

CENTRE NATIONAL D'ETUDES AGRONOMIQUES DES REGIONS CHAUDES

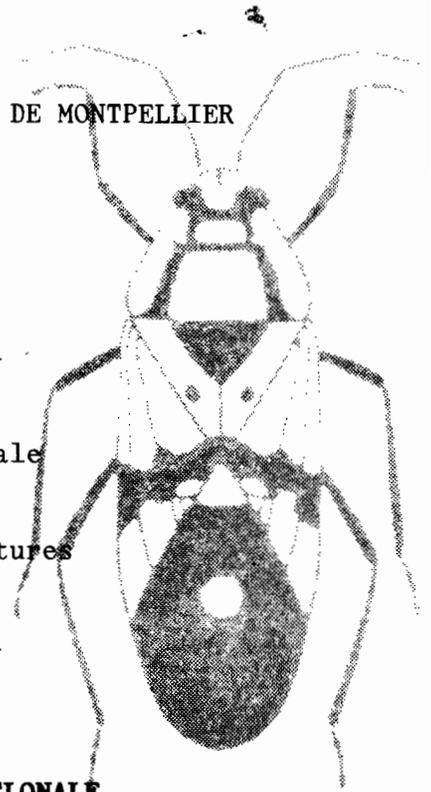
(C.N.E.A.R.C)

ECOLE SUPERIEURE D'AGRONOMIE TROPICALE DE MONTPELLIER

(E.S.A.T)

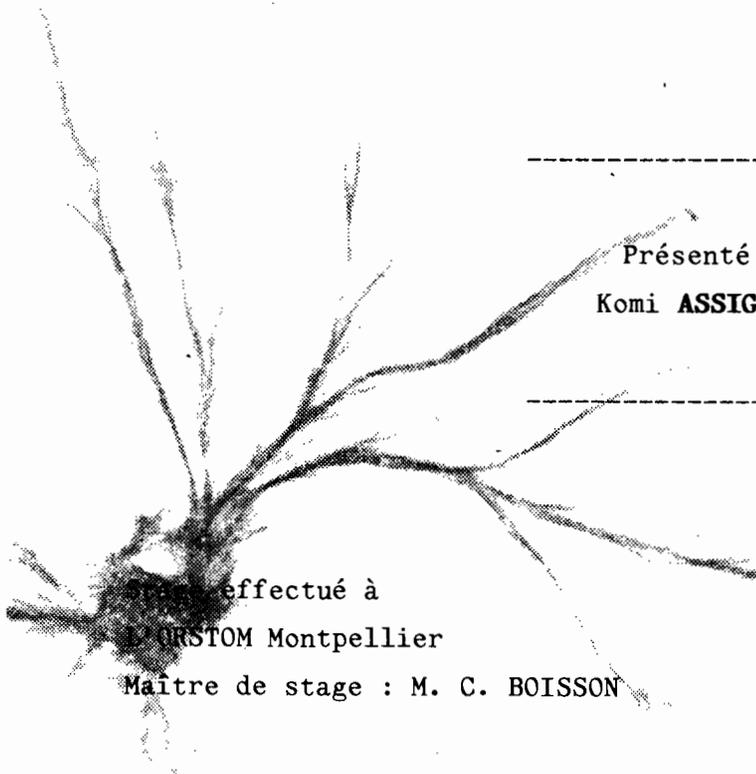
Diplôme d'Agronomie Tropicale

Filière : Protection des cultures



**ETUDE DE LA VARIABILITE INTRACLONALE
DU POUVOIR PATHOGENE ET DE LA MORPHOLOGIE
DANS LA DESCENDANCE PAR MICROCONIDIES DE TROIS
ISOLATS DE FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. VASINFECTUM,
AGENT CAUSAL DE LA FUSARIOSE DU COTONNIER.**

Présenté par
Komi ASSIGBETSE



Effectué à
L'INSTITUT D'AGRONOMIE MONTPELLIER
Maître de stage : M. C. BOISSON

Année Universitaire
1987 - 1988

CENTRE NATIONAL D'ETUDES AGRONOMIQUES DES REGIONS CHAUDES

(C.N.E.A.R.C)

ECOLE SUPERIEURE D'AGRONOMIE TROPICALE DE MONTPELLIER

(E.S.A.T)

Diplôme d'Agronomie Tropicale

Filière : Protection des cultures

**ETUDE DE LA VARIABILITE INTRACLONALE
DU POUVOIR PATHOGENE ET DE LA MORPHOLOGIE
DANS LA DESCENDANCE PAR MICROCONIDIES DE TROIS
ISOLATS DE FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. VASINFECTUM,
AGENT CAUSAL DE LA FUSARIOSE DU COTONNIER.**

Présenté par
Komi **ASSIGBETSE**

Stage effectué à
L'ORSTOM Montpellier
Maître de stage : M. C. BOISSON

Année Universitaire
1987 - 1988

ETUDE DE LA VARIABILITE INTRACLONALE DU POUVOIR PATHOGENE ET DE LA MORPHOLOGIE DANS LA DESCENDANCE PAR MICROCONIDIES DE TROIS ISOLATS DE FUSARIUM OXYSPORUM f. sp. VASINFECTUM, AGENT CAUSAL DE LA FUSARIOSE DU COTONNIER.

STUDY OF INTRACLONAL MORPHOLOGY AND PATHOGENICITY VARIABILITY IN THE MICROCONIDIAL DESCENDANCE OF THREE FUSARIUM OXYSPORUM f. sp. VASINFECTUM STRAINGS, CAUSAL AGENT OF FUSARIUM WILT DISEASE OF COTTON.

Komi **ASSIGBETSE**

Enseignant du CNEARC responsable : Claude BOISSON
Maître de Conférences
en Protection des Cultures

Etablissement où s'est déroulé le stage :

INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
POUR LE DEVELOPPEMENT EN COOPERATION (ORSTOM)

2051, Avenue du Val de Montferrand. B.P. 5045
34032 MONTPELLIER Cedex

Maître de stage : M. C. BOISSON

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I - <u>LA FUSARIOSE DU COTONNIER</u>	
1.1- L'agent pathogène	3
1.2- Plantes hôtes	3
1.3- Dissémination et conservation	5
1.4- Symptômes de la maladie	5
1.5- Moyens de lutte	7
1.6- Variabilité de l'agent pathogène	8
1.7- Conclusion	10
CHAPITRE II - <u>MATERIELS ET METHODES</u>	
2.1- <u>MATERIELS</u>	11
2.1.1- Les isolats de <u>Fusarium oxysporum</u> f. sp. <u>vasinfectum</u> utilisés.	11
2.1.2- Les variétés de cotonnier	12
2.2- <u>METHODES</u>	
2.2.1- Technique de base d'étude de la variabilité intracloonale à partir de microconidies.	13

2.2.2-	Technique de séparation des différents types de spores	16
2.2.3-	Techniques d'inoculation	18

CHAPITRE III - RESULTATS

3.1-	Choix de la technique d'inoculation	24
3.2-	Variabilité morphologique	27
3.3-	Variabilité du pouvoir pathogène	41

CHAPITRE IV - DISCUSSION ET CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

REMERCIEMENTS

Je suis particulièrement redevable à M. C. BOISSON enseignant au CNEARC, responsable de l'option Protection des cultures (ESAT) qui m'a accueilli dans son laboratoire de phytopathologie. Il m'a permis par son expérience et sa disponibilité de mener à bien ce travail. Sa rigueur scientifique et ses suggestions m'ont été d'une aide précieuse. Il m'est agréable de pouvoir lui adresser mes vifs remerciements.

Je tiens à exprimer également mes remerciements à M. J.C FOLLIN phytopathologiste IRCT/CIRAD qui nous a gracieusement fourni des graines et des tiges malades de Cotonnier. Je lui exprime toute ma reconnaissance.

Je sais gré à tous les membres du jury pour leur entière disponibilité en acceptant de juger mon travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes vifs remerciements.

RESUME

La variabilité du pouvoir pathogène et de la morphologie dans la descendance par microconidies est recherchée chez trois isolats de Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum.

Pour ce faire, des microconidies ont été régulièrement prélevées sur les isolats préalablement clonés et à des âges de 2 et 4 mois.

De l'observation des cultures monospores réalisées, il ressort que l'âge des clones, où sont prélevées les microconidies, a une influence sur l'aspect et la couleur du mycélium ainsi que sur la pigmentation des cultures.

Les cultures monospores, obtenues à partir des macroconidies provenant de pionnotes de l'isolat "F.O.V. CI" âgé de 2 mois, ont présenté 2 types morphologiques à savoir le type pionnotal (pas de mycélium aérien mais beaucoup de macroconidies) et le type mycéliel (mycélium aérien abondant et très peu de macroconidies).

Les clones provenant des isolats fraîchement prélevés des tiges malades sont les seules, aptes à produire des organes fructifères (pionnotes, sclérotés).

Les isolats "F.O.V. P" et "F.O.V. CI" clonés, inoculés à de jeunes Cotonniers âgés de 2 semaines par la technique de trempage des racines, se révèlent tous très pathogènes. Par contre l'isolat "F.O.V. RCA" cloné, ne s'est pas montré pathogène à l'égard des Cotonniers. Mais conservé pendant 5 mois en tube, cet isolat a repris son pouvoir pathogène vis-à-vis du Cotonnier. Il ressort que l'âge de la culture a donc une influence sur l'augmentation du pouvoir pathogène du Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum.

De notre étude, il n'apparaît aucune grande variabilité dans le pouvoir pathogène des descendants par microconidies, des microconidies elles-mêmes et des macroconidies d'un même clone.

INTRODUCTION

Parmi les genres de Champignons, agents de maladies vasculaires, le Fusarium est l'un des plus fréquents et des plus dommageables aux cultures.

Depuis la description du genre Fusarium en 1809 par **LINK**, de nombreux travaux sur la taxonomie du genre et la classification des espèces ont suivi (synthèse des travaux in : **BOOTH**, 1971 ; **MACE et al.**, 1981 ; **NELSON et TOUSSON**, 1981 ; **NELSON et al.**, 1983).

Les Fusarium sont des Champignons ubiquistes, saprophytes ou pathogènes des végétaux et des animaux (**NELSON**, 1981). Sur les végétaux, de nombreuses espèces de ce Champignon sont agents de maladies vasculaires dont le Fusarium oxysporum (SCH) SN. et H. qui est sans doute l'espèce parasite la plus fréquente et la plus importante de la microflore fongique des sols cultivés (**MESSIAEN et CASSINI**, 1968).

Le Fusarium oxysporum regroupe des formes parasitaires se distinguant par une virulence particulière vis-à-vis de telle ou telle espèce végétale et qui sont considérées comme des formes spécialisées (**MESSIAEN et CASSINI**, 1968). L'une d'entre elles, Fusarium oxysporum f. sp (1) vasinfectum (ATK) SN. et H. est l'agent responsable de la fusariose du Cotonnier. Cette trachéomycose se retrouve dans toutes les grandes régions de culture du Cotonnier (annexe 1) causant d'énormes dégâts dans les régions de la vallée du Nil, en URSS, en AFRIQUE de l'Est et aux Etats-Unis (**SNYDER et SHIRLEY**, 1981).

Des méthodes de lutte existent mais seules la lutte agronomique et la lutte génétique (variétés résistantes) peuvent être mises en oeuvre avec succès. Or, la recherche de variétés résistantes suppose que l'on dispose au préalable de souches stables de l'agent pathogène.

(1) Forme spécialisée

Certains travaux effectués sur les agents pathogènes responsables des maladies vasculaires tels que :

- Verticillium dahliae sur la Tomate (BOISSON et LAHLOU, 1980 à 1984 ; GONDRAN ; 1984).
- Fusarium oxysporum f. sp. cubense sur le Bananier (FOLLIN et LAVILLE, 1966).
- Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum sur le Cotonnier (SOUOP, 1986).

révèlent qu'ils sont le siège de variations portant sur la morphologie et sur le pouvoir pathogène des descendants par voie asexuée d'un même clone. Ces résultats permettent (BOISSON, communication personnelle) d'expliquer l'initiation des épidémies dans les conditions naturelles et les problèmes rencontrés au niveau de l'instabilité des souches utilisées dans les tests de sensibilité/résistance des espèces végétales en cours d'amélioration.

Compte tenu des considérations précédentes, nous nous sommes fixés comme objectif, l'étude de la variabilité de la morphologie et du pouvoir pathogène chez le F.O.V (1), agent de la fusariose du Cotonnier.

(1) Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum.

CHAPITRE I

LA FUSARIOSE DU COTONNIER

La fusariose du Cotonnier est une maladie vasculaire dont la manifestation la plus évidente est le flétrissement de la plante ou "Wilt", provoqué par la colonisation des vaisseaux ligneux par le champignon responsable Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum (ATK) **SNYDER** et **HANSEN**.

1.1- L'AGENT PATHOGENE

Le F.O.V est un Deutéromycète (Champignon imparfait) tellurique appartenant à la sous classe des Hyphomycètes, et à la famille des Tuberculariacées. Selon la classification de **WOLLENWEBER** et **REINKING**, (1935) cités par **NELSON**, (1981) repartissant les Fusarium en sections, le F.O.V appartient à la section ELEGANS.

Le F.O.V produit 3 types de spores asexuées :

- Les macroconidies, allongées, finement pointues aux extrémités (Planche 1A), présentent généralement 3 à 5 cloisons. Elles sont produites souvent sur des conidiophores ramifiés en sporodochies (Planche 1B) ou isolement sur du mycélium aérien et présentent des dimensions de 27-60 X 3-5 μ m (**BOOTH**, 1977 ; **NELSON**, 1981).

- Les microconidies (Planche 1C) de forme ovoïde et de dimensions 5-12 X 2.2-3,5 μ m (**BOOTH**, 1977), sont produites sur de courts microconidiophores formés sur du mycélium aérien (**NELSON**, 1981).

Les chlamydospores (Planche 1D) de forme ovale, sont produites sur des hyphes ou sur les conidies par la condensation de leur contenu (**TOUSSON** et **NELSON**, 1976 cités par **NELSON**, 1981). Sur les hyphes, les chlamydospores peuvent être intercalaires ou terminales.

1.2- PLANTES HÔTES

Le F.O.V est un parasite facultatif qui peut vivre dans le sol sous forme de saprophyte.

En tant que parasite, il n'est pas strictement inféodé au Cotonnier et il a été signalé dans des conditions naturelles (**SMITH** et al., 1981)

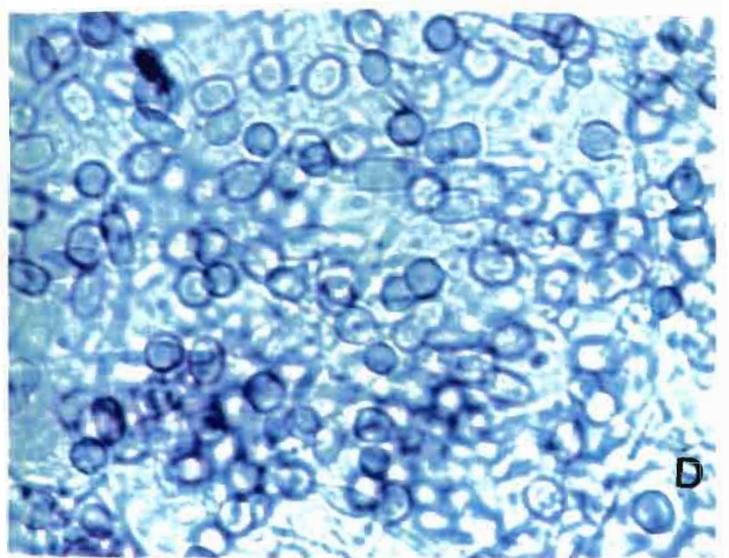
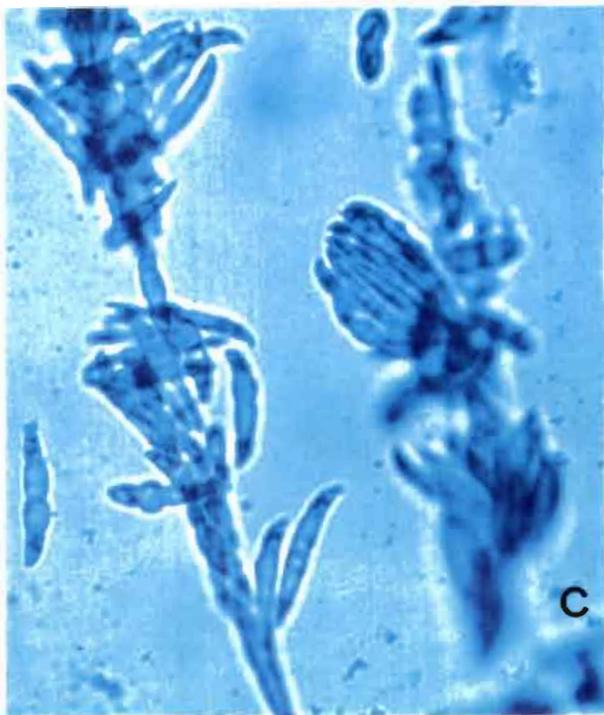
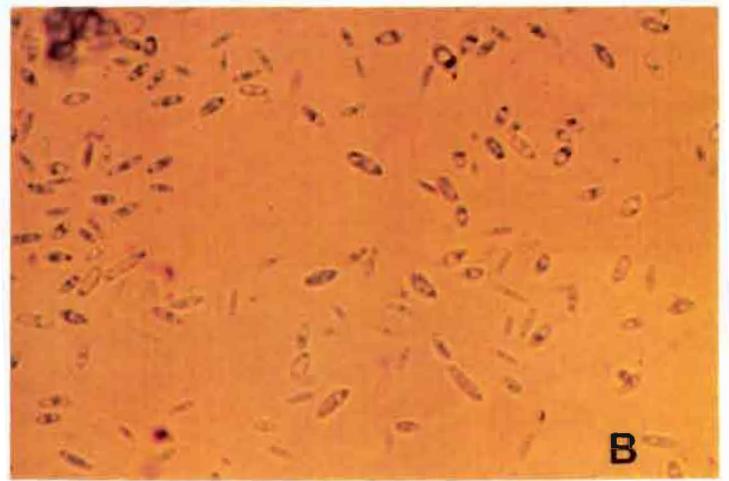


Planche 1 : Structures de reproduction du F.O.V

A - Macroconidies

B - Sporodochies

C - Microconidies

D - Clamydospores

* Les cultures sont faites sur faites sur milieu PDA.

sur différentes sortes de plantes cultivées ou spontanées (Gombo, Luzerne, Orge etc).

En inoculation artificielle, **WOOD** et **EBBELS** (1972) ont trouvé que cet agent pathogène pouvait infecter une large gamme de plantes des familles de Malvaceae, Sterculiaceae, et Tiliaceae.

1.3- DISSEMINATION ET CONSERVATION

Plusieurs voies de dissémination du F.O.V sont connues (**KOMMEDAHL et al.**, 1970 cités par **NELSON**, 1981) notamment :

- L'homme, par le déplacement de débris végétaux et des sols infestés vers les zones non infestées.
 - L'eau à travers l'irrigation, les eaux de ruissellement.
 - Le vent par le transport de terre contaminée de spores.
 - Les semences infestées à travers les importations de semences.
- Selon **NELSON**, (1981) ; **SNYDER** et **SHIRLEY**, (1981) la transmission de la fusariose du Cotonnier par les semences infestées demeure la principale voie de propagation de la maladie.

En l'absence de Cotonnier le F.O.V est capable de survivre longtemps dans les adventices, les plantes non-hôtes ou même directement dans le sol sous forme de chlamydospores (**SMITH et al.**, 1981).

1.4- SYMPTÔMES DE LA MALADIE

Le F.O.V attaque le Cotonnier à tous les stades de développement mais plus particulièrement au stade jeune plante (**HILLOCKS**, 1984).

Les symptômes caractéristiques de cette attaque sont d'abord un flétrissement des feuilles cotylédonaire et des premières feuilles vraies, ensuite une chlorose et une nécrose, le tout suivi d'une défoliation de la plante (Planche 2). Les vaisseaux de la plante brunissent, la croissance de la plante est ralentie voire arrêtée suivie



Planche 2 : Symptômes de la fusariose du Cotonnier.

A - Chlorose sur une feuille de Cotonnier.

B - Inoculations artificielles de jeunes Cotonniers : début de flétrissement sur certaines plantes, feuilles nécrosées et mortes sur d'autres plantes.

d'un dépérissement généralisé ou de la mort de la plante.

Les attaques sont très sévères lorsque les nématodes galligènes sont présents dans le sol (GARBER et al., 1979) en particulier Meloidogyne incognita et également lorsque le sol est acide, humide, sableux et pauvre en potassium (SMITH et al., 1981 ; HILLOCHS, 1984).

1.5- MOYENS DE LUTTE

Les différents moyens de lutte existant contre la fusariose du Cotonnier sont d'ordre :

- Prophylactique : la production de semences saines, la destruction des débris de récolte par brûlure et la mise en quarantaine des semences importées.

- Agronomique

* Jachère de longue durée

* Rotation culturale avec des cultures non-hôtes

Mais le F.O.V peut survivre de nombreuses années en l'absence de Cotonniers comme saprophyte dans les débris végétaux, dans la rizosphère des plantes non-hôtes ou dans les hôtes alternués compromettant ainsi l'effet d'éradication de cette pratique agronomique sur le champignon.

- Chimique

* Traitement des semences avant le semis.

* Fumigation des sols infestés par le complexe nématodes galligènes. Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum, pour réduire l'incidence de l'attaque des nématodes sur celle du Fusarium (HILLOCHS, 1984). Mais cette méthode s'avère impraticable du point de vue économique pour beaucoup de pays.

* Utilisation de certains herbicides pour inhiber la germination des chlamydospores dans le sol (**EL-KHADEM et al.**, 1984).

- Génétique : repose sur la recherche et l'utilisation des variétés résistantes de Cotonnier à la fusariose. De fortes résistances ont été révélées chez certains cultivars de Gossypium barbadense dues à des gènes majeurs dominants à effets additifs (**SMITH et DICK**, 1960 cités par **HILLOCKS** 1984). Selon **FOLLIN** (1986), le déterminisme de cette résistance à la fusariose est mal connu et chez Gossypium hirsutum en général, la résistance est plus faible que chez Gossypium barbadense et la résistance obtenue est toujours loin de la résistance totale.

Depuis plusieurs années, des variétés résistantes ou tolérantes sont utilisées un peu partout dans le monde.

1.6- VARIABILITE DE L'AGENT PATHOGENE

Le genre Fusarium en général connaît d'importantes variations portant sur la morphologie et le pouvoir pathogène (**NELSON et TOUSSON**, 1981). **NELSON et al.**, (1983) s'inspirant de la classification de **SNYDER et HANSEN** (1940) basée sur les caractères morphologiques au sein du genre, décrivent plusieurs espèces de Fusarium dont le Fusarium oxysporum. Ce dernier est lui-même le siège de nombreuses variations morphologiques et parasitaires.

Les variations morphologiques, créant des difficultés de maintien du phénotype original des souches en culture ont conduit **NELSON et TOUSSON**, 1976 cités par **NELSON**, (1981) à distinguer des types morphologiques tels que les types sporodochial, sclérotique, cotonneux ou mycéliel et pionnotal. Ces mêmes auteurs ont signalé une fréquente évolution des variations du type sporodochial vers le type mycéliel ou le type pionnotal.

Les variations dans le pouvoir pathogène des Fusarium oxysporum ont entraîné la définition des formes spécialisées selon le spectre d'hôtes attaqués (**MESSIAEN et CASSINI**, 1968). Chez le F.O.V, **ARMSTRONG et ARMSTRONG** (1958, 1960, 1978, 1980) et **IBRAHIM**, (1966) ont trouvé les virulences différentes des souches sur certaines espèces et cultivars de

Cotonnier (Gossypium hirsutum L., G. arboreum L., G. barbadense L.), sur le Gombo (Abelmoschus esculentus L.), sur le Tabac (Nicotiana tabacum L.) et sur la Luzerne (Medicago sativa L.).

Ils ont ainsi défini 6 races de cet agent pathogène (Tableau 1). Il est important de noter que la gamme d'hôtes utilisée comporte à la fois des espèces différentes de Cotonnier et des cultivars variés d'une même espèce ; classiquement, la définition des races se fait sur une seule espèce avec différentes variétés.

Tableau 1 : Différenciation en races du Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum

		Espèces et cultivars hôtes								
Races	Origines	<u>G. hirsutum</u>		<u>G. barbadense</u>		<u>G. arboreum</u>	<u>Abelmoschus esculentus</u>	<u>Nicotiana tabacum</u>	<u>Medicago sativa</u>	
		"Acala"	"Rowden"	"Ashmouni"	"Sakel"	"Pozi"	"Clenison spineless"	"Gold Dollar"	"Grimm"	
1	USA	S	S	S	S	R	S	R	S	
2	USA	S	S	S	S	R	S	S	S	
3	EGYPTE	R	R	R	S	S	R	R	R	
4	INDE	R	R	R	R	S	R	R	R	
5	SOUDAN	R	-	S	S	S	-	-	-	
6	PARAGUAY BRAZIL	-	S	-	-	R	S	R	R	

S = Sensible

R = Résistant

- = non testé

(D'après ARMSTRONG et ARMSTRONG, 1980)

Les récents travaux de **SOUOP** (1986) sur la variabilité intraclonale du pouvoir pathogène et de la morphologie dans la descendance par microconidies de certains isolats du F.O.V révèlent l'existence de variants de pouvoir pathogène faible ou nul (dans 2 cas sur 20 descendants testés). Tous ces phénomènes témoignent ainsi de la grande variabilité dont est le siège le F.O.V.

1.7- CONCLUSION

De tous les moyens de lutte existants contre la fusariose du Cotonnier, la lutte génétique ou variétale paraît la plus efficace et la seule qui puisse être employée en pratique avec succès.

Mais la stabilité et la durabilité de celle-ci dépend beaucoup des possibilités de variation du pouvoir pathogène du F.O.V.

La nécessité d'une connaissance et d'une maîtrise de ces variations s'impose, pour la mise au point d'une méthode de lutte génétique efficace et durable.

Et c'est dans ce soucis que les deux aspects de cette variation, à savoir :

- La variabilité morphologique dans la descendance par microconidies d'une culture d'origine monospore âgée de 2 et 4 mois.
- La variabilité du pouvoir pathogène dans la descendance par microconidies et par les différents types de spores,

font l'objet de ce mémoire.

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

Certaines formes spécialisées de Fusarium oxysporum sont soumises à des variations portant sur la morphologie et le pouvoir pathogène (NELSON et TOUSSON, 1981).

D'après SOUOP, (1986), les isolats de F.O.V peuvent aussi présenter des variations au niveau du pouvoir pathogène. Nous avons donc voulu étudier la variabilité chez les isolats de F.O.V que nous possédions.

Pour estimer d'éventuelles modifications du pouvoir pathogène, il faut inoculer artificiellement les plantes de Cotonnier susceptibles d'être attaquées par nos isolats et de présenter des symptômes caractéristiques de l'attaque par le F.O.V, d'où le choix des variétés sensibles Rowden, STAM 84 et T120-79.

Plusieurs techniques d'inoculation artificielle sont connues mais nous devons en retenir une, qui donne des résultats satisfaisants répondant aux objectifs de notre travail. Nous avons donc testé, au préalable plusieurs de ces techniques afin de retenir celle qui nous paraissait la mieux adaptée.

FOLLIN et LAVILLE (1966) avaient montré une variabilité morphologique chez le F. oxysporum f. sp. cubense selon le type de spores utilisées. Nous avons voulu également rechercher cette variabilité chez le F.O.V ce qui nous a amené à mettre au point des techniques permettant de séparer les macroconidies des microconidies et des chlamydospores.

2.1- MATERIELS

2.1.1- Les isolats du F.O.V utilisés

Trois isolats de F.O.V d'origines géographiques différentes sont utilisés. Ils ont été dénommés :

- "F.O.V. CI" (1) : originaire de la Côte d'Ivoire.

 (1) F. oxysporum f. sp. vasinfectum Côte d'Ivoire.

- "F.O.V. P" (1) : originaire du Paraguay

Ces 2 isolats ont été obtenus à partir de tiges de Cotonnier malades fournies par M. FOLLIN (Phytopathologiste IRCT-CIRAD).

- "F.O.V. RCA" (2) : originaire de la République Centrafricaine. Il avait fait l'objet des travaux de SOUOP (1986) et était depuis conservé en culture en tubes. Il était pathogène vis-à-vis du Cotonnier et, préalablement cloné, avait fourni dans ses descendants par microconidies des variants très peu pathogènes vis-à-vis du Cotonnier (SOUOP, 1986).

2.1.2- Les variétés de Cotonnier

Quatre variétés de Cotonnier appartenant à l'espèce Gossypium hirsutum ont été utilisées durant nos travaux. Il s'agit de :

- Rowden : variété sensible aux races 1,2 et 6 de F.O.V (ARMSTRONG et ARMSTRONG 1978 ; 1980).
- STAM 84 : variété sensible à la fusariose en Afrique Tropicale (FOLLIN, communication personnelle).

Ces 2 variétés STAM 84 et T120-79 appartenant à l'espèce G. hirsutum sont à priori sensibles aux races 1 et 2 du F.O.V.

- T120-79 : variété sensible à la fusariose en Afrique tropicale (GOEBEL et VAISSAYRE 1986).

(1) F. oxysporum f. sp. vasinfectum Paraguay.

(2) F. oxysporum f. sp. vasinfectum République Centrafricaine.

- McNair 511 : variété résistante au F.O.V. (ARMSTRONG et ARMSTRONG, 1978 ; GOEBEL et VAISSAYRE, 1986).

2.2- METHODES

2.2.1- Technique de base d'étude de la variabilité intraclonale à partir de microconidies.

a- Caractérisation des isolats

La caractérisation des isolats consiste à suivre sur 3 milieux de culture différents PDA, MM et Malt (annexe 2), le comportement des 3 isolats de F.O.V notamment :

- La croissance diamétrale
- L'aspect morphologique de la culture (couleur, présence ou absence de mycélium aérien, aspect du mycélium, pigmentation).
- La formation de différents types de spores (microconidies, macroconidies, chlamydo-spores).
- La formation d'organes fructifères sporodochies, pionnotes et des sclérotés.

Des cultures à partir de boutures de 1mm de côté sont faites dans des boîtes de pétri de 8 cm de diamètre contenant les milieux PDA, MM et Malt puis incubées à l'étuve à $25 \pm 1^\circ \text{C}$.

b- Obtention des clones et sous clones

Les clonages et sous clonages ont pour but de rechercher la variabilité portant sur la morphologie et éventuellement sur le pouvoir pathogène dans la descendance par microconidies des différents isolats.

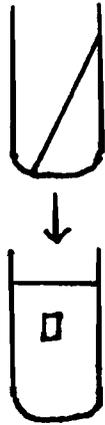
Pour cloner ces isolats (Fig 1), des morceaux de cultures, prélevés stérilement dans la marge de croissance, sont placés dans des tubes contenant 5 à 8 ml d'eau stérile. Après agitation, une goutte de solution concentrée est étalée en stries à la surface du milieu gélosé dans une boîte de pétri ; les cultures sont faites à l'étuve à $25 \pm 1^\circ \text{C}$. Vingt quatre heures plus tard, on prélève stérilement à la loupe, des microconidies en germination.

Pour chaque isolat, 100 jeunes thalles sont isolés et repiqués dans des boîtes de pétri. Pendant 2 semaines, le comportement des thalles issus de la germination des microconidies est observé (croissance, couleur, aspect du mycélium). Parmi ces thalles d'origine monospore, 7 sont choisis par isolat pour constituer des clones qui sont ensuite bouturés dans des tubes et conservés au réfrigérateur.

Nos clones choisis se ressemblant entre-eux du point de vue morphologique (croissance, couleur, aspect du mycélium) et à leur culture mère sur milieu PDA, un seul par isolat est finalement choisi pour constituer notre clone de départ. Ce dernier est repiqué dans des tubes conservés à $25 \pm 1^\circ \text{C}$ à partir desquels des prélèvements sont effectués à 2 et 4 mois pour le sous clonage.

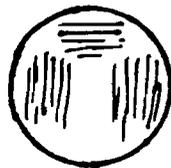
Celui-ci consiste à faire également des isolements monospores (100 au minimum) à partir de suspensions de microconidies préparées par agitation dans de l'eau stérile d'un fragment de thalle du clone choisi. Les cultures obtenues sont régulièrement suivies et caractérisées.

Isolat de F.O.V
repiqué en tube

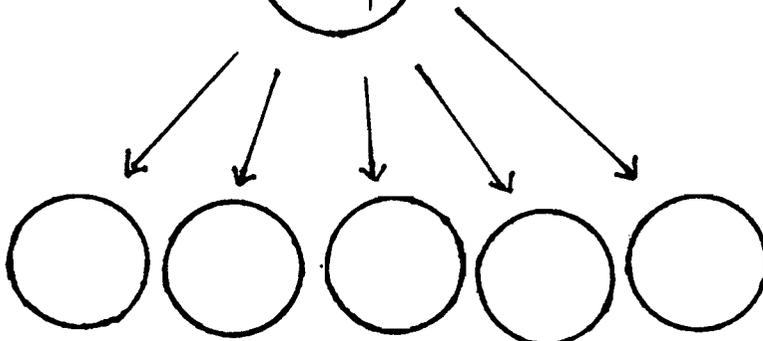


Obtention de la
suspension de microconidies.

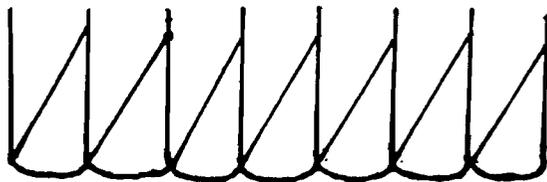
Etallement en stries de
la suspension.



24 H après.



Isolement monospore
(100 au minimum).
Mise en culture dans des
boîtes de pétri. Choix
du clone de départ
caractérisation et inoculation.



Repiquage des boutures
de cette culture en tubes
Constitution du stock de
cultures jumelles.

Culture âgée
de 2 mois.



Culture âgée
de 4 mois.



Isolement monospore
(100 au minimum)
avec des cultures âgées
de 2 et 4 mois. Mise en
culture dans des boîtes de
pétri. Caractérisation
Inoculation.

Fig 1 : SCHEMA D'OBTENTION DES CLONES ET SOUS-CLONES

A l'issue du clonage, les clones de départ suivants ont été choisis au hasard pour être utilisés au cours de notre étude. Il s'agit de :

- "CIA₄" pour l'isolat "F.O.V. CI"
- "PA₁" pour l'isolat "F.O.V. P".
- "RCAA₆" pour l'isolat "F.O.V. RCA".

2.2.2- TECHNIQUES DE SEPARATION DES DIFFERENTS TYPES DE SPORES

Dans les études entreprises sur la dynamique de l'évolution des types morphologiques, FOLLIN et LAVILLE (1966) ont trouvé que le Fusarium oxysporum f. sp. cubense présentait une variabilité morphologique lorsqu'il était repiquée par macroconidies et surtout par chlamydospores ou boutures de mycélium âgé.

C'est pourquoi nous avons recherché chez nos isolats une éventuelle variation de la morphologie dans les descendants par microconidies, macroconidies et chlamydospores, ainsi qu'une éventuelle variation du pouvoir pathogène par des inoculations avec ces différents types de spores.

La technique de filtration a été utilisée pour séparer les microconidies des macroconidies. En se basant sur la taille de ces spores (microconidie 5-12 X 2,2 - 3,5 μ m ; macroconidie 27-60 X 3-5 μ m) (BOOTH, 1977), la suspension de microconidies et de macroconidies est passée successivement sur des filtres en verre fritté dont les pores ont un diamètre moyen de 41,17,11 et 8 μ m. C'est surtout au dernier passage sur le filtre de 8 μ m de diamètre de pore que la séparation se réalise ; les microconidies de petite taille, traversent facilement alors que les macroconidies restent bloquées au-dessus du filtre. Elles sont alors récupérées par lavage sous pression de la surface du filtre.

a- Obtention des microconidies

Des morceaux de gélose prélevés sur des cultures, sont déposés dans des tubes contenant 5 à 8 ml d'eau stérile. Après agitation, une suspension concentrée de conidies est obtenue et étalée sur du milieu gélosé. Après 3 à 4 jours de mise en culture à $25 \pm 1^\circ \text{C}$, on récupère une suspension de microconidies produites par de mycélium jeune, par simple lavage de la surface de la jeune culture avec de l'eau stérile.

Pour s'assurer que de la présence de microconidies, la suspension de microconidies est filtrée sur le filtre de $8\mu\text{m}$ de diamètre de pores pour arrêter d'éventuelles macroconidies.

b- Obtention de macroconidies

Avec nos isolats "F.O.V. CI" et "F.O.V. P" produisant des pionnotes, les macroconidies sont obtenues à partir des prélèvements de pionnotes qui sont introduits dans de l'eau stérile. Après agitation, on récupère quasiment une suspension de macroconidies.

Les observations microscopiques sont effectuées pour déceler une éventuelle présence de microconidies, ce qui entraînerait la filtration de la suspension.

Concernant l'isolat "F.O.V. R.C.A" qui ne produit pas de pionnotes, une suspension de conidies, obtenue après lavage de la surface d'une culture âgée d'environ 8 à 10 jours, est filtrée successivement sur les verres frittés de diamètres de pores de 41, 17, 11 et $8\mu\text{m}$. Les macroconidies sont récupérées après lavage sous une forte pression d'eau, de la surface des filtres de $11\mu\text{m}$ et de $8\mu\text{m}$ de diamètre de pores.

c- Obtention des chlamydospores

Des fragments de vieilles cultures (environ 2 mois) sont déposés dans les tubes contenant de l'eau stérile. Ces cultures ne présentent souvent que des chlamydospores. Les fragments de culture sont conservés environ 10 jours dans l'eau et les chlamydospores sont recueillis en suspension en agitant fortement les tubes.

Le passage des cultures déjà pleines de chlamydospores dans de l'eau, permet aux éventuelles microconidies et macroconidies encore présentes de se transformer également en chlamydospores comme l'ont indiqué **NELSON et al.**, (1983).

2.2.3- TECHNIQUES D'INOCULATION

Plusieurs méthodes d'inoculation des Cotonniers ont été décrites par différents auteurs :

- L'inoculation par piqûre des tiges et injection dans les tissus d'une suspension de spores (**BUGBEE et PRESLEY, 1967 ; BUGBEE et SAPPENFIELD, 1972 ; KAPPELMAN, 1975**).

- L'infestation du sol avant le semis des graines (**PERRY, 1962 ; RAO et RAO, 1966 ; MARAITE et MEYER, 1967**).

- L'inoculation par arrosage des racines avec ou sans blessure (**NEAL, 1939 cité par BUGBEE et PRESLEY, 1967 ; RISSER et al., 1969 ; ARMSTRONG et ARMSTRONG, 1978**).

- L'inoculation par trempage des racines (**WENSLEY et al., 1962 cités par BOUHOT et ROUXEL, 1970 ; WILES, 1963 ; WICKENS, 1964 ; MILLER et COOPER, 1967**).

- L'inoculation par trempage des graines prégermées (BISHOP et COOPER, 1983).

Trois de ces méthodes ont été testées et les résultats obtenus (Tableau 2) nous ont permis de choisir une technique appropriée à nos conditions et objectifs de travail.

a- Culture des Cotonniers

Les graines de Cotonnier préalablement stérilisées avec une solution d'hypochlorite de calcium à 5 % pendant 5 minutes, sont mises à germer à l'étuve à $25 \pm 1^{\circ}$ C pendant 48 heures. Ceci permet d'activer la germination des graines et de s'assurer de semer des graines vivantes. Au bout des 48 heures, ces graines prégermées sont semées dans des terrines remplies de terreau (1) et disposées dans des sous-terrines.

La culture est faite en chambre climatisée dans les conditions suivantes :

Température : 25 à 28° C

Humidité relative : 70 %

Photopériode : 12 heures de lumière, 12 heures d'obscurité

Eclairage artificiel de 4000 lux par 6 lampes (2) à décharge dans la vapeur de mercure haute pression, placées à une hauteur d'environ 60cm des plantes.

(1) Terreau de marque motex.

(2) Lampes phytoclaude de 400 W code 07016.

Les jeunes Cotonniers sont arrosés régulièrement et au bout d'une quinzaine de jours c'est-à-dire au stade d'apparition du premier bouquet de feuilles vraies, ils sont inoculés.

b- Préparation de l'inoculum

On introduit dans un tube contenant 5 ml d'eau stérile, un morceau d'implant prélevé sur les cultures. Après agitation du tube, les suspensions de la solution concentrée sont étalées sur de la gélose en boîte de pétri. La récolte des spores s'effectue par lavage de la surface de la culture au 3^{ième} jour afin d'éviter d'éventuelles variations morphologiques, phénomène bien connu chez le Verticillium dahliae (BOISSON et LAHLOU, 1984).

La concentration de la solution en spores est déterminée à l'aide de la cellule de MALASSEZ, puis ajustée à 10^6 spores/ml.

c- Inoculation par piqûre

Les jeunes Cotonniers sont inoculés avec la suspension de spores, 2 semaines après leur levée à l'aide d'une seringue de 1 ml. Deux piqûres sont réalisées dans la tige, opposées diamétralement, à 15 mm en-dessous du noeud cotylédonaire. Une seule goutte, obtenue par une légère pression à la pointe de l'aiguille, est utilisée pour chaque piqûre.

Les plantes témoins sont inoculées avec de l'eau stérile.

d- Inoculation par arrosage

A l'aide d'un scalpel tranchant, les racines des jeunes Cotonniers sont blessées dans le sol. Une quantité d'inoculum (2 ml) est versée autour du collet des plantes.

Les plantes témoins subissent le même traitement mais avec de l'eau stérile.

e- Inoculation par trempage des racines

Les jeunes plantes de Cotonnier arrachées délicatement des terrines puis leurs racines débarassées du terreau, sont trempées pendant 15 à 20 minutes dans la suspension de spores. Les plantes ainsi contaminées sont repiquées dans des pots remplis de terreau.

Les racines des plantes témoins sont trempées dans de l'eau stérile pendant le même temps.

f- Critères d'estimation du pouvoir pathogène

L'attaque des Cotonniers par le F.O.V se manifeste à travers les symptômes suivants :

- Le flétrissement de la plante, des feuilles, suivi d'une chlorose et une nécrose des feuilles.
- Le rabougrissement de la plante.
- Le brunissement des vaisseaux.

Ces différents symptômes sont donc estimés 14 jours après l'inoculation des jeunes Cotonniers, de même que la présence du champignon dans les plantes malades ou non.

D'où les estimations :

1. Indice de flétrissement

L'indice de flétrissement est calculé, comme l'a indiqué **FOLLIN** (1986), sur l'ensemble des Cotonniers inoculés en tenant compte de la gravité des symptômes sur chaque feuille.

Cet indice est calculé à l'aide de la formule :

$$W_I = \frac{30N_2 + 50N_3 + 100N_4}{N_1 + N_2 + N_3 + N_4}$$

avec N_1 : nombre de feuilles saines

N_2 : nombre de feuilles présentant des symptômes légers (moins du 1/3 de limbe atteint).

N_3 : nombre de feuilles présentant des symptômes graves (plus du 1/3 de limbe atteint).

N_4 : nombre de feuilles nécrosées ou mortes.

Le "Wiet du dice" est une valeur comprise entre 0 et 100. Il est très élevé et proche de 100 pour les isolats très agressifs ou quand la variété de Cotonnier est très sensible. Sur les variétés de Cotonnier résistantes ou avec des souches de Champignon peu pathogènes, il peut atteindre la valeur de zéro.

Un pourcentage de feuilles malades est également déterminé pour apprécier l'ampleur des symptômes foliaires sur les Cotonniers inoculés.

2- Indice de rabougrissement

L'indice de rabougrissement (IR) est calculé pour montrer d'éventuels déficits d'accroissement des Cotonniers infestés par rapport aux témoins non inoculés.

$$IR = \frac{M - X}{M} \times 100$$

M = accroissement moyen des témoins.

X = accroissement du premier entrenoeud des plantes inoculées.

3- Symptômes vasculaires

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

4- Réisolement

A la suite de la dissection, des fragments de tige, après stérilisation à l'hypochlorite de Calcium à 5 %, sont déposés sur milieu PDA afin de réisoler le Champignon et de confirmer ainsi la réussite de l'inoculation.

CHAPITRE III

RESULTATS

3.1 - Choix de la technique d'inoculation

Trois techniques d'inoculation artificielle (par piqûre de la tige, arrosage des racines, trempage des racines) ont été testées sur des jeunes Cotonniers de la variété STAM 84 âgés de 14 jours. Les indices de flétrissement et de rabougrissement ont été calculés ainsi que le pourcentage de plantes présentant de symptômes vasculaires. Il faut noter que l'indice de rabougrissement est calculé sur la base de l'accroissement du premier entrenoeud des plants inoculés par rapport à celui du témoin.

Les résultats obtenus 14 jours après l'inoculation sont reportés dans le tableau 2 et illustrés par la planche 3.

Tableau 2 : Comparaison des résultats de 3 types d'inoculation de Cotonniers avec les isolats "F.O.V.P", "F.O.V.C.I" et "F.O.V. RCA" du F.O.V.

Isolats du F.O.V	Méthodes d'inoculation	Inoculation par piqûre			Inoculation par arrosage			Inoculation par trempage des racines		
		W_I (1)	I.R (2)	S.V (3)	W_I	IR	S.V	W_I	IR	S.V
		F.O.V. P	3	10%	10%	0	10%	0	69	93%
F.O.V. CI	0	19%	0	0,9	9%	10%	93	98%	100%	
F.O.V. RCA	0	4%	0	0	5%	0	3	24,5%	10%	

(1) W_I = indice de flétrissement

(2) I.R = indice de rabougrissement

(3) S.V = pourcentage de plants présentant de symptômes vasculaires

A



B



C



PLANCHE 3 : Résultats des inoculations du Cotonnier STAM 84 par le F.O.V selon différentes techniques.

A - Inoculation par piqûre (à gauche), arrosage (à droite) et par trempage (au centre) avec l'isolat "**F.O.V. CI**".

La méthode d'inoculation par trempage est la seule qui conduise à la manifestation de symptômes de fusariose.

B - Inoculation par arrosage (à l'arrière) et par trempage (à l'avant avec l'isolat "**F.O.V. P**".

Seuls les plants inoculés par trempage manifestent des symptômes.

C - Inoculation par trempage (à gauche), arrosage (au centre) et par piqûre (à droite) avec l'isolat "**F.O.V. RCA**".

L'isolat "**F.O.V. RCA**" est très faiblement pathogène puisque même inoculés par trempage, les Cotonniers ne montrent que peu de symptômes.

Les résultats de nos observations montrent que l'inoculation par trempage a permis d'obtenir des symptômes foliaires et vasculaires remarquables, caractéristiques de l'attaque par les isolats "F.O.V.P" et "F.O.V. CI" du F.O.V. Il faut noter que les premiers flétrissements étaient apparus très tôt, 5 jours après l'inoculation par trempage des Cotonniers avec ces 2 isolats alors qu'aucun symptôme n'était apparu à travers les inoculations par piqûre et arrosage. Au 14^{ième} jour après les inoculations le flétrissement était généralisé et les symptômes foliaires devenus sévères avec des nécroses, sur les Cotonniers inoculés par trempage avec les isolats "F.O.V. P" et "F.O.V CI". Par contre à la même date les plants inoculés par piqûre ou par arrosage ne montraient pas de symptômes remarquables quel que soit l'isolat utilisé même après 5 semaines de culture.

Tous les plants inoculés par trempage avec les isolats pathogènes "F.O.V. P" et "F.O.V. CI" ont présenté de brunissements et de rabougrissements caractéristiques de l'attaque par le Champignon et ce dernier a été réisolé de tous les plants attaqués. Les résultats obtenus avec les inoculations par piqûre et par arrosage montrent que le Champignon n'arrive pas à pénétrer dans les plantes et par conséquent ne provoque pas de symptômes ou n'entraîne que de légers symptômes.

L'isolat "F.O.V. RCA" paraît pratiquement non pathogène avec les symptômes peu marqués qu'il a causés sur les Cotonniers inoculés par trempage.

La technique d'inoculation par trempage se révèle efficace. Les témoins se portent bien donc le Cotonnier dans ces conditions supportent bien le repiquage. L'inoculation par trempage nous paraît intéressante car elle permet de faire le tri entre des isolats pathogènes et non pathogènes. Elle sera donc retenue pour la suite de l'expérimentation.

3.2 - VARIABILITE MORPHOLOGIQUE

3.2.1 - Variabilité morphologique sur les milieux PDA, Malt et MM.

L'étude morphologique des 3 clones a été faite par bouturage dans les 3 milieux testés, à partir de cultures mères de clone âgées de 2 mois et de 4 mois.

Les résultats présentés dans les tableaux 3 et 4 et illustrés dans les planches 4,5 et 6 montrent le comportement des clones après 1 à 4 semaines de mise en culture.

Tableaux 3 : Comportement de 3 clones de F.O.V âgés de 2 mois, sur 3 milieux nutritifs.

a- Clone CIA₄

Caractéristiques de la culture	MILIEUX	PDA	MALT	MM
Aspect du mycélium aérien		duveteux	cotonneux	cotonneux
Couleur du mycélium aérien		rouge-blanchâtre	blanc-rose	blanc-rose
Pigmentation de la culture*		rouge	rose	rose
Marge de la culture		diffuse	diffuse	diffuse
Croissance des thalles		forte	forte	forte
Sporulation		m ⁽¹⁾ M ⁽²⁾ CH ⁽³⁾	m M CH	m M CH
Types d'organes fructifères	Sp ⁽⁴⁾ Pi ⁽⁵⁾ Sc ⁽⁶⁾	Sp Pi -	Sp Pi -	Sp Pi Sc

Les cultures sont âgées de 8 jours au moment des observations.

* Pigmentation définitive de la culture après 2 semaines.

(1) m = microconidies

(2) M = Macroconidies

(3) CH = Chlamydozoospores

(4) Sp = Sporodochies

(5) Pi = Pionnotes

(6) Sc = Sclérotos

- = Absence

b- Clone PA₁

Caractéristiques de la culture	Milieux			FDA	MALT	MM
	Sp	Pi	Sc			
Aspect du mycélium aérien				dùveteux	cotonneux	cotonneux
Couleur du mycélium aérien				blanchâtre	blanc-rose	blanc ou reflet rose
Marge de la culture				diffuse	diffuse	diffuse
Croissance des thalles				forte	forte	forte
Sporulation				m M CH	m M CH	m M CH
Types d'organes fructifères	Sp	Pi	Sc	Sp - -	Sp - -	Sp Pi Sc

* Pigmentation définitive de la culture après 2 semaines. Les cultures sont âgées de 8 jours au moment des observations.

c- Clone RCAA₆

Caractéristiques de la culture	MILIEUX			FDA	MALT	MM
	Sp	Pi	Sc			
Aspect du mycélium aérien				ras	Cotonneux	Cotonneux
Couleur du mycélium aérien				rouge	rouge et blanc	rouge et violette
Pigmentation de la culture				rouge	rouge	-
Marge de la culture				diffuse	diffuse	diffuse
Croissance des thalles				moyenne	moyenne	moyenne
Sporulation				m H CH	m M CH	m M CH
Types d'organes fructifères	Sp	Pi	Sc	Sp - -	Sp - -	Sp - -

* Pigmentation définitive de la culture après 2 semaines.

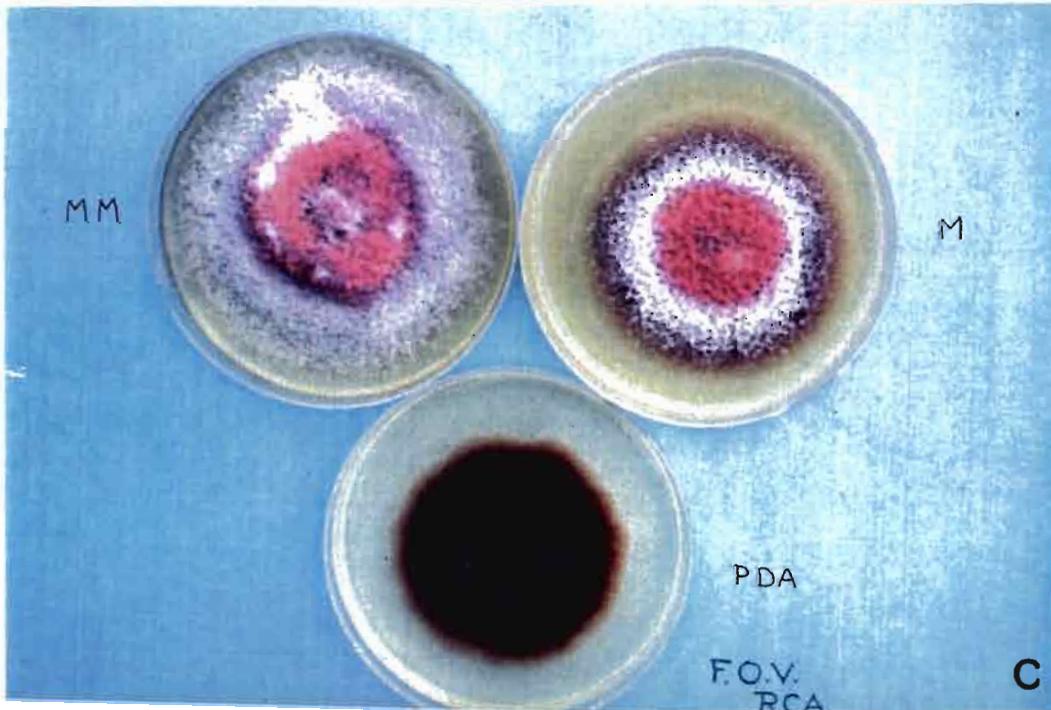
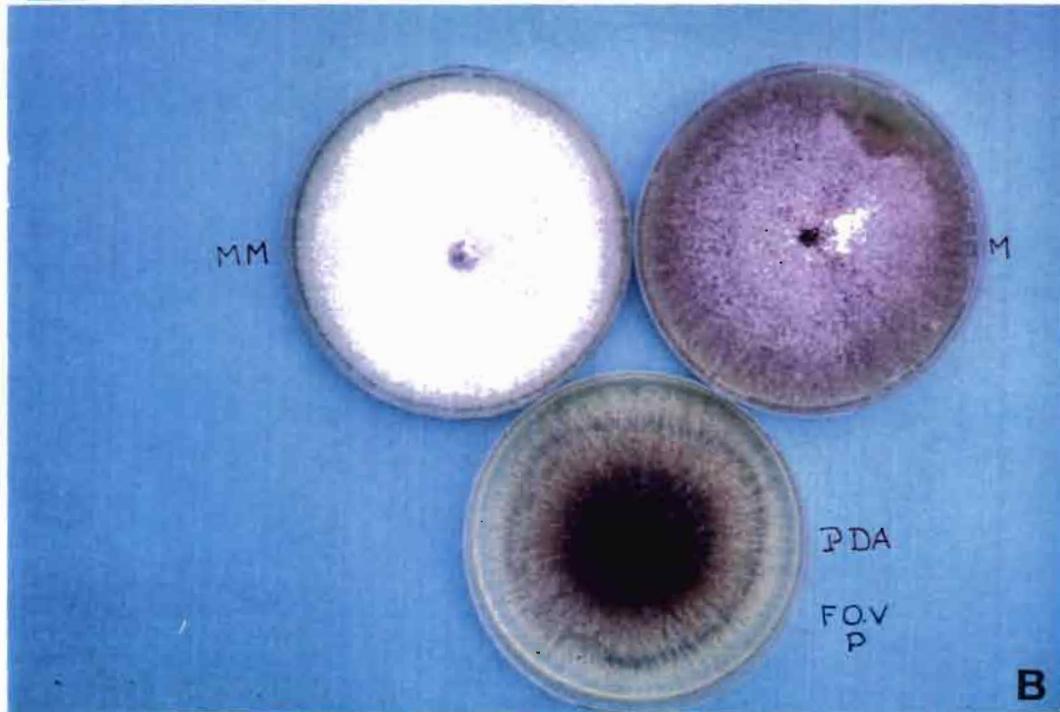
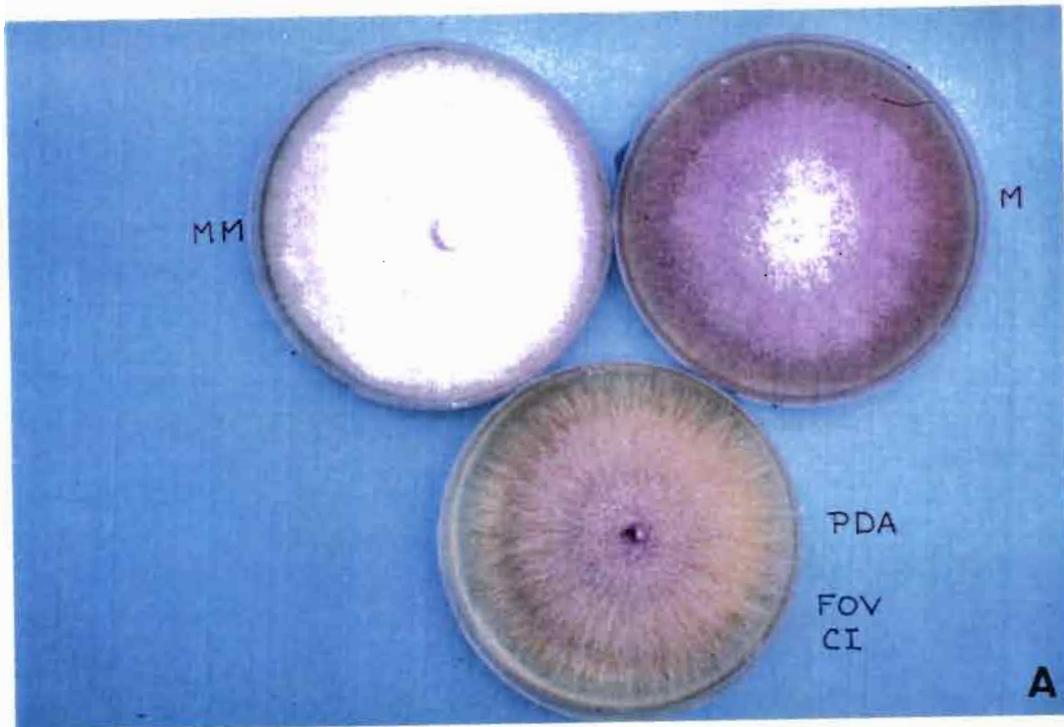


PLANCHE 4 : Aspect morphologique des isolats "F.O.V. CI", "F.O.V. P" et "F.O.V. RCA" âgés de 2 mois, sur les milieux PDA, Malt et MM.

A - Isolat "F.O.V. CI"

B - Isolat "F.O.V. P"

C - Isolat "F.O.V. RCA"

A, B, C : les cultures sont âgées de 8 jours.

Les résultats des tableaux précédents montrent que l'aspect du mycélium aérien, la couleur et la croissance des thalles, la pigmentation de la culture des clones étudiés varient suivant le milieu de culture utilisé.

Sur milieu PDA, le mycélium aérien est peu abondant ou absent et d'aspect duveteux alors qu'il est assez épais sur les milieux Malt et MM et d'aspect cotonneux. La coloration de la culture est toujours rose à rouge ou brune plus ou moins prononcé, le mycélium aérien blanc rosé à rouge ou violet pouvant masquer plus ou moins fortement suivant son abondance cette coloration.

Aucune variation n'a été constatée dans la sporulation. Quel que soit le milieu de culture, tous les clones ont produit des microconidies, des macroconidies et des chlamydozores.

Concernant les types d'organes fructifères, des variations liées aux milieux de culture ont été observées. Ainsi :

- Le clone "CIA₄" différencié des pionnotes (Planche 5A), sur les 3 milieux et ne donne des sclérotés que sur milieu MM.
- Le clone "PA₁" produit des pionnotes sur milieu MM (Planche 5B) mais ne donne ni pionnotes ni sclérotés sur les milieux PDA et Malt.
- Le clone "RCAA₆", quel que soit le milieu de culture utilisé ne donne ni pionnotes, ni sclérotés (Planche 5C).

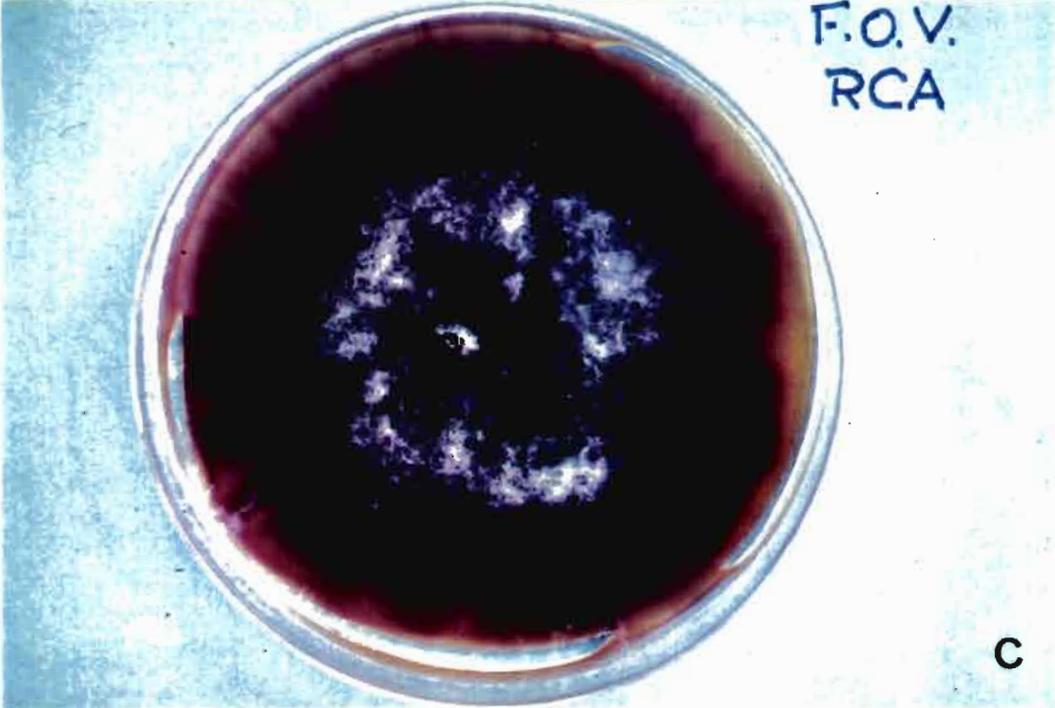
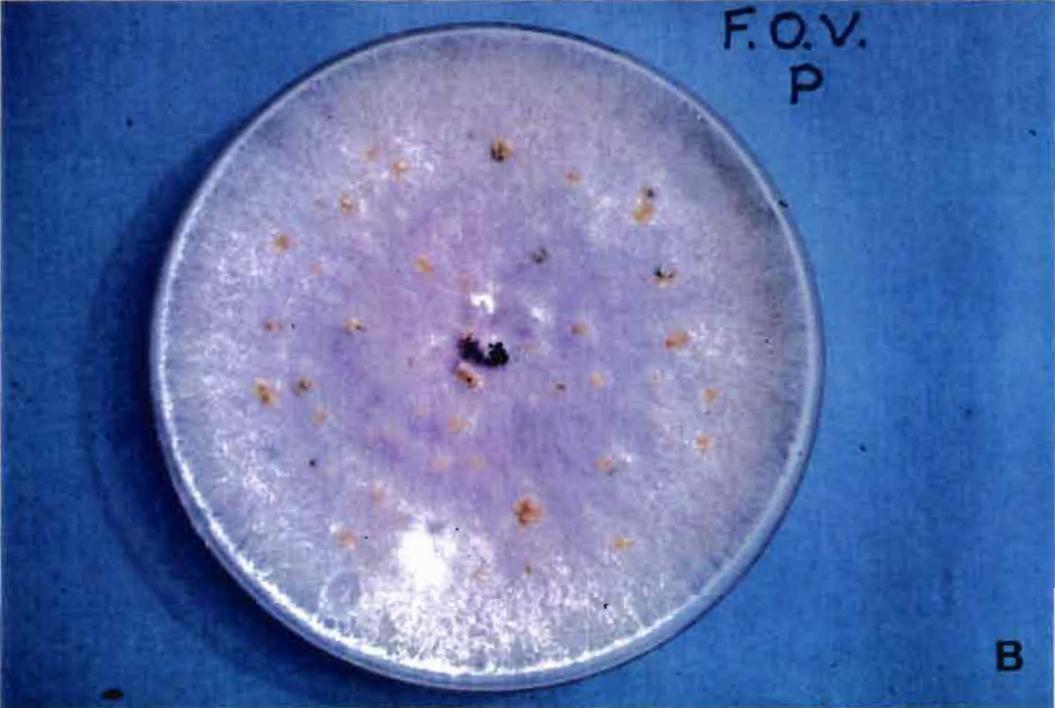


PLANCHE 5

A - Pionnotes sur une culture de l'isolat "F.O.V. CI" sur milieu PDA. Pigmentation de la culture.

B - Pionnotes sur une culture de l'isolat "F.O.V. P" sur milieu MM.

C - Culture de l'isolat "F.O.V. RCA" sur milieu PDA.

Les cultures sont âgées de 4 semaines.

Tableau 4 : Comportement de 3 clones de F.O.V âgés de 4 mois sur 3 milieux nutritifs.

a- Clone CIA₄

Caractéristiques de la culture	MILIEUX			PDA			MALT			MM		
	Sp	Pi	Sc	Sp	M	CH	Sp	M	CH	Sp	M	CH
Aspect du mycélium aérien				cotonneux			cotonneux			cotonneux		
Couleur du mycélium aérien				blanche			blanche			violette		
Pigmentation de la culture				brune			brune			-		
Marge de la culture				diffuse			diffuse			diffuse		
Croissance des thalles				forte			forte			forte		
Sporulation				m	M	CH	m	M	CH	m	M	CH
Types d'organes fructifères	Sp	Pi	Sc	Sp	-	-	Sp	-	-	Sp	-	-

Les cultures sont âgées de 2 semaines au moment des observations.

b - Clone PA₁

Caractéristiques de la culture	MILIEUX			PDA			Malt			MM		
	Sp	Pi	Sc	Sp	M	CH	Sp	M	CH	Sp	M	CH
Aspect du mycélium aérien				duveteux			cotonneux			cotonneux		
Couleur du mycélium aérien				blanche			brune			blanche		
Pigmentation de la culture				brune			rouge			-		
Marge de la culture				diffuse			diffuse			diffuse		
Croissance des thalles				forte			forte			forte		
Sporulation				m	M	CH	m	M	CH	m	M	CH
Types d'organes fructifères	Sp	Pi	Sc	Sp	-	-	Sp	-	-	Sp	-	-

Observations faites sur les cultures âgées de 2 semaines.

c - Clone RCA A₆

Caractéristiques de la culture	MILIEUX								
	PDA			MALT			MM		
Aspect du mycélium	ras			cotonneux			ras, cotonneux au centre		
Couleur du mycélium aérien	rouge			rouge			blanche		
Pigmentation de la culture	rouge			rouge			-		
Marge de la culture	diffuse			diffuse			diffuse		
Croissance des thalles	moyenne			moyenne			moyenne		
Sporulation	m	M	CH	m	M	CH	m	M	CH
Types d'organes fructifères	Sp	Pi	Sc	Sp	-	-	Sp	-	-

Les cultures sont âgées de 2 semaines au moment des observations.

Les résultats du Tableau 4, indiquent des variations dans l'aspect et la couleur du mycélium aérien.

Ces résultats montrent les variations morphologiques des boutures de clones âgés de 4 mois suivant les milieux de culture. Tous les clones ont produit les 3 types de spores (microconidies, macroconidies, chlamydo-spores).

- Le clone RCA A₆ ne donne ni sclérotés, ni pionnotes peut être parce qu'il provient d'un isolat ancien (isolat conservé très longtemps en culture et ayant subi de nombreux repiquages).

- Les cultures filles issues de bouturage des clones CIA₄ et PA₁ âgés de 4 mois ne donnent plus ni sclérotés, ni pionnotes.

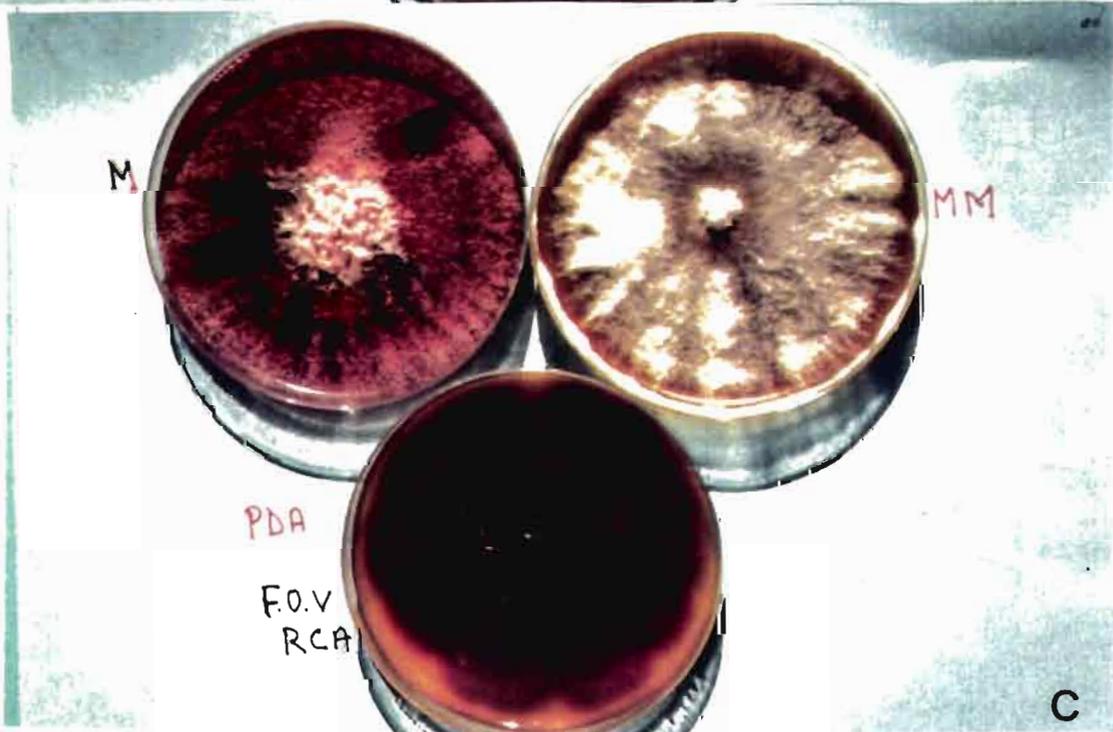
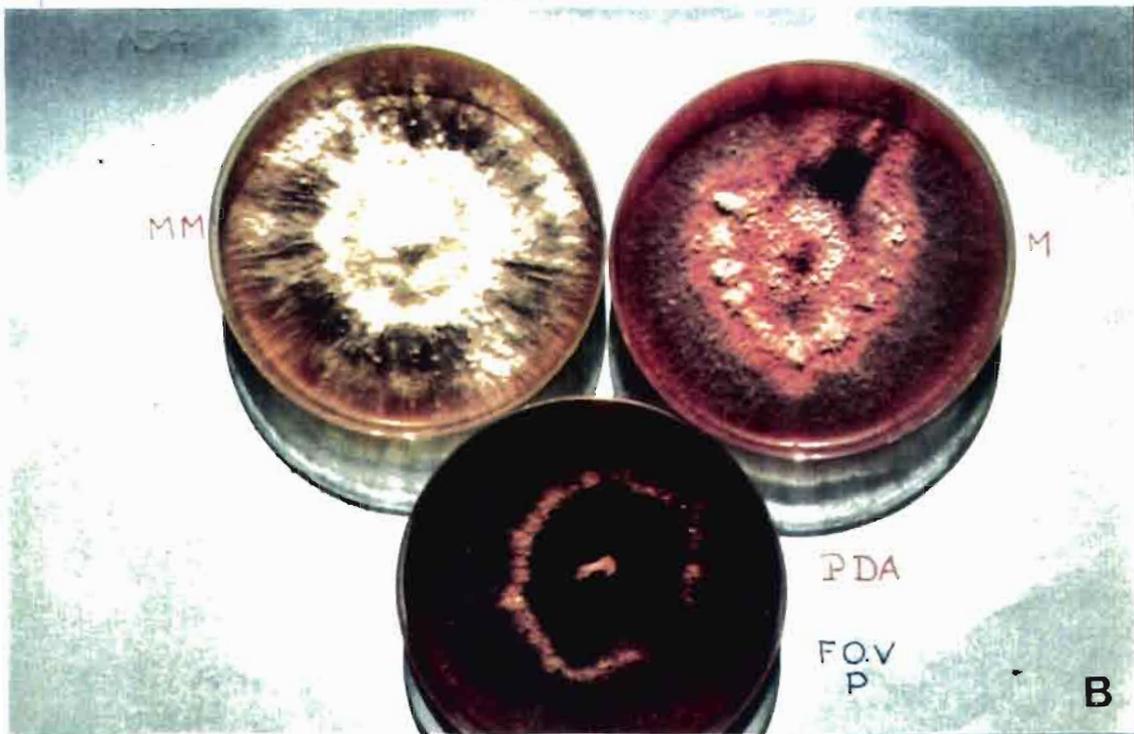


PLANCHE 6 : Aspect morphologique des isolats "F.O.V. CI" "F.O.V. P"
et "F.O.V. RCA" âgés de 4 mois sur les milieux PDA Malt
et MM.

A - Isolat "F.O. V. CI".

B - Isolat "F.O.V. P".

C - Isolat "F.O.V. RCA".

On peut déduire de ces observations que les isolats perdent leur aptitude à différencier les organes fructifères au fur et à mesure qu'ils vieillissent.

3.2.2 - Variabilité morphologique dans la descendance par microconidies des isolats du F.O.V

a) Clones âgés de 2 mois

Des isolements monospores (100 au minimum) ont été effectués à partir des clones "PA₁", "CIA₄", "RCAA₆" âgés de 2 mois afin d'étudier la variabilité morphologique dans la descendance par microconidies.

A l'issue de 1 à 4 semaines de mise en culture sur milieu PDA, à l'obscurité à $25 \pm 1^\circ$ C, aucune variation morphologique n'a été décelée au sein des descendants par microconidies. Les cultures d'origine monospore de chaque type d'isolat sont toutes identiques et semblables à leurs cultures mères d'origine sur milieu PDA.

b) Clones âgés de 4 mois

Les clones "CIA₄", "PA₁" et "RCAA₆" ont été conservés à l'étuve à une température de $25 \pm 1^\circ$ C. Agés de 4 mois, leur descendance a été étudiée en réalisant pour chacun d'eux, 100 isolements à partir de microconidies isolées.

Des variations dans la pigmentation des cultures et dans l'aspect du mycélium ont été constatées chez les clones étudiés (Tableau 5 ; Planche 7). Ainsi on a obtenu chez les clones :

- "PA₁₄" (1)

- * 96 % des sous clones présentent une pigmentation rouge ou rose avec le mycélium aérien duveteux ressemblant ainsi à la culture mère.
- * 4 % des sous clones sont pigmentés en rouge, n'ont pas de mycélium aérien et doivent être considérés comme des variants morphologiques (Planche 7A).

- "CIA₄₄" (2)

- * 15 % des sous clones qui ont une pigmentation rouge et un abondant mycélium aérien duveteux sont de phénotype sauvage.
- * 5 % des sous clones sont hyalins avec un mycélium aérien blanc duveteux (Planche 7B).
- * 80 % des sous clones présentent une pigmentation rougeâtre avec un mycélium aérien abondant cotonneux, ce qui est considéré comme une variation chez le clone "CIA₄".

Il faut signaler que les 2 types de variants morphologiques du clone "CIA₄₄" se caractérisent également par l'abondance des microconidies ; les macroconidies étant rares.

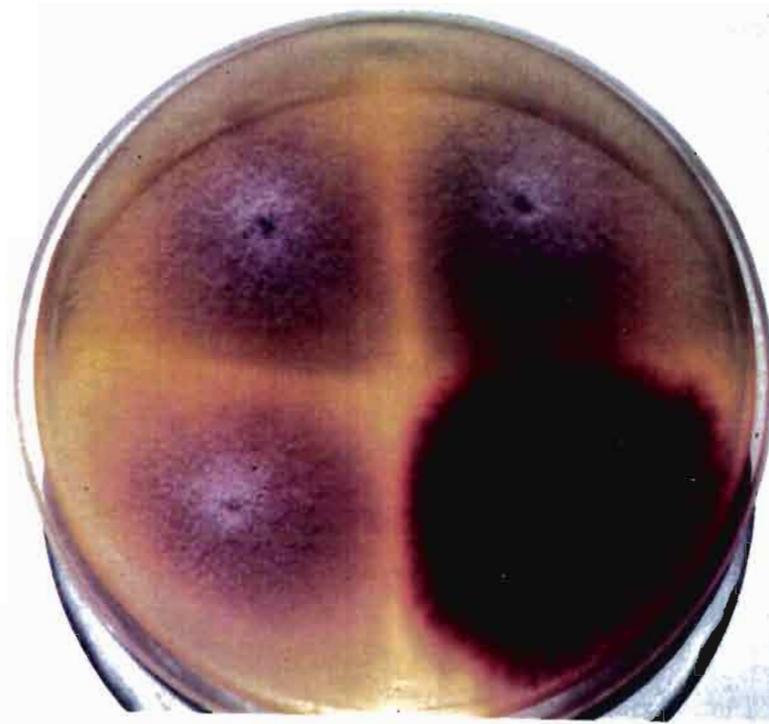
- "RCAA₆₄" (3)

- * 96 % des sous clones ont une pigmentation rouge avec un mycélium aérien cotonneux localisé au centre de la culture et ras dans la marge de croissance.
- * 4 % des sous clones présentent une pigmentation rouge mais avec un mycélium complètement ras. Toutes ces cultures peuvent être considérées de phénotype sauvage.

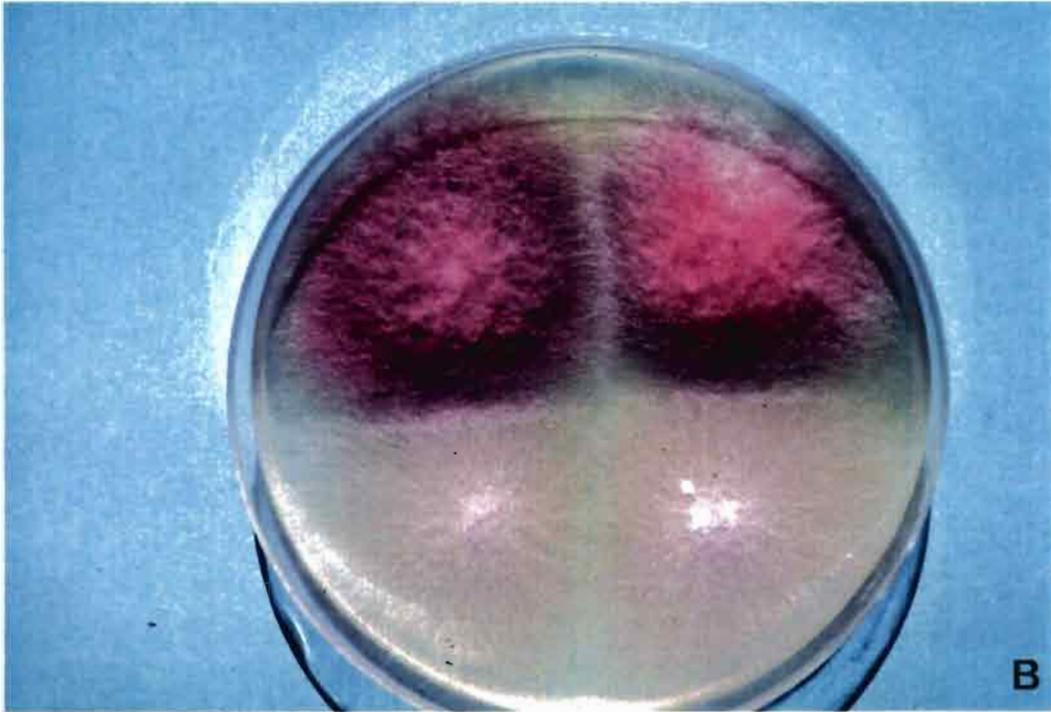
(1) PA₁₄ = clone PA₁ âgé de 4 mois.

(2) CIA₄₄ = clone CIA₄ âgé de 4 mois.

(3) RCAA₆₄ = clone RCAA₆ âgé de 4 mois.



A



B



C

PLANCHE 7 : Variabilité morphologique dans la descendance par microconidies des clones PA_1 , CIA_4 et $RCAA_6$ de F.O.V. âgés de 4 mois.

A - Thalles d'origine monospore obtenus à partir d'une culture du clone PA_1 âgé de 4 mois.
3 thalles sont d'aspect sauvage et un thalle (coloration rouge foncé et absence de mycélium aérien) est un variant morphologique.

B - Thalles d'origine monospore obtenus à partir d'une culture du clone CIA_4 âgé de 4 mois.
2 thalles sont d'aspect sauvage (mycélium aérien rouge).
2 thalles sont des variants morphologiques (mycélium blanc).

C - Thalles d'origine monospore obtenus à partir d'une culture du clone $RCA A_6$ âgé de 4 mois.
Les quatre thalles monospores ont conservé l'aspect du clone d'origine.

* Les cultures (A, B, C) sont âgées de 2 semaines sur milieu PDA.

- Aucune variation morphologique n'est apparue dans la descendance des cultures âgées de 2 mois.

- Les variations morphologiques sont apparues dans la descendance des cultures âgées de 4 mois (sauf dans le clone **RCAA₆₄**). Ces variations portent sur la pigmentation et sur la nature et l'abondance du mycélium aérien. Elles peuvent parfois être abondantes (de 4 % pour "**PA₁₄**" à 85 % pour "**CIA₄₄**").

L'âge de la culture où sont isolées les microconidies a donc une influence sur la variation morphologique des descendants.

- Les variations sont apparues dans la sporulation où les variants observés produisent beaucoup plus de microconidies que de macroconidies ; ces dernières sont même très rares.

3.2.3 - Variabilité morphologique dans la descendance par microconidies, macroconidies et chlamydozspores du F.O.V.

Des isolements monospores (100 au minimum) ont été effectués à partir des différents types de spores (microconidies, macroconidies et chlamydozspores) de cultures âgées de 2 mois pour rechercher d'éventuelles variations morphologiques à partir de chaque type de spore.

a - Microconidies et Chlamydozspores

L'observation de nos isolements monospores réalisés à partir des clones "**PA₁**", "**CIA₄**" et "**RCAA₆**" ne révèle aucune variation morphologique par rapport aux cultures d'origine (aspect du mycélium aérien, pigmentation, croissance des thalles) parmi les descendants monospores par microconidies et par chlamydozspores.

b - Macroconidies

- Le clone "CIA₄"

Les macroconidies du clone "CIA₄" ont été obtenues à partir des pionnotes. Des variations dans la croissance des thalles et la pigmentation ont été notées. Les isolements monospores effectués à partir de ces macroconidies ont donné :

- * 70 % des cultures pionnotales, sans mycélium aérien avec une pigmentation violette. Les cultures se présentent sous forme de touffes pionnotales (Planche 8).
- * 30 % des cultures avec mycélium aérien duveteux, ont une pigmentation brune, ressemblant ainsi à la culture mère (Planche 5A).

Ce qui paraît intéressant à noter, c'est que les cultures pionnotales, en repiquage, en étalement de suspension ou en isolement monospore, ne redonnaient rapidement en 3 jours que des pionnotes.

- Les clones "PA₁" et "RCAA₆".

Aucune variation morphologique n'a été constatée dans les descendants par macroconidies de chacun des clones "PA₁" et "RCAA₆" du F.O.V.

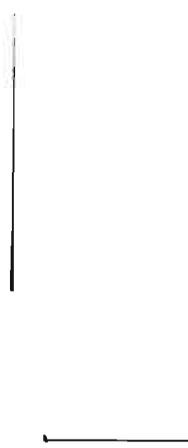
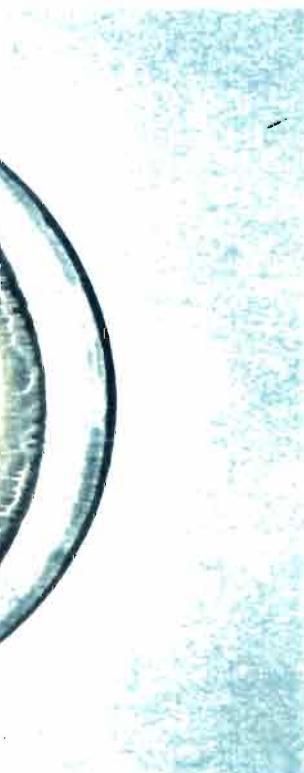


Planche 8 : Touffes pionnotales de l'isolat "F.O.V. CI" sur milieu PDA.

3.3 - VARIABILITE DU POUVOIR PATHOGENE

3.3.1 - Etude du pouvoir pathogène des descendants par microconidies de 2 isolats de F.O.V.

Il s'agit de rechercher la variabilité du pouvoir pathogène au niveau des clones et des sous clones.

a) Les clones

Cinq clones de chacun des isolats "F.O.V. P" et "F.O.V. CI" sont inoculés sur de jeunes Cotonniers. L'isolat "F.O.V. RCA" n'a pas été utilisé parce qu'il avait précédemment fait l'objet de la même étude (SOUOP, 1986).

Les résultats obtenus 14 jours après l'inoculation sont présentés dans les tableaux 5 et 6 et illustrés dans la figure 2.

Tableau 5 : Pouvoir pathogène de cinq clones de l'isolat "F.O.V. P" de F.O.V sur Cotonnier STAM 84.

Caractéristiques des clones	Nombre de plants inoculés	% de feuilles atteintes	Indice de Wilt WI
PA ₁₂	10	100	98
PA ₂₂	10	88	87
PA ₃₂	10	100	89
PA ₄₂	10	92	85.7
PA ₅₂	10	88	85

Ex : PA₁₂ = clone PA₁ âgé de 2 mois.

Tableau 6 : Pouvoir pathogène de cinq clones de l'isolat "F.O.V. CI"
du F.O.V sur Cotonnier STAM 84

Caractéristiques des clones	Nombre de plants plants inoculés	% de feuilles atteintes	Indice de Wilt WI
CIA ₁₂	10	100	100
CIA ₂₂	10	100	100
CIA ₃₂	10	98	96.8
CIA ₅₂	10	85	71
CIA ₆₂	10	100	98.7

EX : CIA₂₂ = clone CIA₂ âgé de 2 mois.

L'analyse statistique des résultats (test student) nous permet le classement suivant des clones en fonction de leur pathogénéicité.

Pour l'isolat "F.O.V. P" on a :

PA ₁₂	PA ₃₂	PA ₂₂	PA ₄₂	PA ₅₂
_____		_____		

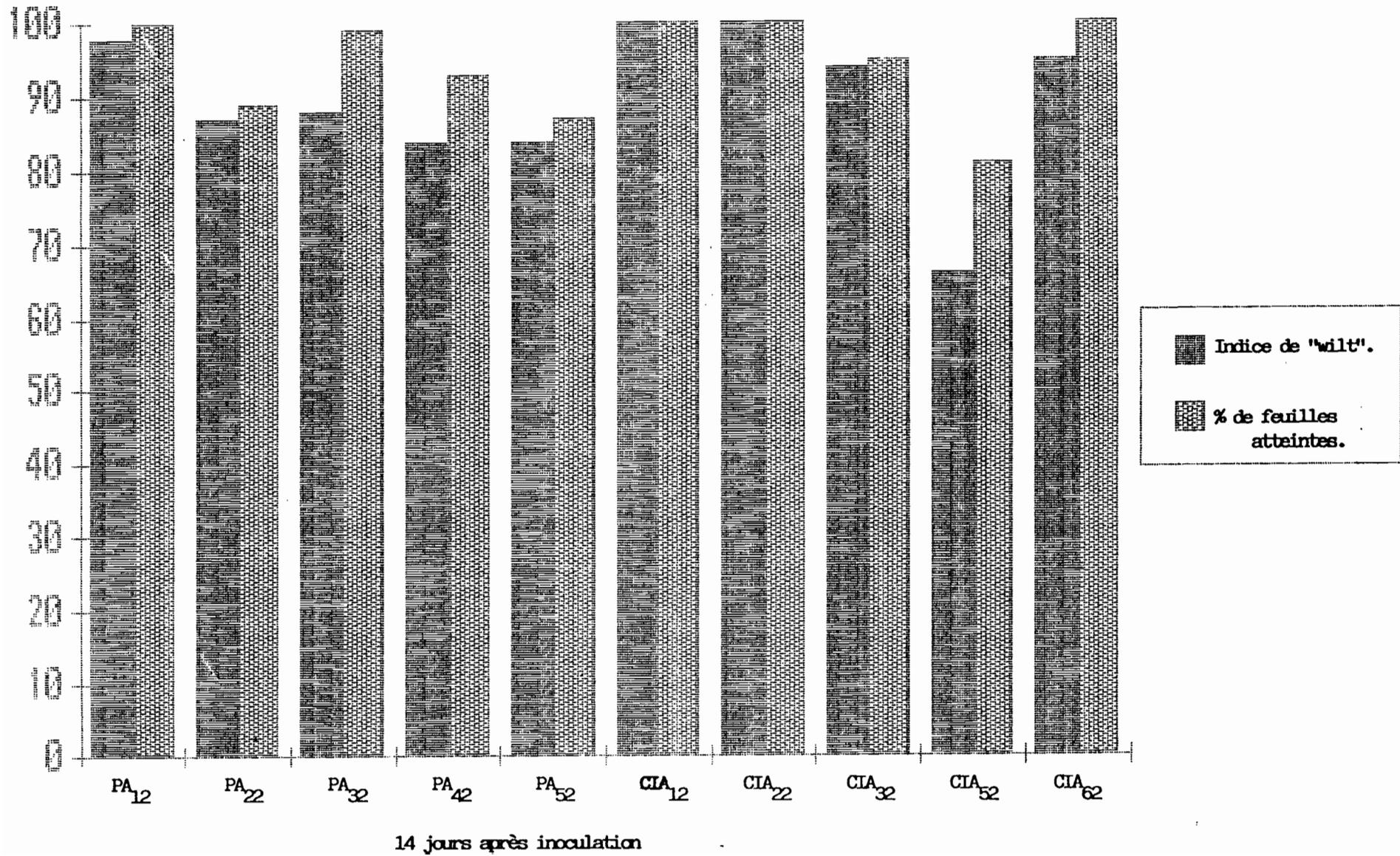
Pour l'isolat "F.O.V. CI" on a :

CIA ₁₂	CIA ₂₂	CIA ₆₂	CIA ₃₂	CIA ₅₂
_____			_____	

(Les clones reliés par le même trait ne sont pas statistiquement différents du point de vue de leur pathogénéicité).

Si nous considérons l'hypothèse adoptée par **ARMSTRONG** et **ARMSTRONG**, (1980) selon laquelle, les clones induisant un indice de "wilt" supérieur à 50 sur les variétés sensibles de Cotonnier sont très pathogènes, nous pouvons déduire des résultats précédents que tous les clones des isolats

Figure 2 : Pouvoir pathogène de 10 clones des isolats "F.O.V. P" et "F.O.V. CI".



"F.O.V. P" et "F.O.V. CI" sont très pathogènes.

Les clones PA₁₂ et PA₃₂ paraissent plus pathogènes que les autres clones de l'isolat "F.O.V. P".

Quant à l'isolat "F.O.V. CI", le clone CIA₅₂ paraît pathogène mais à un degré moindre que les 4 autres clones avec un indice de "wilt" de 71.

Il apparaît donc une faible variabilité dans le pouvoir pathogène des clones de l'isolat "F.O.V. CI".

Tous les clones des deux isolats ont provoqué un mauvais développement de l'épicotyle des jeunes plants entraînant des rabougrissements de 100 % et le Champignon a été toujours réisolé à tous les niveaux des plants attaqués (collet, hypocotyle, pétiole des feuilles, épicotyle).

b- Les sous clones

Dix sous clones de chacun des isolats "F.O.V. P" et "F.O.V. CI" âgés de 4 mois ont été inoculés sur de jeunes Cotonniers afin d'étudier la variabilité du pouvoir pathogène à l'intérieur du clone.

Des résultats, obtenus 14 jours après l'inoculation, sont présentés dans les tableaux 7 et 8.

Tableau 7 : Pouvoir pathogène de 10 sous clones de l'isolat "F.O.V.
P" du Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum

Caractéristiques des sous clones	Nombre de plants inoculés	% de feuilles atteintes	Indice de "wilt" WI
PA ₁₁₄	10	76	76
PA ₁₂₄	10	100	97
PA ₁₃₄	10	100	95
PA ₁₄₄	10	100	87
PA ₁₅₄	10	100	96
PA ₁₆₄	10	95	95
PA ₁₇₄	10	100	100
PA ₁₈₄	10	79	79
PA ₁₉₄	10	100	96
PA ₁₁₀₄	10	83	79

Ex : PA₁₅₄ = sous clone n°5 du clone PA₁ âgé de 4 mois.

Tableau 8 : Pouvoir pathogène de 10 sous clones de l'isolat "F.O.V. CI" du *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

Caractéristiques des sous clones	Nombre de plants inoculés	% de feuilles atteintes	Indice de "wilt" WI
CIA ₄₁₄	10	100	100
CIA ₄₂₄	10	100	96
CIA ₄₃₄	10	100	100
CIA ₄₄₄	10	100	98
CIA ₄₅₄	10	84	84
CIA ₄₆₄	10	100	90
CIA ₄₇₄	10	100	100
CIA ₄₈₄	10	100	91
CIA ₄₉₄	10	99	95
CIA ₄₁₀₄	10	98	100

Ex : CIA₄₃₄ = sous clone n°3 du clone CIA₄ âgé de 4 mois.

Il ressort des résultats des tableaux 7 et 8 qu'aucune variabilité n'apparaît dans le pouvoir pathogène des sous clones de chaque isolat. Ils sont tous très pathogènes avec des indices de "wilt" variant de 76 à 100 pour l'isolat "F.O.V. P" et de 84 à 100 pour l'isolat "F.O.V. CI". Ils ont tous provoqué le mauvais développement de l'épicotyle des plantes entraînant des indices de rabougrissement de l'ordre de 100 %. Le Champignon a été réisolé de tous les plants attaqués.

332 - Variabilité du pouvoir pathogène de différents types de spores de 3 isolats du F.O.V.

Différentes spores (microconidies, macroconidies, chlamydo-spores) provenant des clones âgés de 2 mois des isolats "F.O.V. P", "F.O.V. CI" et "F.O.V. RCA" ont été inoculées sur de jeunes Cotonniers de la variété ROWDEN afin de rechercher des variations dans le pouvoir pathogène de ces spores.

Les résultats obtenus 14 jours après l'inoculation sont présentés dans les tableaux 9,10,11 et l'évolution de l'attaque illustrée dans la figure 3.

Tableau 9 : Pouvoir pathogène de 3 types de spores du clone "PA₁" l'isolat "F.O.V. P".

Types de spores	Nombre de plants inoculés	% de feuilles atteintes	Indice de "wilt" WI
Microconidies	10	100	100
Macroconidies	10	94	70.8
Chlamydo-spores	10	96.6	69

L'analyse statistique des résultats (test de student) permet de classer les différents types de spores suivant leur degré de pathogénéicité.

Au 10^{ième} jour après l'inoculation (figure 3) on a :

m⁽¹⁾ M⁽²⁾ CH⁽³⁾

(1) microconidie

(2) macroconidie

(3) chlamydo-spore

Au 14^{ième} jour après l'inoculation on a :

m	M	CH
_____	_____	_____

(Les spores reliées par le même trait ne sont pas statistiquement différentes).

Il apparaît une différence dans le pouvoir pathogène des spores qui sont pourtant toutes pathogènes. On note un retard important dans l'attaque des Cotonniers au 10^{ième} jour après l'inoculation pour les inoculations par chlamydo-spores et par macroconidies de l'isolat "F.O.V. P". Alors qu'à la même date les microconidies affichent déjà un fort pouvoir pathogène (Figure 3).

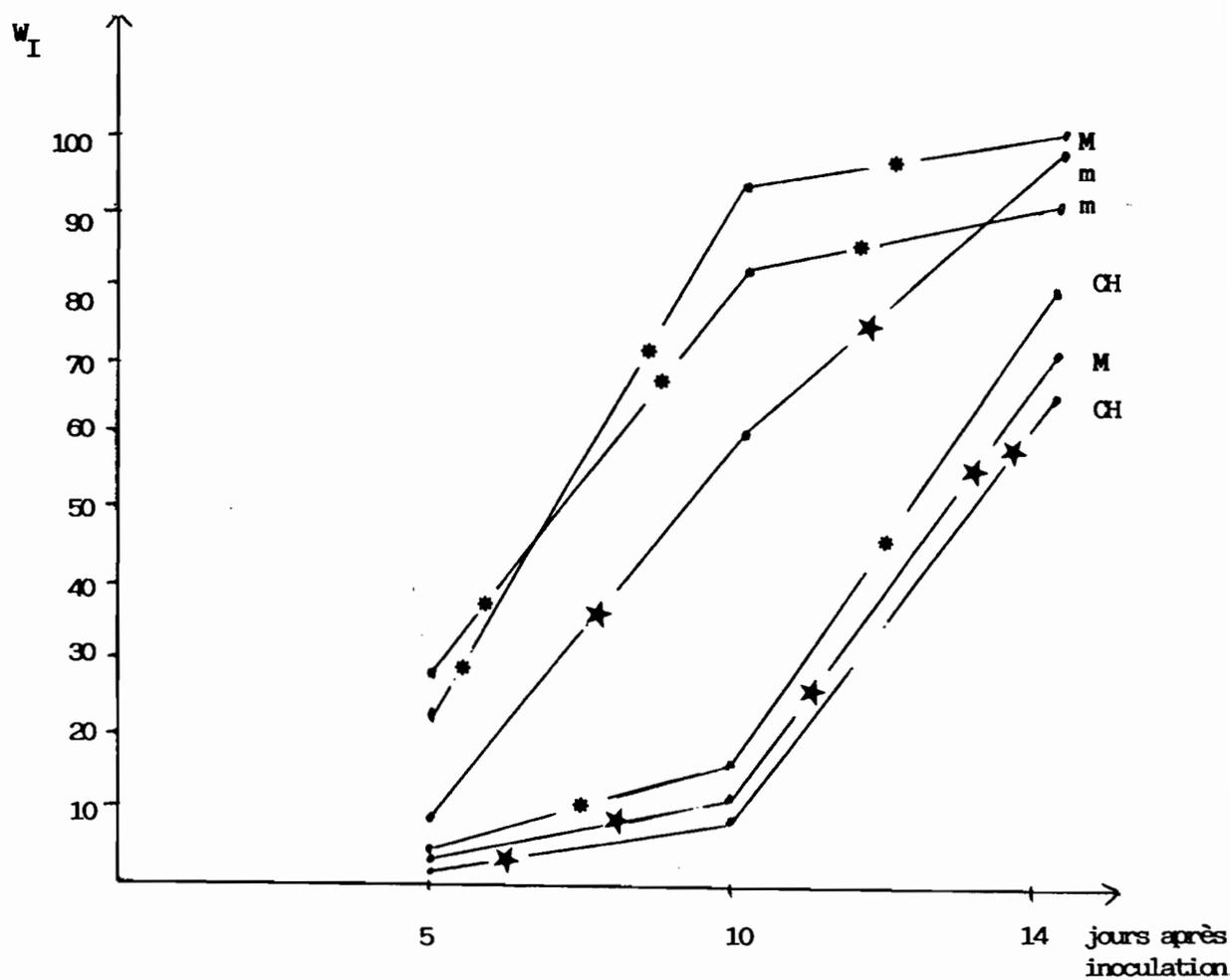
Au 14^{ième} jour après l'inoculation, les microconidies se distinguent toujours des macroconidies et des chlamydo-spores par le très fort pouvoir pathogène (Figure 3).

Tableau 10 : Pouvoir pathogène de 3 types de spores du clone "CIA₄" de l'isolat "F.O.V. CI".

Types de spores spores	Nombre de plants inoculés	% de feuilles atteintes	Indice de "wilt" WI*
Microconidies	10	100	92
Macroconidies	10	100	100
Chlamydo-spores	10	100	81.2

* Résultats collectés 14 jours après l'inoculation.

L'analyse statistique des résultats (test de Student) permet de classer les différentes spores du clone "CIA₄" suivant leur degré de pathogénéicité.



— ★ — Isolat F.O.V. P.

— * — Isolat F.O.V. CI.

m = microconidies

M = macroconidies

CH = chlamydoconidies

FIGURE 3 : Evolution de l'attaque des Cotonniers par les 3 types de spores des isolats "F.O.V. P", "F.O.V. CI" et "F.O.V. RCA".

Il ressort des résultats de ce tableau, qu'aucun type de spores de l'isolat "F.O.V. RCA" n'induit de symptômes sur les Cotonniers et par conséquent la non pathogénéicité de cet isolat vis-vis-vis du Cotonnier. De plus, le Champignon n'a jamais pu être réisolé des jeunes Cotonniers, ce qui montre qu'il ne pénètre même pas dans la plante.

3.3.3. Pouvoir pathogène des isolats d'origine "F.O.V. P", "F.O.V. CI", "F.O.V. RCA" sur les variétés McNair 511, T120-79 et Rowden.

Les isolats d'origine "F.O.V. P", "F.O.V. CI" et "F.O.V. RCA" âgés de 5 mois ont été inoculés sur les Cotonniers des variétés McNair 511, T120-79 et Rowden.

Les résultats, obtenus 14 jours après l'inoculation sont présentés dans les tableaux 12, 13, 14 et l'évolution de l'attaque illustrée dans la figure 4.

Tableau 12 : Pouvoir pathogène des isolats d'origine "F.O.V. P" "F.O.V. CI" et "F.O.V. RCA" sur la variété McNair 511.

Caractéristiques des isolats	Nombre de plants inoculés	% de feuilles atteintes	Indice de "wilt" WI
P ₀₅	10	50	30
CI ₀₅	10	93	80.3
RCA ₀₅	10	0	0

Ex : CI₀₅ = isolat "F.O.V. CI" d'origine âgé de 5 mois

Les résultats du tableau 12 montrent que l'isolat d'origine "F.O.V. CI" est très pathogène vis-à-vis de la variété McNair 511 reconnue pourtant résistante à la fusariose. Au 10^{ième} jour après l'inoculation cet isolat s'était montré très peu pathogène mais l'attaque était devenue très sévère au-delà de cette date (Figure 4).

L'isolat d'origine "F.O.V. P" est peu pathogène sur cette variété McNair 511.

L'isolat d'origine "F.O.V. RCA" n'est pas du tout pathogène sur la variété McNair 511.

Tableau 13 : Pouvoir pathogène des isolats d'origine "F.O.V. P", "F.O.V. CI" et "F.O.V. RCA" sur la variété T120-79.

Caractéristiques des isolats	Nombre de plants inoculés	% de feuilles atteintes	Indice de "wilt" * WI
P ₀₅	10	100	96.6
CI ₀₅	10	100	100
RCA ₀₅	10	9	6

* Résultats obtenus 14 jours après l'inoculation.

Il ressort des résultats de ce tableau que les isolats d'origine "F.O.V. P" et "F.O.V. CI" sont très pathogènes sur la variété T120-79. L'isolat "F.O.V. RCA" apparaît très peu pathogène et cause de légers symptômes foliaires sur les Cotonniers. Ce phénomène montre la reprise du pouvoir pathogène par cet isolat âgé de 5 mois. Les observations faites au-delà du 14^{ième} jour après l'inoculation révèlent une augmentation des symptômes avec un indice de "wilt" atteignant 60. Le champignon a été réisolé de tous les plants attaqués qui présentaient d'ailleurs tous des brunissements vasculaires.

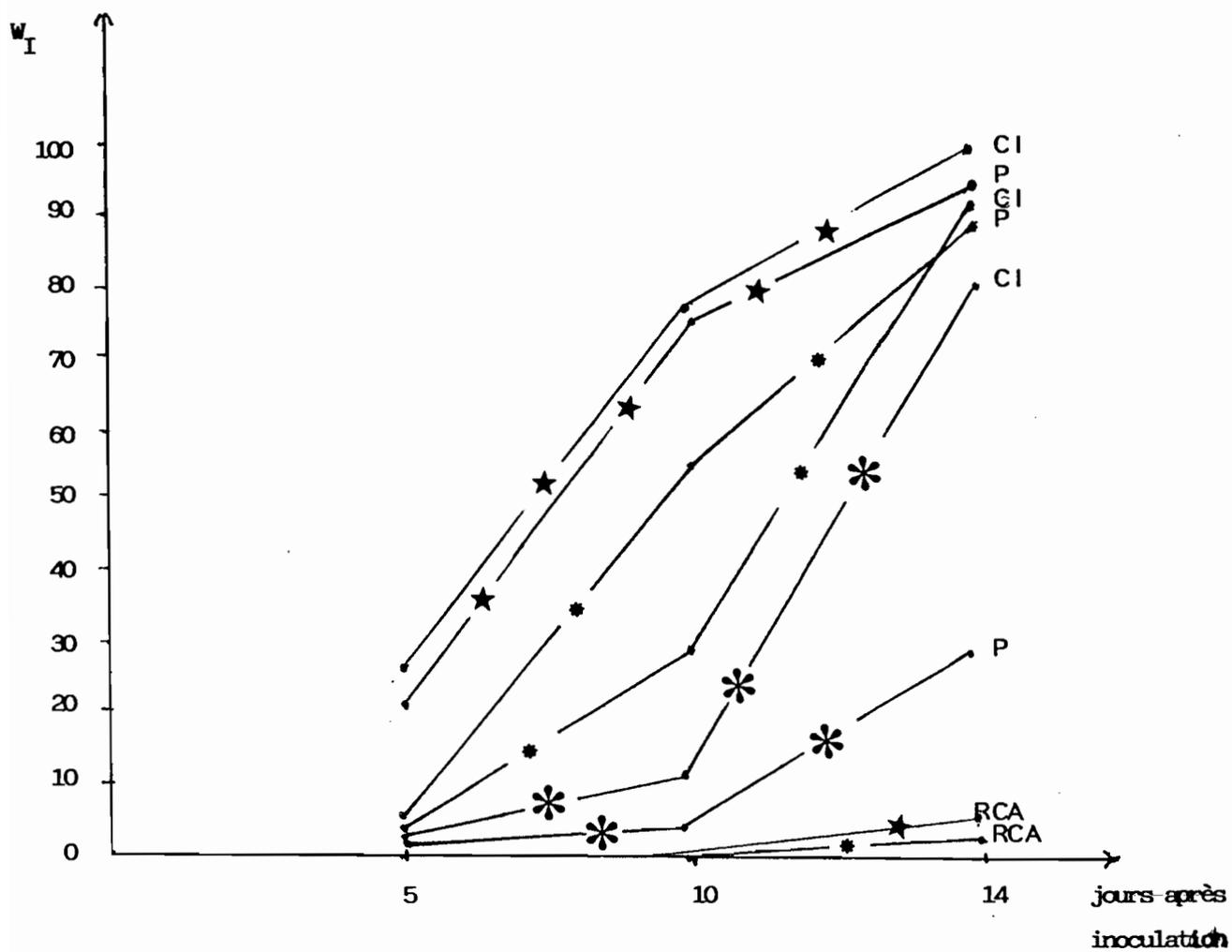
Tableau 14 : Pouvoir pathogène des isolats d'origine "F.O.V. P", "F.O.V. CI" et "F.O.V. RCA" sur la variété Rowden.

Caractéristiques des isolats	Nombre de plants inoculés	% de feuilles atteintes	Indice* de "wilt" WI
P ₀₅	10	100	93
CI ₀₅	10	100	94
RCA ₀₅	10	7	5

* Mesures faites 14 jours après l'inoculation.

Ex : P₀₅ = Isolat "F.O.V. P" d'origine âgé de 5 mois.

Les résultats de ce tableau montrent aussi que les isolats d'origine "F.O.V. P" et "F.O.V. CI" sont très pathogènes vis-à-vis de la variété Rowden. L'isolat d'origine "F.O.V. RCA" est très peu pathogène à cette date. Mais au-delà du 14^{ième} jour après l'inoculation il s'est montré très pathogène avec une augmentation considérable des symptômes sur les Cotonniers. Les plants attaqués, disséqués présentent tous des brunissements vasculaires et le Champignon a été réisolé de toutes les parties des plants (hypocotyle, pétiole des feuilles, épicotyle).



— * — variété McNair.

— ★ — variété T120-79.

— • — variété Rowden.

CI = isolat "F.O.V. CI".

P = isolat "F.O.V. P".

RCA = isolat "F.O.V. RCA".

Figure 4 : Evolution de l'attaque des variétés McNair 511 T120-79 et Rowden par les isolats d'origine "F.O.V. P", "F.O.V. CI" et "F.O.V. RCA".

CHAPITRE IV

DISCUSSION ET CONCLUSION

DISCUSSION ET CONCLUSION

De notre étude sur la variabilité morphologique dans la descendance par microconidies des 3 isolats du Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum, il ressort que l'aspect morphologique d'une culture (aspect du mycélium aérien, couleur, pigmentation, croissance des thalles) dépend du milieu nutritif sur lequel elle a été faite. D'où la nécessité de préciser toujours dans les descriptions des types morphologiques du Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum la nature de leur support nutritif.

Les trois isolats "F.O.V. P", "F.O.V. CI" et "F.O.V. RCA" produisent tous des microconidies, des macroconidies et des chlamydospores quel que soit l'âge de l'isolat. Par contre, des variations morphologiques semblent exister dans un même clone en fonction de l'âge des cultures où sont prélevées les microconidies. Ainsi, à partir des cultures âgées de 4 mois des variations dans l'aspect du mycélium et dans la pigmentation des cultures sont apparues dans les descendants par microconidies ; ce que WAITE et STOVER (1960) TOUSSON et NELSON (1976) cités par NELSON 1981 avaient montré comme l'une des caractéristiques fondamentales des Fusarium en culture.

De même, au niveau des descendants par macroconidies d'une culture âgée de 2 mois, d'importantes variations étaient observées à partir des prélèvements de pionnotes de l'isolat "F.O.V. CI". Deux différents types de culture ont été obtenus : une culture pionnotale sans mycélium aérien et une culture présentant beaucoup de mycélium aérien mais avec très peu de macroconidies. Ces résultats concordent effectivement avec ceux de TOUSSON et NELSON, (1976) cités par NELSON (1981) selon lesquels les isolats de Fusarium de type sporodochial ("F.O.V. CI" dans notre étude) évoluent généralement en culture vers le type mycéliel (mycélium aérien abondant et peu de macroconidies) et le type pionnotal (pas de mycélium aérien mais beaucoup de macroconidies).

Concernant la production d'organes fructifères, il ressort de nos observations que les isolats fraîchement prélevés de tiges malades de Cotonnier ("F.O.V. P" et "F.O.V. CI") sont plus aptes à différencier ces organes que les isolats conservés pendant une certaine période en culture.

Le déterminisme des variations chez le Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum est mal connu (FOLLIN, 1986). Au vu de nos résultats nous sommes amenés à dire que les microconidies et les macroconidies sont le siège ou le lieu de conservation des variations morphologiques observées chez le Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum.

Sur la variabilité du pouvoir pathogène du Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum, les résultats de nos inoculations ne nous permettent pas de montrer une certaine variabilité des clones ou sous clones de nos isolats pathogènes ("F.O.V. P" et "F.O.V. CI"). Ils sont tous deux très pathogènes et provoquent au bout de 14 jours une défoliation complète des plants de Cotonnier. Il semble que la technique d'inoculation par trempage est trop efficace pour le Cotonnier, ce qui expliquerait la sévérité des symptômes observés dans les essais. Mais elle ne doit sans doute pas être mise en cause de la non variabilité du pouvoir pathogène des isolats "F.O.V. P" et "F.O.V. CI" car il nous paraît vraisemblable que le fort pouvoir pathogène est une propriété intrinsèque de ces isolats et ne résulte donc pas de la forte efficacité de l'inoculation par trempage. Néanmoins, certaines améliorations pourraient être apportées à la méthode notamment par la diminution de la concentration de l'inoculum et le temps de trempage des racines.

Nos résultats ne nous permettent pas d'affirmer que l'âge de la culture a une certaine influence sur la variabilité dans le pouvoir pathogène de nos isolats comme l'avaient démontré des travaux :

- chez des isolats de Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum utilisés par SOUOP (1986) dont la variation allait soit dans le sens d'une augmentation ou d'une baisse d'agressivité dans les cultures âgées ;

- ou bien chez le Verticillium (BOISSON et LAHLOU 1981) dont le pouvoir pathogène dans les cultures âgées pouvait varier dans le sens d'une augmentation.

Néanmoins, la reprise du pouvoir pathogène de l'isolat d'origine de "F.O.V. RCA" âgé de 5 mois, isolat considéré auparavant comme avirulent, nous amène à dire que l'âge des cultures a une influence sur le pouvoir pathogène du Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum et que cette influence va dans le sens également d'une augmentation du pouvoir pathogène comme

chez le Verticillium. Ce phénomène paraît un peu inquiétant dans les systèmes de culture de variétés tolérantes où sensibles de Cotonnier, où l'enfouissement des résidus de récolte est de pratique courante.

Tous les types de spores sont impliqués dans l'induction de sévères symptômes sur les Cotonniers avec un léger retard dans l'attaque par les chlamydospores.

Les isolats pathogènes "F.O.V. P" et "F.O.V. CI" après 5 mois de culture en tubes ont toujours conservé leur fort pouvoir pathogène et l'isolat "F.O.V. CI" par ses sévères symptômes sur la variété résistante McNair 511 paraît la plus virulente des 3 isolats. Ce phénomène nous amène à penser aux races auxquelles appartiennent nos isolats. La détermination de ces races nous aiderait à mieux apprécier les manifestations de nos isolats sur les variétés de Cotonnier utilisées.

Notre travail, nous le reconnaissons, n'a pas pu répondre à toutes les interrogations qu'on pourrait se poser sur la dynamique de variation chez le Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum. La courte durée du stage ne nous a pas permis de compléter certains de nos résultats intéressants notamment.

- L'inoculation du variant morphologique obtenu à partir de macroconidies de l'isolat "F.O.V. CI".

- La variabilité dans le pouvoir pathogène des variants morphologiques obtenus à partir des cultures âgées de 4 mois.

- Le reclonage de l'isolat "F.O.V. RCA" âgé de 5 mois qui a repris son pouvoir pathogène et la recherche d'une variabilité dans ce pouvoir pathogène.

Cependant, il nous a permis de compléter le peu de connaissances déjà acquises sur la variabilité dans la morphologie et le pouvoir pathogène des descendants par microconidies du Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum en général et les résultats suscitent un certain espoir dans l'avenir pour l'amélioration de la lutte variétale chez le Cotonnier.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARMSTRONG, J.K et ARMSTRONG G.M., 1958 - A race of the cotton-wilt Fusarium causing wilt of Yelredo soybean and flue-cured tobacco. Plant Disease Reporter 42, 147-151.
- ARMSTRONG, G.M. et ARMSTRONG J. K., 1960 - American, Egyptian, and Indian cotton-wilt fusaria. Their pathogenicity and relationship to other wilt fusaria Cotton Growing Review 1975, 52, 303.
- ARMSTRONG, G.M et 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. et ARMSTRONG J.K., 1980 - Race 6 of the cotton-wilt Fusarium from Paraguay. Plant Disease 64, 596.
- BISHOP, C.D. et COOPER R.M., 1983 - An ultrastructural study of root invasion in three vascular wilt diseases. Physiological Plant Pathology 22, 15-27.
- BOISSON, C. et LAHLOUH. H., 1980 - Etude du polymorphisme intraclonal chez le Verticillium albo-atrum forme à microscléroles. I - La morphogénèse des thalles à partir des microconidies et ses variations. Journal Canadien de Botanique 58, 2407-2419.
- BOISSON, C. et LAHLOU H., 1982 - Etude du polymorphisme intraclonal chez le Verticillium albo-atrum forme à microscléroles II - Influence de l'âge des thalles sur leur descendance par microconidies - Journal Canadien de Botanique 60, 19-25.
- BOISSON, C. et LAHLOU H., 1983 - Etude du polymorphisme intraclonal chez le Verticillium albo-atrum forme à microsclérotés. IV - L'aptitude à varier chez les variants morphologiques. Journal Canadien de Botanique 61, 3536-3542.

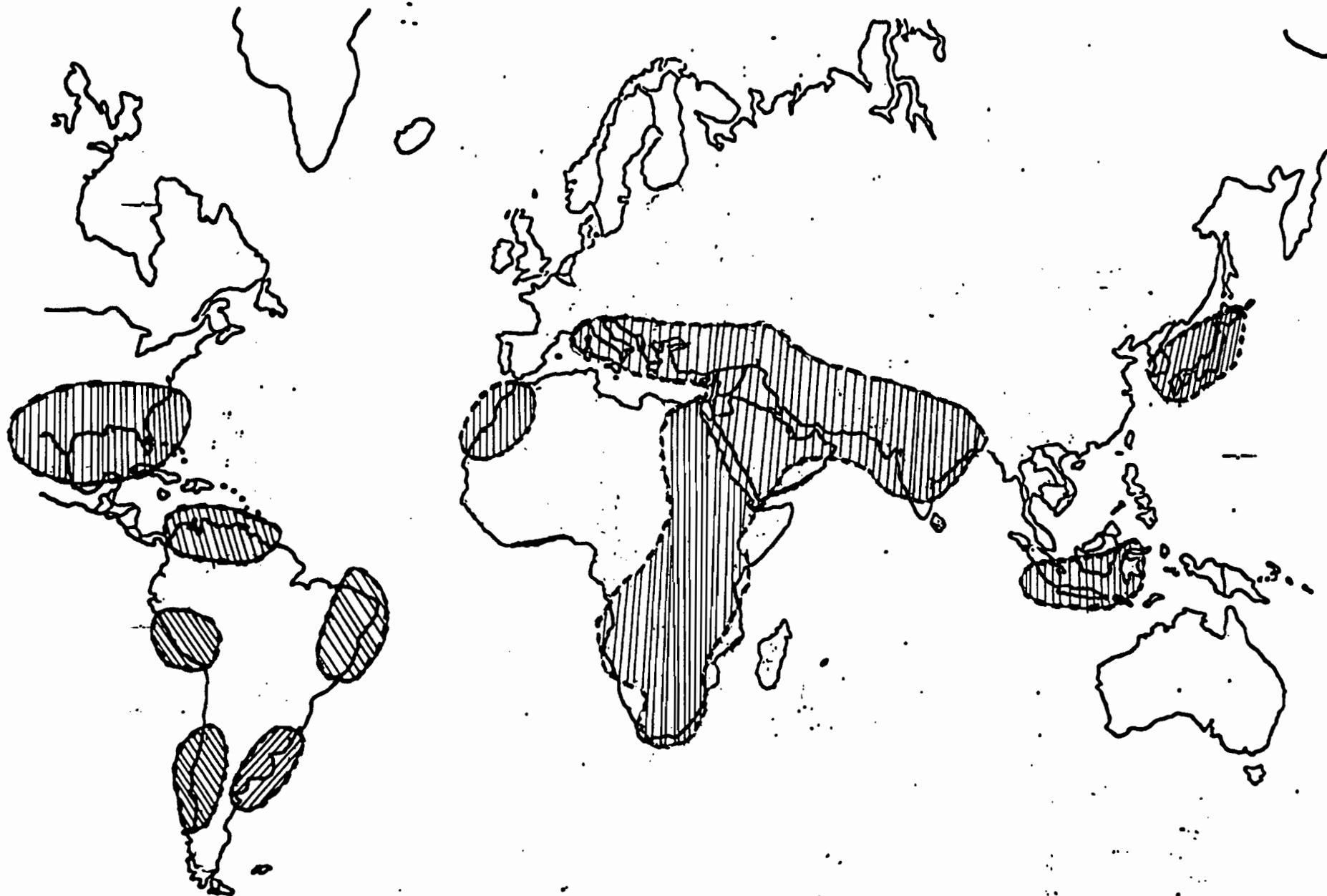
- BOOTH, C., 1971 - "The Genus Fusarium". Commonwealth Mycological Institute. Kew. England. 314 p.
- BOOTH, C., 1977 - "Fusarium" : Laboratory guide to the identification of the Major Species. Commonwealth Mycological Institute. Kew - England. 58 p.
- BOUHOT, D. et ROUXEL F., 1970 - Deux techniques de détermination du pouvoir pathogène des Fusarium oxysporum. Annales de Phytopathologie 2, 591-594.
- BUGBEE, W. M. et PRESLEY J.T., 1967 - A rapid inoculation technique to evaluate resistance of cotton to Verticillium albo-atrum. Phytopathology 57, 1264.
- BUGBEE, W. M. et SAPPENFIELD W.P., 1972 - Greenhouse evaluation of Verticillium, Fusarium and root-Knot nematode on cotton. Crop Science 12, 112-114.
- EL-KAHDEM, M.K., EL-KAZZAZ K. et HASSAN M.A., 1984 - Influence of different pre-emergence herbicides on cotton diseases caused by Rhizoctonia solani and Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum. Plant and Soil 79, 29-36.
- 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 1986. 30 p.
- 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.
- GARBER, RH., JORGENSON EC. et SMITH HYERATT, 1979 - Interaction of population levels of Fusarium oxysporum f. sp. varinfectum and Meloidogyne incognita on cotton. Journal of Nematology 11, 133-137.

- GOEBEL, S. et VAISSAYRE M., 1986 - Mise au point d'un test rapide de résistance variétale à la fusariose du Cotonnier. Coton et Fibres Tropicales vol XLI, 63-64.
- GONDRAN, J., 1984 - Variation du pouvoir pathogène de Verticillium albo-atrum R, et B., parasite de la Luzerne. Colloques SFP. AVIGNON, 10-11 Mai 1984 - Edition INRA.
- HILLOCKS, R.J., 1984 - Production of cotton varieties with resistance to Fusarium wilt with special reference to Tanzania. Tropical Pest Management 30, 234-246.
- IBRAHIM F.M., 1966 - A new race of cotton wilt Fusarium in the Sudan Gezina. Cotton Growing Review 1975, 52,303.
- KAPPELMAN A.J., 1975 - Correlation of Fusarium wilt of Cotton in the field and greenhouse. Crop Science 15, 270-272.
- LAHLOU, H. et BOISSON, C., 1981 - Pathogenicity variations in one Tomato isolate of Verticillium dahliae. 3rd International Verticillium Symposium. Instituto de Patologia Vegetale University of Bari Italy, 40.
- LAHLOU, H. et BOISSON C., 1984 - Variabilité intraclonale du pouvoir pathogène du Verticillium albo-atrum R. et B. formes à microsclérotos vis-à-vis de la Tomate - Les Colloques de l'INRA 26, 69-78.
- MACE, M.E., BELL A.A. et BECKMAN C.H., 1981 - Fungal wilt diseases of plants. Edition Academic Press 640p.
- MARAITE, H. et MEYER J.A., 1967 - Recherche sur les fusarioses. IV - Influence de la température sur la flétrissure fusarienne du pois. Annales Epiphyties 18, 305-312.

- MESSIAEN, G.M. et CASSINI R., 1968 - Recherches sur les fusarioses. IV - La systématique des Fusarium. Annales Epiphyties 19, 387-454.
- MILLER, D.A. et COOPER W.E., 1967 - Greenhouse technique for studying Fusarium wilt in cotton. Crop Science 7, 75-76.
- NELSON, P.E., 1981 - Life cycle and Epidemiology of Fusarium oxysporum. In Fungal wilt diseases of plants. Edition Academic Press 1981. 51-78.
- NELSON, P.E., TOUSSON T.A. et COOK R.J., 1981 - "Fusarium". Diseases, Biology and Taxonomy. Penn. Stat. Univ. Press. (1981) 457p.
- NELSON, P.E., TOUSSON T.A. et MARASAS W.F., 1983 - "Fusarium" Species. An Illustrated Manuel for Identification. Penn. Stat. Univ. Press. 193p.
- PERRY, D.A., 1962 - Method for determining the reaction of cotton plants to Fusarium wilt. Empire Cotton Growing Review 39, 22-26.
- RAO, M.V. et RAO A.Q., 1966 - Influence of the inoculum potential of Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum on its development in cotton roots. Phytopathologische Zeitschrift 56, 393-397.
- RISSER G., MAS, P. et RODE J.C., 1969 - Mise en évidence et caractérisation d'une quatrième race de Fusarium oxysporum f. sp. melonis. 2ième Congrès Union Phytopathologie Méditerranéenne. Avignon - Antibes 21-27 septembre 217-222.
- SMITH, S.N., EBBELS D.L., GARBER R.H. et KAPPELMAN A.J., 1981 - Fusarium wilt of cotton. In. Fusarium. Diseases, Biology and Taxonomy. NELSON P, TOUSSON T et COOK R. (1981). Penn. stat. Univ. Press. 29-38.

- SNYDER, W.C. et SHIRLEY N.S., 1981 - Current status. In. Fungal wilt diseases of plants. Edition MACE M., BELL A., BECKMAN C. (1981). 25-48.
- SOUOP, D., 1986 - Etude de la variabilité intraclonale du pouvoir pathogène et de la morphologie dans le 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 (1985-1986) 42p.
- WICKENS, G.M., 1964 - Methods for detection and selection of heritable resistance to Fusarium wilt of cotton. Empire Cotton Growing Review 41, 172-193.
- WILES, A.B., 1963 - Comparative reaction of reaction of certain cottons to Fusarium and Verticillium wilts. Phytopathology 53, 586-588.
- WOOD, C.M. et EBBELS D.L., 1972 - Host range and survival of Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum in north - western Tanzania. Empire Cotton Growing Review 49, 79-82.

ANNEXES



ANNEXE 1 : DISTRIBUTION MONDIALE DE LA FUSARIOSE DU COTONNIER.

(CARTE CMI N° 362)

ANNEXE 2

COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE

1°) MILIEU POUR MOISSURE (MM)

- Phosphate bipotassique K ₂ H P ₀₄	1 g
- Sulfate de magnésium 7 H ₂ O, MgSO ₄	0,5 g
- Sulfate ferrique Fe ₂ (SO ₄) ₃ nH ₂ O	0,1 g
- Asparagine	1,5 g
- Extrait de levure	1 g
- Glucose	20 g
- Agar agar	20 g
- Eau distillée	1000 ml

2°) MILIEU POTATO DEXTROSE AGAR (PDA)

(BIOMERIEUX) 5141 1

39 g de poudre dans 1000 ml d'eau distillée. Composition de la poudre en g/l d'eau distillée :

Infusion de pomme de terre	200
Glucose	20
Gélose	15

3°) MILIEU MALT

Malt DIFAL	20 g
Gélose	20 g
Eau distillée	1000 ml