

Université des Sciences et Techniques  
du Languedoc  
MONTPELLIER II

Centre ORSTOM de MONTPELLIER  
Laboratoire de  
Phytopathologie Tropicale

## MAITRISE DE PHYSIOLOGIE VEGETALE APPLIQUEE

Participation aux recherches effectuées sur  
“L’étude de la compatibilité végétative chez des isolats brésiliens et ivoiriens du  
*Fusarium oxysporum* f. sp. *elaëidis*”

Alexis DAVAUD

17 juin au 15 août 1991

Responsable du stage : C. BOISSON

29 JUIL. 1992

ORSTOM Fonds Documentaire  
N° : 36.392 lx 2  
Cote : A

## **REMERCIEMENTS**

*Je remercie Monsieur Claude BOISSON et Monsieur Jean Paul GEIGER de m'avoir accueilli dans leur laboratoire et de m'avoir conseillé durant le déroulement du stage.*

*Je remercie Monsieur Cyrille DOSSA de m'avoir encadré durant ce stage avec autant de patience et d'amabilité.*

*Je remercie également :*

*Mademoiselle Diana FERNANDEZ, Madame Anne PANDO et Monsieur Bernard RIO d'avoir pris sur leur temps pour me montrer les différentes techniques d'études appliquées dans le laboratoire.*

*Monsieur Komi ASSIGBETSE et Monsieur Fouad DAAYF pour l'atmosphère amicale et enthousiaste qu'ils ont créée autour d'eux.*

*Je n'oublierai pas Madame Suzanne RIGOLLET et Mademoiselle Isabelle RIMBAULT pour tous les conseils qu'elles m'ont donnés à chaque fois que j'en ai eu besoin.*

*Je remercie toutes ces personnes de la gentillesse dont elles ont fait preuve à mon égard.*

**ETUDE DE LA COMPATIBILITE VEGETATIVE CHEZ DES  
ISOLATS BRESILIENS ET IVOIRIENS DU  
*FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP.*ELAEIDIS***

**Alexis DAVAUD**

**RESUME**

Huit isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* obtenus de palmier à huile fusarié (six venant de Côte d'Ivoire et deux du Brésil) ainsi qu'un isolat de *Fusarium oxysporum* issu du sol d'une palmeraie fusariée de Côte d'Ivoire ont été testés pour leur compatibilité végétative par confrontation de mutants déficients pour l'assimilation des nitrates.

Les isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*, bien que provenant de deux pays éloignés l'un de l'autre, le Brésil et la Côte d'Ivoire, se rangent dans un seul groupe de compatibilité végétative, sauf pour deux isolats de Côte d'Ivoire originaires l'un de la parcelle F 213 à Dabou, isolé à partir du sol (Da-B), l'autre d'Ehania à l'Est de la Côte d'Ivoire, isolé à partir de palmier (R 151). Ces deux souches incompatibles sont aussi auto-incompatibles. Il faudra vérifier ces résultats en utilisant d'autres mutants obtenus sur milieu de sélection à base de chlorate. L'homogénéité des résultats laisse penser à une origine commune des différents isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* ivoiriens et brésiliens.

**Mots clefs :** Palmier à huile ; *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* ; compatibilité végétative ; clone.

## PREAMBULE

Mon stage s'est déroulé dans le Laboratoire de Phytopathologie Tropicale de l'ORSTOM (Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération). Le laboratoire travaille en coopération avec l'IRHO (Institut de Recherche sur les Huiles et Oléagineux) et avec l'IRCT (Institut de Recherche sur le Coton et les Textiles). Ces deux instituts sont des départements du CIRAD (Centre de Recherche Agronomique pour le Développement). Ce stage s'insère dans les programmes de recherche en cours portant sur l'étude de la variabilité chez les champignons responsables de maladies vasculaires, notamment sur le cotonnier (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* et *Verticillium dahliae*), sur le palmier à huile (*Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*) et sur la tomate (*Verticillium dahliae*).

Trois thèmes d'études y sont développés :

### **1. Etude de la variabilité des agents pathogènes responsables de maladies vasculaires :**

- étude sur leur variabilité morphologique,
- étude sur la variabilité de leur pouvoir pathogène.

### **2. Analyse de population de ces parasites :**

Etude des relations génétiques entre les souches d'origines différentes. Ce thème est traité par trois techniques :

- étude de la compatibilité végétative,
- étude du polymorphisme enzymatique par électrophorèse,
- étude du polymorphisme de la longueur des fragments de restriction (RFLP).

### 3. L'étude des réactions de défense de la plante et de leur élicitation :

- étude des phytoalexines,
- étude des PR protéines.

Ces différentes études ont pour but de développer une stratégie agronomique et génétique pour la recherche d'espèces végétales résistantes à ces parasites.

Une des plus importantes espèces d'oléagineux de la famille des Palmacées exploitée en zone tropicale et subtropicale est l'*Elaeis Guineensis* Jacq (palmier à huile). Cette culture est affectée par une maladie vasculaire, la fusariose, provoquée par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*. Ce champignon Deutéromycète appartenant à la famille des Tuberculariacées présente trois types de spores :

- les microconidies,
- les macroconidies et
- les chlamydospores.

Mon travail pendant le stage a surtout consisté en l'étude de la structure de population par la compatibilité végétative sur des isolats de champignons pathogènes du palmier à huile issus de différentes régions de Côte d'Ivoire et du Brésil.

## I - INTRODUCTION

Le *Fusarium oxysporum* est un parasite vasculaire très répandu des plantes cultivées. Les souches de *F. oxysporum* sont souvent hautement spécifiques pour leur hôte. Cette spécificité a mené Snyder et Hansen à diviser les espèces en formes spéciales basées sur le fait qu'une souche est capable de causer la maladie sur un hôte unique la plupart du temps (Correll *et al.* 1987).

Certaines formes spéciales peuvent être divisées en plus en races, basées sur leur virulence sur différents cultivars d'un hôte spécifique. Cependant, les études sur la virulence ont montré que celle-ci était influencée par de nombreuses variables : la température, l'âge de l'hôte, la méthode d'inoculation (Correll *et al.* 1987).

Une autre caractéristique a été utilisée pour diviser différentes formes spéciales de *Fusarium oxysporum* en sous-groupes : c'est la compatibilité végétative entre deux isolats (Puhalla, 1984). Ce travail de stage a porté sur une approche partielle de la structure des populations de *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* par l'étude de la compatibilité végétative. Deux isolats sont compatibles végétativement si leurs filaments peuvent s'anastomoser et former un hétérokaryon entre eux. La formation de cette cellule à deux noyaux rend possible une complémentarité mutuelle entre ces noyaux pour leurs déficiences. Dans nos expériences, on utilise des mutants déficients pour l'assimilation de l'azote nitrique (Correll *et al.* 1987).

Les deux mutants confrontés sont différents pour leur site de mutation. Chez un champignon imparfait comme le *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*, la compatibilité végétative entre deux isolats d'origine différente exprime une relative proximité génétique. Chaque groupe constitue une population isolée (Puhalla 1979, 1985). Chez les champignons à reproductions sexuées, chaque génération augmente l'hétérogénéité génétique entre isolats. Cette méthode ne leur est pas applicable (Puhalla, 1985).

Les dernières études menées sur le *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Dossa *et al.*, 1991) ont permis d'établir cinq groupes de compatibilité végétative.

Les expériences menées pendant le stage consistent en l'étude par la compatibilité végétative des relations génétiques entre des isolats de *Fusarium oxysporum* issus de différentes régions de Côte d'Ivoire et du Brésil à partir du sol ou de palmiers fusariés et de définir le ou les groupes de compatibilités auxquels ils appartiennent en les confrontant avec les cultures représentatives de ces groupes.

## **II - MATERIELS ET METHODES**

### **A - MATERIELS**

#### **1 - Cultures**

##### **a) Les isolats (tableau 1)**

Ce sont sept isolats de Côte d'Ivoire et deux du Brésil.

Les isolats de Côte d'Ivoire sont répartis comme suit :

- Un isolat à partir du sol de la palmeraie à Dabou.
- Cinq isolats à partir de stipe de palmiers fusariés de quatre régions de Côte d'Ivoire.
- Un isolat (M179) utilisé en routine à l'IRHO dans les tests de sélection de palmiers contre la fusariose.

Les isolats du Brésil proviennent de stipes de palmier fusariés de deux palmeraies plantées avec du matériel végétal IRHO (isolat Den1) ou du matériel végétal de Papouasie-Nouvelle Guinée où la fusariose est inconnue (isolat Den 2).

**Tableau 1**

Isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* utilisés pour l'étude de la compatibilité végétative

<b>Nom</b>	<b>Origine</b>	<b>Clone</b>
<b>COTE D'IVOIRE</b>		
<b>Da-B</b>	Parcelle F 213 à Dabou	<b>CI 2</b>
<b>Da-60</b>	Dabou	<b>CI 3</b>
<b>A 1</b>	Ehania à l'est de la C.I.	<b>CI 4</b>
<b>R 151</b>	Ehania à l'est de la C.I.	<b>CI 5</b>
<b>R 155</b>	Anguédédou situé au km 20 sur la route de Dabou	<b>CI 6</b>
<b>Yof 104</b>	Yocoboué situé près du Grand Lahou	<b>CI 7</b>
<b>Mono 179</b>	Inoculum standard utilisé à Dabou	<b>CI 8</b>
<b>BRESIL</b>		
<b>Den 1</b>	Parcelle de DEN PASSA 1	<b>34</b>
<b>Den 2</b>	Parcelle de DEN PASSA 2	<b>35</b>

### **b) Les clones**

Ils sont obtenus par isolement d'origine monospore (microconidie). Les descendants par microconidies de chacun des isolats (voir méthode B.2 ) constituent les têtes de clones respectifs. La microconidie étant uninucléée et haploïde, les descendants par mitose de cette spore sont sauf accident, génétiquement homogènes et constituent un authentique clone.

### **c) Les mutants**

Les trois types de mutants (voir méthode B.3,4 ) impliqués dans le test de complémentation sont recherchés à partir des clones représentant les différents isolats de Côte d'Ivoire, du Brésil et de cinq testeurs antérieurement définis par Dossa *et al.*, 1991 (tableau 2).

**Tableau 2 :** Liste des mutants nit M représentatifs des cinq groupes testeurs de compatibilité végétative connus chez *Fusarium oxysporum* f. sp.*elaedis*

<b>GROUPE</b>	<b>ORIGINE</b>	<b>NUMERO DU CLONE</b>
GCV 1	Côte d'Ivoire	16
GCV 2	Ghana	17
GCV 3	Ghana	18
GCV 4	Zaïre	28
GCV 5	Cameroun	29

GCV : Groupe de Compatibilité Végétative

## **2 - Les milieux de culture**

Les milieux de culture sont préparés avec de l'eau distillée et stérilisés à l'autoclave pendant 20 à 25 minutes à 118°C et une pression de 0,86 bar puis coulés en boîte de Pétri ou répartis en tubes et autoclavés dans les même conditions.

## Composition des différents milieux utilisés

Milieu de base : utilisé pour la préparation de tous les autres milieux

Saccharose	30 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub>	0,5 g
FeSO <sub>4</sub>	1 ml
KCL	0,5 g
Agar	20 g
Solution d'oligo-éléments	0,2 ml
Eau	1000ml

Milieu de sélection des mutants chlorate-résistants : MMC

Milieu de base	1000 ml
Asparagine	1,6 g
KClO <sub>3</sub>	15 g
NaNO <sub>3</sub>	2 g

Milieux de caractérisation des mutants pour l'assimilation des nitrates

- Milieu nitrate minimum : MM

Milieu de base	1000 ml
NaNO <sub>3</sub>	2 g

- Milieu nitrite : NIT

milieu de base	1000 ml
NaNO <sub>2</sub>	0,5 g

- Milieu hypoxanthine : HYPO

milieu de base	1000 ml
hypoxanthine	0,2 g

Milieu PDA ( Potato-Dextrose-Agar ) : conservation et multiplication des cultures

Pomme de terre	200 g
Glucose	15 g
Agar	20 g
eau distillée	1000 ml

Milieu Asparagine pour la conservation des différents mutants

Milieu MM	1000 ml
Asparagine	1,6 g

## **B - METHODES**

### **1 - Le clonage**

Les isolats obtenus à partir du sol ou à partir de fragments de stipe de palmier malade peuvent renfermer des noyaux génétiquement différents (le mycélium récolté peut être hétérocaryotique ou représenter un mélange de plusieurs souches récoltées simultanément dans le sol ou dans la plante malade). Avant d'étudier la compatibilité végétative, chaque isolat doit donc être cloné.

Un explant d'environ 1 cm sur 2 cm de l'isolat à cloner est prélevé soit à l'aide d'une anse (culture en tube), soit avec un microscalpel (culture en boîte de Pétri) et déposé dans une petite quantité d'eau. Une goutte de la suspension obtenue est étalée en stries sur PDA. La germination des spores est observée généralement après 24 h à l'obscurité. Les spores (microconidies) germées sont repérées sous la loupe binoculaire. Elles sont distinguées des chlamydospores par leur petite taille et l'absence d'épaississement de la paroi, et des macroconidies en germination par l'absence de cloisons. Elles sont prélevées à l'aide d'un microscalpel et déposées sur le milieu de culture. Les thalles issus de ces spores constituent les clones. Ils sont bouturés en tube sur PDA pour conservation en chambre de culture et/ou au réfrigérateur.

### **2 - La sélection des mutants**

Les champignons sont généralement capables de transformer le  $\text{ClO}_3^-$  en  $\text{ClO}_2^-$  qui leur est toxique. Le  $\text{ClO}_3^-$  est un analogue du  $\text{NO}_3^-$  qui peut être réduit en  $\text{NO}_3^-$  par la nitrate réductase. C'est ce même gène qui intervient dans la transformation du  $\text{ClO}_3^-$  en  $\text{ClO}_2^-$ . Les champignons spontanément mutés au site de la nitrate réductase ne peuvent pas transformer le  $\text{ClO}_3^-$ . Donc en mettant une bouture d'un clone sur un milieu minimum contenant du chlorate (MMC), seules les souches mutées pousseront. Ces mutants sont appelés mutants NIT, déficients pour l'assimilation du nitrate.

### 3 - La caractérisation des mutants

Elle consiste à déterminer le site de la mutation (Correll *et al.* 1987). Trois types de mutations sont possibles d'où trois mutants à caractériser qui sont : NIT 1, NIT 3, NIT M. Leur reconnaissance est permise grâce à la différence de leur développement sur des milieux contenant différentes sources d'azote (Correll *et al.*, 1987) (figures 1, 2, 3 et tableau 3).

Chez *Aspergillus nidulans*, deux enzymes sont nécessaires à la réduction du  $\text{NO}_3^-$  en  $\text{NH}_4^+$  : la nitrate réductase ( $\text{NO}_3^-$  en  $\text{NO}_2^-$ ) et la nitrite réductase ( $\text{NO}_2^-$  en  $\text{NH}_4^+$ ), (figure 4). De nombreux gènes contrôlent ces enzymes, leur régulation est complexe. Les mutants, chlorates résistants, des espèces de *Fusarium* rentrent généralement dans les trois types : nit 1, nit 3, nit M (Leslie, 1990).

- Pour les NIT 1, la mutation est au site du gène de structure de la nitrate réductase.
- Pour les NIT 3, la mutation est au site du gène de régulation de la nitrate et de la nitrite réductase.
- Pour les NIT M, la mutation est aux sites des gènes de structure d'un cofacteur à molybdène nécessaire à l'activité de la nitrate réductase.

### 4 - La complémentation

On met en présence sur du milieu MM deux boutures des mutants nit 1 et nit M obtenus à partir de deux clones différents ou à partir du même clone (vérification de l'auto-compatibilité). Ces boutures sont déposées à un ou deux centimètres l'une de l'autre. Les mutants nit sont auxotrophes pour l'azote sous forme nitrique (milieu MM). Ils s'y développent en formant un mycélium grêle. Si les mutants sont végétativement compatibles, il y aura anastomose puis formation d'un hétérokaryon au niveau de la zone de contact des filaments des deux mutants avec l'apparition d'un mycélium aérien dense, preuve de l'hétérokaryose (figure 5 a).

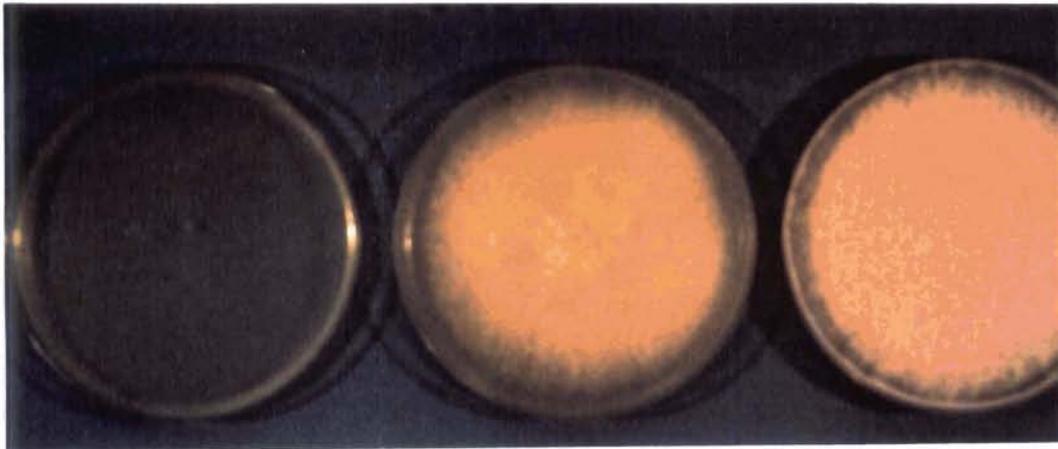
## Identification des mutants chlorate résistants sur des milieux contenant différentes sources d'azote

Les trois différentes sources d'azote sont :

NITRATE

NITRITE

HYPOXANTHINE



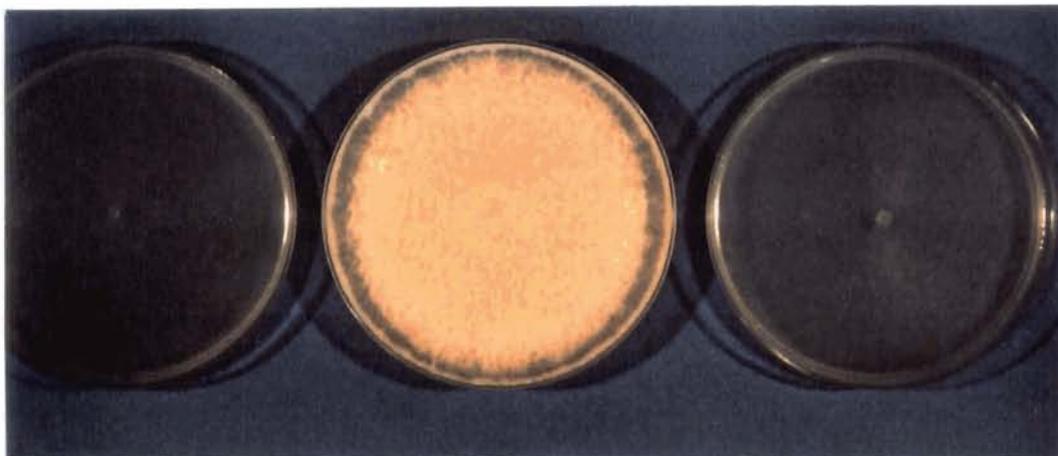
**Figure 1 : Mutant NIT 1 :**

La mutation est au site du gène de structure de la nitrate réductase.



**Figure 2 : Mutant NIT 3 :**

La mutation est au site du gène de régulation de la nitrate et nitrite réductase.



**Figure 3 : Mutant NIT M :** La mutation est aux sites des gènes de structure d'un co-facteur à molybdène nécessaire pour l'activité de la nitrate réductase

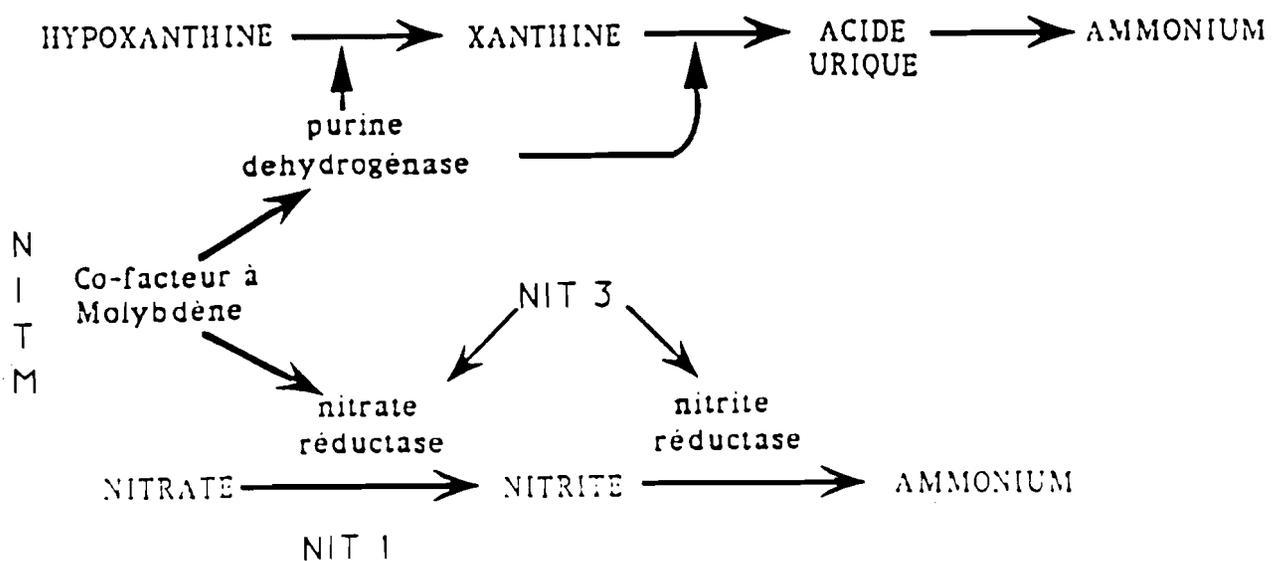
**Tableau 3 :**

Identification des mutants de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaedis* n'utilisant pas le nitrate, par leur développement sur différentes sources d'azote.

Site de mutation	MILIEUX			Type de mutant
	Nitrate	Nitrite	Hypo-xanthine	
Gène de structure de la nitrate réductase	-	+	+	Nit 1
Gène de régulation de la nitrite réductase	-	-	+	Nit 3
Gène de structure du co-facteur à molybdène	-	+	-	Nit M

+ : Développement de type sauvage avec mycélium aérien dense et épais  
 - : Développement grêle sans mycélium aérien

**Figure 4 :** Voie d'utilisation du nitrate chez *Aspergillus nidulans*



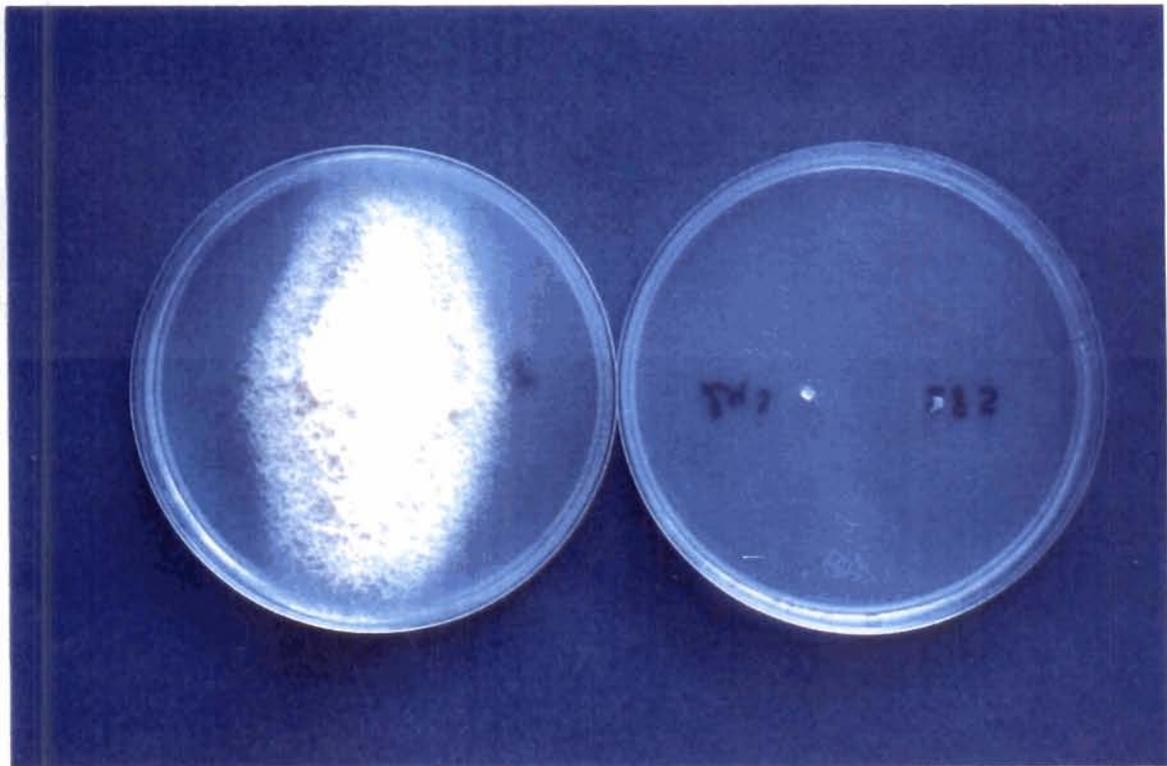
S'ils ne le sont pas, il n'y aura pas de complémentation entre eux ; le mycélium restera ras et grêle même au niveau de la zone de confrontation (figure 5 b). La confrontation entre un mutant nit M et un mutant nit 1 ou nit 3 donne le plus souvent un résultat rapide et assez net. La confrontation entre un mutant nit 1 et nit 3 donne de faibles complémentations peu apparentes même après une longue période d'attente. La confrontation préférentielle est celle entre un mutant nit M et un mutant nit 1 (Correll *et al.* 1987). Celle-ci peut varier d'intensité selon les souches confrontées.

## **5 - Mode de regroupement**

Après la lecture, on regroupe les différents isolats selon que les résultats sont positifs (apparition d'un mycélium aérien au niveau de la zone de contact) ou négatif (si rien n'apparaît). Tous les mutants ayant complémenté avec un autre mutant sont classés dans un même groupe. Pour les réponses négatives, les deux isolats sont mis dans deux groupes distincts dont ils peuvent être l'unique représentant. Les isolats sont ainsi rassemblés dans des groupes dits de **compatibilité végétative**.

**Figure 5 :**

Résultats de complémentation entre deux mutants de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* de clones différents sur milieu nitrate (MM)



**a**

**b**

**a** : mycélium aérien abondant sur la zone de confrontation, résultat +

**b** : aucune apparition de mycélium aérien sur la zone de confrontation, résultat -

### III - RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats de la caractérisation des mutants résistants au chlorate pour chaque isolat (tableau 4) ont permis, à partir de 515 mutants sélectionnés, d'en caractériser 186 en tout. Sur ces 186 mutants, 52 % sont des mutants nit utilisés pour le test de la complémentation. Le mutant nit M a été le plus difficile à obtenir parmi les trois. La difficulté la plus importante est la caractérisation en elle-même, 63 % des 515 mutants du départ n'ont pu être caractérisés. Il est donc nécessaire d'obtenir un maximum de mutants après la sélection pour pouvoir caractériser les trois types de mutants nit.

Les résultats des différentes confrontations entre mutants complémentaires de clones de *F. oxysporum* f.sp.*elaeidis* d'origines diverses de Côte d'Ivoire (tableau 5) montrent que tous les clones sauf CI2 et CI5 complètent entre eux. Tous ces clones peuvent être rassemblés dans le même groupe de compatibilité végétative.

Dans le cas du clone CI8, il y a un résultat négatif pour la confrontation CI8-CI8 qui traduit l'auto-incompatibilité pour le clone, mais les confrontations entre CI8 et CI3 et CI8 et CI4 donnent un résultat positif permettant de classer le clone CI8 avec les autres clones dans le même groupe. En fait, chaque résultat positif est sûr, il ne peut apparaître un mycélium aérien au niveau de la zone de contact que si les deux mutants sont compatibles. Pour quelques cas de résultats négatifs il est possible que ceux-ci soient des résultats positifs dont le mycélium aérien caractéristique n'est pas apparu. Ceci est dû aux mutants utilisés mais ne peut être expliqué. Il est parfois nécessaire de recommencer des complémentations avec de nouveaux mutants. Ce sont les résultats positifs qui déterminent l'appartenance pour chaque isolat à son groupe de compatibilité végétative.

Les confrontations avec cinq testeurs de cinq groupes de compatibilité végétative déjà établis (Dossa *et al.*, 1991) nous ont permis de regrouper les clones CI3, CI4, CI6, CI7, CI8, dans un seul groupe de compatibilité : le groupe n°1 de Côte d'Ivoire (tableau 6).

**Tableau 4 :**

Caractérisation des différents mutants résistants au chlorate pour chacun des clones de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* sur milieu contenant l'une des trois sources d'azote : nitrate, nitrite, hypoxanthine.

CLONE	CI 2	CI 3	CI 4	CI 5	CI 6	CI 7	CI 8	34	35	TOTAL	%	
NOMBRE DE BOUTURES SELECTIONNEES	65	40	65	65	65	40	65	50	10	515		
M U T A N T S												
	NIT 1	1	7	13	1	8	3	9	6	3	51	27,5
	NIT 3	2	3	2	2	3	3	5	3	1	24	13,5
	NIT M	1	3	3	1	0	4	5	3	1	21	11,3
	INDEFINIS	0	0	12	18	5	0	0	0	2	37	19,2
	REVERTANT	9	10	0	8	4	11	8	2	1	53	28,5
	TOTAL	13	23	30	30	20	21	27	14	8	186	100

**Légende :**

**TOTAL :** Nombre total de boutures obtenues sur milieu de sélection MMC et nombre des différents types de mutants pour chaque clone

**INDEFINI :** Pas de croissance sur le milieu à base de nitrite

**REVERTANT :** Mycélium grêle sur milieu à base de nitrate, à la lecture du résultat devenu dense, une à deux semaines après la lecture.

**Tableau 5 :**

Résultats des confrontations entre mutants complémentaires des clones de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* d'origines diverses de Côte d'Ivoire.

	CI 2	CI 3	CI 4	CI 5	CI 6	CI 7	CI 8
CI 2	-	-	-	-	-	-	-
CI 3		+	+	-	+	+	+
CI 4			+	-	+	+	+
CI 5				-	-	-	-
CI 6					+	+	-
CI 7						+	+
CI 8							-

+ : Complémentation entre mutants testés, mycélium dense et épais dans la zone de confrontation (fig. 4 a).

- : Pas de complémentation entre mutants testés, mycélium ras et lâche, y compris dans la zone de confrontation ( fig. 4 b).

---

**Tableau 6 :**

Détermination par complémentation de l'appartenance à un groupe de compatibilité végétative pour chaque isolat de Côte d'Ivoire.

	CI 2	CI 3	CI 4	CI 5	CI 6	CI 7	CI 8
GCV 1	-	+	+	-	+	+	+
GCV 2	-	-	-	-	-	-	-
GCV 3	-	-	-	-	-	-	-
GCV 4	-	-	-	-	-	-	-
GCV 5	-	-	-	-	-	-	-

+ : Complémentation entre mutants testés ; mycélium dense et épais dans la zone de confrontation.

- : Pas de complémentation entre mutants testés ; mycélium ras et grêle dans la zone de confrontation.

GCV : Groupe de Compatibilité Végétative (tableau 2).

Le clone CI2 est un isolat de *Fusarium oxysporum* du sol non compatible avec les différents *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis*. Des résultats analogues ont été obtenus avec *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Katan *et al.*, 1988) avec *F. oxysporum* f.sp. *melonis* (Jacobson et Gordon, 1988). Ces résultats laissent penser que la compatibilité végétative peut être le moyen d'identifier une forme spécialisée de *F. oxysporum* par rapport à une autre ou par rapport à une forme saprophyte du sol (Tantaoui et Boisson, 1991).

Le clone CI5 est un isolat récolté sur un palmier fusarié. Or les résultats de toutes les confrontations entre les autres clones et avec lui-même ont été négatifs. On ne peut pas le classer dans un sixième groupe. Cet isolat est défini comme auto-incompatible (Correll *et al.*, 1987). Il va falloir rechercher d'autres mutants qui complèteront avec lui afin de déterminer son appartenance à un groupe.

Les résultats obtenus des complémentations entre les isolats du Brésil et entre les testeurs des cinq groupes et les isolats brésiliens (tableau 7) montrent que les deux isolats du Brésil sont compatibles entre eux. Les isolats brésiliens appartiennent au même groupe de compatibilité qui est aussi celui des isolats CI3, CI4, CI6, CI7, CI8 ; c'est le groupe de compatibilité de Côte d'Ivoire. Or les deux palmeraies dont ils sont issus sont les seuls endroits au Brésil où on a observé la fusariose jusqu'à maintenant. Ces deux palmeraies sont distantes de 5 km. La parcelle Den passa 1 est plantée avec du matériel végétal IRHO qui est plus âgé que celui de la parcelle Den passa 2 plantée avec du matériel végétal de Papouasie Nouvelle-Guinée qui ne connaît pas la fusariose.

On peut penser que le *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* préexistait dans le sol d'où il a pu pénétrer dans le matériel végétal. De ce point de vue, l'origine du matériel végétal n'interviendrait pas dans la compatibilité obtenue entre les souches de Den passa 1 et de Den passa 2.

**Tableau 7 :**

Résultats des différentes complémentations entre les isolats brésiliens et entre les isolats brésiliens et les différents testeurs des groupes de compatibilité végétative pour le *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*.

	34	35	GCV 1	GCV 2	GCV 3	GCV 4	GCV 5
34	+	+	+	-	-	-	-
35		+	+	-	-	-	-

+ : complémentation entre mutants testés ; mycélium dense et épais dans la zone de confrontation.

- : Pas de complémentation entre mutants testés ; mycélium ras et grêle, y compris dans la zone de confrontation.

Les isolats brésiliens sont les isolats 34 et 35 ( tableau 1).

GCV : Groupe de Compatibilité Végétative (tableau 2).

Une deuxième hypothèse serait que le *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* ait été introduit au Brésil à Den passa 1 via le matériel végétal IRHO. La distance réduite ( 5 km ) et l'utilisation commune de matériels agricoles entre les plantations de Den passa 1 et de Den passa 2 pourrait expliquer une contamination du matériel végétal de Den passa 2 issu de Papouasie Nouvelle-Guinée où la fusariose est inconnue. Ceci expliquerait la compatibilité végétative obtenue entre ces souches qui auraient la même origine.

#### IV - CONCLUSION

Sur les huit isolats de palmier fusarié, seul le groupe de compatibilité végétative pour le clone CI 5 n'a pu être défini. Il faudra mener une autre étude de compatibilité végétative pour ce clone afin de déterminer son groupe de compatibilité végétative.

L'isolat issu du sol lui non plus n'appartient à aucun groupe déjà connu pour cette forme spécialisée ; il faudra pour lui, d'abord déterminer sa forme spécialisée avant de déterminer son appartenance à un groupe de compatibilité végétative pour sa forme spécialisée.

Les sept autres isolats appartiennent au même groupe de compatibilité végétative. Ceci montre une grande homogénéité génétique pour les différents isolats de Côte d'Ivoire, mais aussi pour ceux du Brésil. Il va falloir élucider pourquoi les isolats brésiliens et ivoiriens sont dans le même groupe de compatibilité végétative.

Pour les neuf isolats, la détermination des groupes de compatibilité végétative a fait apparaître une diversité génétique dans toute cette population. Des études plus fines : étude du polymorphisme enzymatique, étude du polymorphisme de l'ADN, permettront de déterminer leur proximité génétique.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CORRELL, J.C. ; KLITTICH, C.J. & LESLIE, J.F. 1987. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. **Phytopathology**, 77: 1640-1646.
- DOSSA, C. ; PANDO BAHUON, A. ; RENARD, J.L. & BOISSON, C. 1991. Détermination des groupes de compatibilité végétative chez des souches africaines de *Fusarium oxysporum* isolées de palmiers à huile fusariés. **Oléagineux**, Vol 46, n°4 : 145-147.
- JACOBSON, D.J. & GORDON, T.R. 1988. Vegetative compatibility and self incompatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. **Phytopathology**, 78: 668-672.
- KATAN, T.; HADAR , E & KATAN, J. 1989. Vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* from carnation in Israël. **Pl. Path.**, 38: 376-381.
- LESLIE, J.F. 1990. Genetic exchange within sexual and asexual populations of the genus *Fusarium*. *Fusarium wilt of Banana*, R.C. Ploetz ed., 4 : 37-48.
- PUHALLA, J. 1979. Classification of isolates of *Verticillium dahliae* based on heterocaryon in compatibility. **Phytopathology**, 69: 1186-1189.
- PUHALLA, J.1984. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. **Can J. Bot.**, 63: 179-183.
- TANTAOUI, A. & BOISSON, C. 1991. Compatibilité végétative d'isolats du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et des *Fusarium oxysporum* de la rhizosphère du palmier dattier et des sols de palmeraies. A paraitre dans **Phytopathologia Mediterranea**.

## LISTE DES ILLUSTRATIONS

- Tableau 1 :** Isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* utilisés pour l'étude de la compatibilité végétative.
- Tableau 2 :** Liste des mutants nit M représentatifs des cinq groupes testeurs de compatibilité végétative connus chez *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*.
- Tableau 3 :** Identification des mutants de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* n'utilisant pas le nitrate, par leur développement sur différentes sources d'azote.
- Tableau 4 :** Caractérisation des différents mutants résistants au chlorate pour chacun des clones de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* sur milieu contenant l'une des trois sources d'azote : nitrate, nitrite, hypoxanthine
- Tableau 5 :** Résultats des confrontations entre mutants complémentaires des clones de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* d'origines diverses de Côte d'Ivoire.
- Tableau 6 :** Détermination par complémentation de l'appartenance à un groupe de compatibilité végétative pour chaque isolat de Côte d'Ivoire.
- Tableau 7 :** Résultats des différentes complémentations entre les isolats brésiliens et entre les isolats brésiliens et les différents testeurs des groupes de compatibilité végétative pour le *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*.
- Figure 1, 2, 3 :** Identification des mutants (nit 1, nit 3, nit M) chlorate résistants sur des milieux contenant différentes sources d'azote.
- Figure 4 :** Voie d'utilisation du nitrate chez *Aspergillus nidulans*.
- Figure 5 :** Résultats de complémentation entre deux mutants de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* de clones différents sur milieu nitrate (MM).

# SOMMAIRE

	<b>Pages</b>
<b>PREAMBULE</b>	2
<b>I - INTRODUCTION</b>	4
<b>II - MATERIELS ET METHODES</b>	5
<b>A - MATERIELS</b>	5
<b>1 - Cultures</b>	5
a) Les isolats	5
b) Les clones	7
c) Les mutants	7
<b>2 - Les milieux de cultures :</b>	7
Composition des différents milieux utilisés	8
<b>B - METHODES</b>	9
<b>1 - Le clonage</b>	9
<b>2 - La sélection des mutants</b>	9
<b>3 - La caractérisation des mutants</b>	10
<b>4 - La complémentation</b>	10
<b>5 - Mode de regroupement</b>	13
<b>III - RESULTATS ET DISCUSSIONS</b>	15
<b>IV - CONCLUSIONS</b>	20
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	21
<b>LISTE DES ILLUSTRATIONS</b>	22
<b>TABLE DES MATIERES</b>	23