,33	<b>B79</b>	66,67	<b>B5</b>	83,33
<b>B8</b>	16,67	<b>B26</b>	33,33	<b>B3</b>	66,67	<b>D6</b>	91,67
<b>B9</b>	16,67	<b>D8</b>	41,67	<b>B44</b>	66,67	<b>B4</b>	91,67
<b>B71</b>	25,00	<b>B68</b>	45,45	<b>B52</b>	66,67	<b>D90</b>	100,00
<b>B41</b>	25,00	<b>D26</b>	50,00	<b>B6</b>	70,00	<b>B58</b>	100,00
				<b>B57</b>	72,73		
				<b>D18</b>	75,00		
				<b>D2</b>	75,00		

ANNEXE 8-4 : Fréquence des isolats selon l'origine du sol par classe de mortalité

	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4	Classe 5
B	8	6	4	8	5
C	6	0	0	0	0
D	2	1	3	2	2
E	11	0	0	0	0

NB :

Classe 1 : 0 % de mortalité

Classe 2 : ]0- 25] % de mortalité

Classe 3 : ]25-50] % de mortalité

Classe 4 : ]50-75] % de mortalité

Classe 5 : ]75 -100] % de mortalité

**ANNEXE IX : ARTICLE PUBLIE DANS LE CADRE DE LA THESE**