

Étude de la confrontation des souches pathogènes et non pathogènes de *Fusarium oxysporum* dans l'acquisition de la résistance contre la fusariose du palmier à huile

Louis-Raymond Gbongué¹, Sékou Diabaté², Edson Lezin Bomisso¹, Emmanuel Dick¹, Hubert de Franqueville³, Daouda Koné¹.

¹Laboratoire de Physiologie Végétale, Unité de Formation et de Recherches (UFR) Biosciences, Université de Cocody 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

²Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Laboratoire central de biotechnologies, 01 BP 1740 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.

³Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), TA 80/02, Avenue Agropolis F 34398 Montpellier Cedex 5 France.

Auteur correspondant e-mail : raylouis.gbongue@yahoo.fr ; Cel : +225 08 67 83 83

Mot clés: palmier à huile, *Fusarium oxysporum* spp., lutte biologique, confrontation, protection croisée.

Keywords: oil palm, *Fusarium oxysporum* spp., biological control, , confrontation, cross-protection.

1 SUMMARY

Les plants sensibles de palmier à huile peuvent être protégés contre la fusariose grâce à l'antagonisme entre les souches de *Fusarium oxysporum* sp. saprophytes et l'agent pathogène *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* (*Foe*). Cet essai vise à déterminer la nature de la relation entre ces souches fongiques dans l'acquisition de la prémunition chez les plants sensibles de palmier à huile. Des plants de palmier à huile âgés de 2 mois ont été disposés selon un bloc de Fisher randomisé à 5 répétitions et inoculés au niveau du système racinaire avec les inocula des souches de *Fusarium oxysporum* ; *Foe* (pathogène) et *Fot* (non pathogène extrait des tissus d'un palmier à huile sain). Les principaux paramètres évalués étaient le mode d'inoculation (différé ou simultané) et la confrontation ou non entre les champignons antagonistes. Ces facteurs ont été estimés à partir du taux de plants malades et de la cinétique de la pathologie. Il ressort de cette étude que le taux de plants fusariés a diminué de moitié seulement dans le cas d'une inoculation différée, que les deux souches antagonistes soient en confrontation ou pas. Cependant, ce résultat est plus marqué lorsqu'il y a confrontation. En effet, l'apparition de la maladie est retardée de 4 semaines lorsque les deux champignons sont en contact et de 2 semaines lorsqu'ils ne le sont pas. L'action antagoniste entre *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* et une souche de *Fusarium* saprophyte du palmier à huile, a assuré la protection des plants de palmier au stade pré-pépinière sensible contre la fusariose. Cette protection croisée repose, en plus de la compétition entre les champignons, sur l'induction des mécanismes de défense.

Abstract

Sensitive oil palm seedlings can be protected against wilt disease by the antagonism between saprophytic *Fusarium oxysporum* sp. strains and *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* (*Foe*)

pathogen. This study focused on determining the nature of the relationship between these fungal strains in the acquisition of natural immunity in the sensitive oil palm seedlings. Oil palm seedlings aged two months were set up in a randomized complete block design with 5 replications and inoculated at the root system with *Fusarium oxysporum* strains; *Foe* (pathogen) and *Fot* (not pathogen extracted from tissues of a healthy oil palm). The main parameters evaluated were the mode of inoculation (simultaneous or deferred), with or without confrontation of strains. These factors were estimated from the rate of diseased plants and the kinetics of the pathology. It appears from this study that the rate of infected seedlings was reduced by half compared to the control, in the case of a deferred inoculation of the strains, in an antagonistic confrontation or not. However, this result is pronounced when there is a confrontation. Indeed, the onset is delayed by 4 weeks when the two fungi are in contact and two weeks when they are not. The antagonistic action between *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* and a saprophytic *Fusarium* oil palm strain, has provided protection against wilt disease for the sensitive palm seedlings at the prenursery stage. This cross-protection depends to the competition between the fungi, in addition to induction of defense mechanisms.

2 INTRODUCTION

Les maladies fongiques représentent chez le palmier à huile les pathologies majeures qui, en cas d'épidémie, entraînent d'importantes pertes (Diabaté, 2008) liées, soit à la diminution des rendements à la récolte (Figure 1), soit à la mort des plantes (Figure 2). De 1964 à 1976, en Côte d'Ivoire, les pertes dues à *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (*Foe*), agent pathogène de la fusariose chez le palmier à huile, ont été estimées à plus de 20 % pour les seules plantations du centre de recherche agronomique Robert Michaud de Dabou (Durant-Gasselin *et al.* 2010). Chez cette culture, à part la sélection de matériel biologique tolérant qui a permis de réduire considérablement l'impact de la fusariose, d'autres moyens, dont la lutte biochimique (Diabaté *et al.* 2010) et l'induction de la

résistance à partir de souches antagonistes à *Foe* (Taquet *et al.* 1985), sont étudiés. Dans cette dernière méthode, l'apport d'une souche saprophyte de *Fusarium oxysporum* extraite des tissus d'un palmier à huile non atteint de fusariose (*Fot*) a réduit considérablement le taux de plantes malades (Diabaté *et al.* 2012) Des études antérieures ont montré que la protection croisée procurée par deux champignons antagonistes, peut résulter de deux mécanismes que sont la résistance systémique induite ou la compétition (Diabaté *et al.* 1990 ; James, 1991 ; Van Peer *et al.* 1991 ; Kaur *et al.* 2010). Cette étude vise à déterminer si la compétition entre *Foe* et *Fot* est nécessaire à l'acquisition et à la persistance de la prémunition des plants de palmier à huile contre la fusariose.



Figure 1 : Palmier à huile en production atteint de la Fusariose chronique



Figure 2 : Palmier à huile mort à cause de la Fusariose typique

3 MATÉRIELS ET MÉTHODES

3.1 Matériel fongique : Le matériel fongique était constitué de deux souches antagonistes de *Fusarium oxysporum* spp. La souche pathogène *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* (*Foe*), agent de la fusariose du palmier à huile, a été isolée des tissus d'un pied présentant la maladie. La souche non pathogène *Fusarium oxysporum* sp. (*Fot*), a été isolée de ceux d'un palmier à huile indemne de la maladie.

3.2 Matériel végétal: Les essais ont concerné l'hybride C1901 (D5D AF x L2T AF) de plants de palmier à huile sensibles à la fusariose, âgés de 2 mois et issus du croisement L4156D x L2256D.

3.3 Méthodes

3.3.1 Production d'inoculum : Chaque souche de *F. oxysporum* a d'abord été cultivée sur milieu pour moisissure (MM) solide. Des prélèvements du mycélium âgé de 7 jours ont été utilisés pour ensemercer 75 ml du milieu Armstrong liquide contenu dans des erlenmeyers. Après 5 jours d'incubation, 2 ml de cette suspension de conidies ont été mis en culture dans des boîtes de Roux contenant 100 ml du milieu Armstrong. Au terme de 8 jours d'incubation, le contenu des boîtes de Roux a été broyé et dilué. Un comptage sur cellule de Malassez a été réalisé pour déterminer la densité des suspensions de conidies. Une quantité de 20 ml de ce broyat contenant en moyenne $2,5 \times 10^6$ conidies a constitué l'inoculum.

Par ailleurs, la stérilisation du matériel, de la verrerie et des milieux a été réalisée à l'autoclave à 120 °C sous une pression de 1 bar pendant 30 minutes, à chaque étape de la manipulation.

3.3.2 Conditionnement du matériel végétal :

Les plants issus de graines germées ont été repiqués individuellement en pots et placés dans la prépépinière de la station de recherche Robert Michaux du CNRA située à Dabou, au Sud-est de la Côte d'Ivoire. La prépépinière et les pots ont été périodiquement désherbés et arrosés avec de l'eau. Le matériel de chaque traitement a été reparti en cinq répétitions de 20 plants par traitement dans un bloc de Fisher randomisé. Chaque expérience a été répétée 3 fois.

3.3.3 Méthodes d'étude : Deux techniques nous ont permis de mettre en évidence la confrontation ou non de *Fot* avec *Foe* dans le cadre de cette lutte croisée contre la fusariose. Ce sont le rempotage et la séparation en deux du système racinaire.

3.3.4 Effet du rempotage sur l'acquisition et la persistance de la prémunition contre la fusariose chez le palmier à huile. : Dans cette étude, l'on a considéré d'une part les plants ayant subi le rempotage, et d'autre part ceux qui n'ont pas été repotés. La souche *Fot* a, dans un premier temps, été inoculée en arrosant avec 20 ml d'inoculum les racines des jeunes plantes de palmier à huile. Trois jours après, les plants ont été repotés ou non, avant d'être inoculés avec la souche *Foe* comme précédemment indiqué. Les plants témoins auxquels ont été comparés les plants traités, ont été arrosés à la date T_0 avec l'eau distillée stérile, puis à la date $T_0 + 3$ jours, arrosés avec la souche *Foe* (Tableau 1).

Tableau 1 : Traitements réalisés en vue d’apprécier l’effet du rempotage sur l’acquisition et la persistance de la prémunition contre la fusariose chez le palmier à huile.

Traitements	T ₀	T ₀ + 3 jrs
<i>Fot</i>	<i>Fot</i>	rempotage puis <i>Foe</i>
témoin 1	Eau	rempotage puis <i>Foe</i>
<i>Fot</i>	<i>Fot</i>	puis <i>Foe</i> sans rempotage
témoin 2	Eau	puis <i>Foe</i> sans rempotage

Foe : souche pathogène de *F. oxysporum*, *Fot* : souche non pathogène de *F. oxysporum*

3.3.5 Évaluation de la confrontation des souches *Fot* et *Foe* sur la prémunition dans les modes d’inoculation différée et simultanée. :

Deux modes d’inoculation ont été utilisés dans cette expérience.

Le mode 1 concerne l’inoculation différée (S-) et le mode 2, l’inoculation simultanée (S+).

Chaque mode d’inoculation a été subdivisé en deux types de traitements.

Le traitement 1 concerne la confrontation des souches antagonistes (C+) et le traitement 2,

l’absence de confrontation directe (C-) de ces champignons.

Pour réaliser ce travail, une plante entière a été dessouchée et ses racines séparées en deux lots. Chaque lot de racines a été mis dans des sachets en plastique différents de telle sorte qu’ils ne soient pas en contact l’un avec l’autre. Chaque plant avait alors ses racines dans deux sachets. L’un portait le numéro 1 et l’autre le numéro 2. Cette opération a été réalisée trois semaines avant les premières inoculations (Tableau 2).

Tableau 2 : Protocole d’évaluation de la confrontation des souches *Fot* (non pathogène) et *Foe* (pathogène) de *F. oxysporum* sur la prémunition dans les modes d’inoculation différée et simultanée.

Inoculation	Confrontation	T ₀		T ₀ +3jrs	
		Sachet 1	Sachet 2	Sachet 1	Sachet 2
différée	indirect	<i>Fot</i>	-	-	<i>Foe</i>
		Eau	-	-	<i>Foe</i>
	direct	<i>Fot</i>	-	<i>Foe</i>	-
		Eau	-	<i>Foe</i>	-
simultanée	indirect	-	-	<i>Fot</i>	<i>Foe</i>
		-	-	eau	<i>Foe</i>
	direct	-	-	-	<i>Fot</i> + <i>Foe</i>
		-	-	-	<i>Foe</i>

Foe : souche pathogène de *F. oxysporum*. *Fot* : souche non pathogène de *F. oxysporum*

Pour évaluer l’effet de la confrontation des souches fongiques *Fot* (saprophyte du palmier à huile) et *Foe* (agent pathogène de la fusariose chez le palmier à huile) lors d’une inoculation différée sur l’induction de la protection de cette plante face à la fusariose, le protocole suivant a été adopté. Au temps T₀, le premier lot a été inoculé avec *Fot* au niveau du sachet 1. Il a ensuite reçu l’inoculum de *Foe* au temps T₀ + 3j dans le sachet 2. Ce traitement correspond à l’inoculation différée sans confrontation des souches fongiques en présence (S-C-).

Les plants témoins de ce traitement ont été inoculés par arrosage avec 20 ml d’eau distillée stérile à T₀ dans le sachet 1 et avec la souche *Foe* à T₀ + 3j dans le sachet 2.

Le deuxième lot caractérisant l’effet de la confrontation de la souche non pathogène avec la souche pathogène lors d’une inoculation différée (S-C+) a été évalué en inoculant le *Fot* dans le sachet 1 trois jours avant le *Foe* dans le même sachet. Pour le témoin, les plants ont subi le même procédé mais avec de l’eau à la place du *Fot*.

Dans la seconde partie du test, le traitement a été réalisé en mettant en évidence la confrontation des

souches lors d'une inoculation simultanée. Ainsi, l'essai a consisté à apprécier sur de jeunes plantes de palmier à huile, l'effet de l'inoculation simultanée avec confrontation des souches *Fot* et *Foe* (S+C+) d'une part, et celui de l'inoculation simultanée sans confrontation de ces champignons d'autre part (S+C-).

Dans le premier cas, les plants ont reçu à la fois un inoculum de *Fot* et de *Foe* en même temps dans le sachet 2 à T_0+3j . Un témoin de ce traitement a été réalisé. Pour cela, des plants ont reçu la seule inoculation de la souche *Foe*, 3 jours après la mise en place du test.

Dans l'essai qui assure la simultanéité de l'inoculation des souches sans confrontation de celles-ci, les racines des plants de palmier à huile, au temps T_0+3j , ont été traitées en même temps avec

Fot dans le sachet 1 et *Foe* dans le sachet 2. Les plants témoins quant à eux, ont reçu de l'eau et le *Fot* respectivement dans le sachet 1 et le sachet 2.

3.4 Paramètres mesurés

3.4.1 Taux de plants fusariés: Les premiers symptômes apparaissant 4 à 5 semaines après inoculation et sur la base des signes externes (jaunissement et perforation de feuilles, rabougrissement du plant) (Renard et Franqueville, 1989) des observations mensuelles ont été faites. L'expression de la maladie a été confirmée au dernier mois, en sectionnant le pseudobulbe des plants atteints pour mettre en évidence les symptômes internes (Figure 3). Un comptage des plants fusariés a été effectué et le taux des plants malades a été déterminé selon la formule suivante :

$$TPM (\%) = \frac{NPM}{NTP} \times 100$$

TPM = Taux de Plants Malades ; NPM = Nombre de Plants Malades ;
NTP : Nombre Total de Plants.



Figure 3: Brunissement interne du pseudobulbe d'un plant de palmier à huile atteint de fusariose

Évolution de la maladie: L'évolution de la maladie a été évaluée en déterminant chaque 2 semaine le nombre de plants présentant les symptômes externes de la fusariose que sont : le jaunissement et la perforation de feuilles, ainsi que le rabougrissement du plant (Diabaté, 2008) pour les modes d'inoculation différée et simultanée.

3.4.2 Réisolement des champignons: Un explant de fibre a été prélevé dans la partie brunie

du pseudobulbe des plants présentant les symptômes de la fusariose et mis en culture sur le milieu pour moisissure (MM) pendant 7 jours. Des observations microscopiques de conidies colorées au carmino-vert ont permis d'identifier l'agent pathogène.

3.5 Analyse statistique : Les analyses statistiques des données ont été effectuées avec le

logiciel Statistica 7.1. Les données obtenues ont subi une transformation d'arcsin√taux/100 avant les analyses afin de garantir la normalité et

l'homogénéité de la variance des résultats. Les groupes homogènes ont été constitués à partir du test de Newman-Keuls au seuil de 5 %.

4 RÉSULTATS

4.1 Effet du repotage sur l'expression de la fusariose: Dans cette étude, l'effet du repotage sur l'expression de la fusariose chez des plants non prémunis par la souche non pathogène *Fot* a été réalisé. Ainsi, des plants de palmier à huile âgés de 2 mois et repotés avant d'être inoculés 3 jours plus tard par la souche pathogène *Foe*, ont été comparés sur la base du taux d'infection, à ceux ayant reçu

l'inoculum de ce champignon mais sans avoir été repotés préalablement (Tableau 3). L'analyse de variance a révélé une différence significative ($F(1; 8) = 15,54$; $p = 0,004$). Les plants ayant été repotés avant de recevoir l'inoculum de *Foe* ont présenté une valeur transformée du taux de plants fusariés supérieure à celle des plants non repotés.

Tableau 3 : Effet du repotage chez les plants de palmier à huile atteints de fusariose

Traitements	Valeurs transformées du taux de plants infectés
Inoculation de <i>Foe</i> sans repotage	1,88±0,66a
Repotage puis inoculation de <i>Foe</i>	3,19±0,37b

Foe: souche pathogène de *F. oxysporum*

Fot: souche non pathogène de *F. oxysporum*

Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Newman-Keuls

4.2 Effet du repotage sur l'acquisition de la prémunition: L'étude de l'effet du repotage sur l'acquisition de la prémunition, après l'analyse de variance (Tableau 4) a révélé une différence significative entre les différents traitements et le témoin ($F(1; 16) = 88,14$; $p = 0$).

Les données obtenues de plants infectés pour les essais ont été significativement basses (0,22) chez les non repotés par rapport aux repotés (0,74). Cette dernière valeur a été statistiquement égale à celle des plants témoins (0,77).

Tableau 4 : Effet du repotage sur l'expression de la prémunition contre la fusariose chez les plants de palmier à huile

Traitements	Valeurs transformées du taux de plants infectés
<i>Fot</i> repotage puis <i>Foe</i>	0,74±0,14a
repotage puis <i>Foe</i> (témoin)	0,77±0,11a
<i>Fot</i> sans repotage puis <i>Foe</i>	0,22±0,13b

Foe: souche pathogène de *F. oxysporum*

Fot: souche non pathogène de *F. oxysporum*

Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Newman

4.3 Impact de la confrontation des souches *Fot* et *Foe* sur la prémunition dans les modes d'inoculation différée et simultanée

4.3.1 Cas d'une inoculation différée: Les résultats des valeurs transformées de l'inoculation

différée avec confrontation (C+S-) des souches *Fot* et *Foe* sont présentés sur la figure 4. Une valeur transformée du taux des plants infectés égale à 0,20 a été enregistrée pour ce traitement (C+S-). Celle-ci a été significativement inférieure ($F(1; 8) = 13,97$; p

= 0,005) à la valeur relevée chez les plants témoins et qui a été de 0,45.

Les résultats obtenus pour le même mode d'inoculation, mais sans confrontation entre les souches fongiques (Figure 5), ont montré une différence significative entre plants traités et témoins ($F_{(1;8)} = 6,93$; $p = 0,03$). La valeur de 0,25 obtenue chez les plants traités (C-S-), a été inférieure à celle des témoins (0,46).

Par ailleurs, l'évolution de la fusariose suite à l'inoculation des souches de champignons, a montré que les premiers symptômes de la maladie sont apparus avec 4 semaines de retard chez les plants

traités par inoculation différée avec confrontation de *Fot* et *Foe* (C+S-) par rapport aux témoins (Figure 6). Ces derniers ont enregistré les premiers cas de plants malades dès la 6^e semaine après inoculation.

Concernant l'inoculation différée sans confrontation des souches (Figure 7), l'apparition de la fusariose a été plus précoce chez les plants témoins par rapport à ceux ayant reçu le traitement. Les premiers signes de la maladie sont apparus la 8^e semaine sur les plants traités et la 6^e semaine chez les témoins.

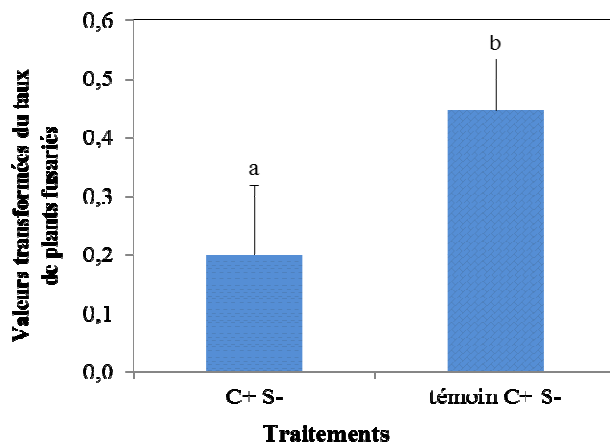


Figure 4 : Effet de l'inoculation différée avec confrontation de *Fot* et *Foe* sur la prémunition contre la fusariose des plants de palmier à huile

Traitement C+ S- : inoculation différée de *Fot* et *Foe* avec confrontation

Foe : souche pathogène de *F. oxysporum*, *Fot* : souche non pathogène de *F. oxysporum*. Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Newman-keuls.

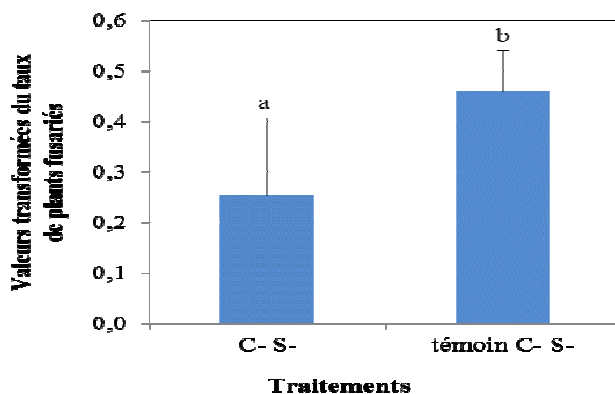


Figure 5 : Effet de l'inoculation différée sans confrontation de *Fot* et *Foe* sur la prémunition contre la fusariose des plants de palmier à huile

Traitement C- S- : inoculation différée de *Fot* et *Foe* sans confrontation

Foe : souche pathogène de *F. oxysporum*, *Fot* : souche non pathogène de *F. oxysporum*. Les moyennes affectées d'une même lettre sur les histogrammes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Newman-Keuls.

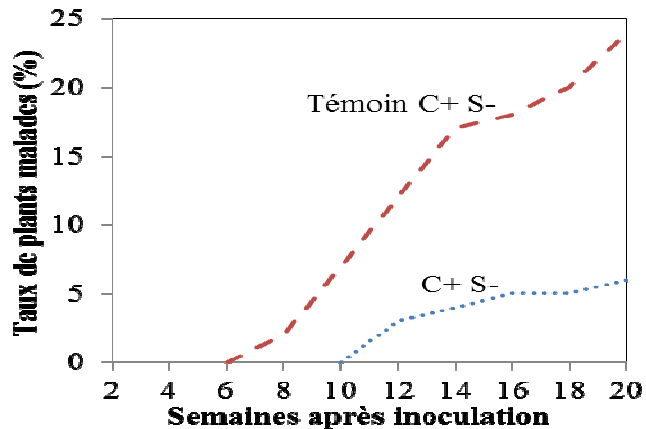


Figure 6 : Cinétique de l'infection des plants de palmier à huile dans le cas d'une inoculation différée avec confrontation de *Fot* et *Foe*

Traitement C+ S- : inoculation différée de *Fot* et *Foe* avec confrontation

Foe : souche pathogène de *F. oxysporum*, *Fot* : souche non pathogène de *F. oxysporum*

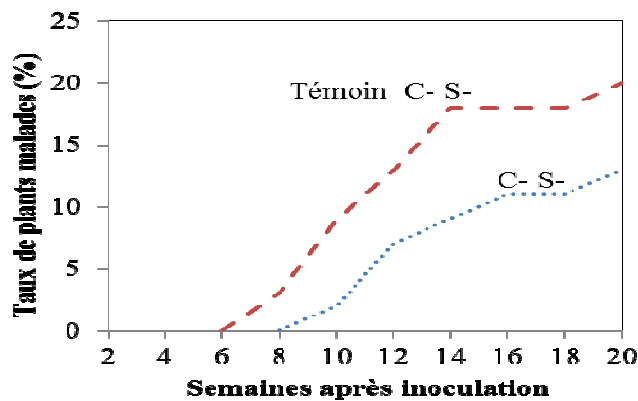


Figure 7 : Cinétique de l'infection des plants de palmier à huile dans le cas d'une inoculation différée sans confrontation de *Fot* et *Foe*

Traitement C- S- : inoculation différée de *Fot* et *Foe* sans confrontation

Foe : souche pathogène de *F. oxysporum*, *Fot* : souche non pathogène de *F. oxysporum*

4.3.2 Cas d'une inoculation simultanée: Les données de l'inoculation simultanée sans confrontation (C-S+) des souches fongiques en présence (Figure 8), révèlent que pour les plants traités, la valeur transformée du taux d'infection a été de 0,31 contre 0,42 pour les témoins. Ces deux valeurs n'ont pas été significativement différentes (F

(1; 8) = 1,12 ; $p = 0,32$). L'évaluation de la résistance contre la fusariose lors de l'inoculation simultanée avec confrontation (C+S+) des champignons (Figure 9) a présenté des valeurs statistiquement égales pour les plants traités et témoins (F (1; 8) = 0,79 ; $p = 0,40$).

La cinétique du développement de la fusariose suite à l'inoculation simultanée, aussi bien avec, que sans confrontation des champignons *Fot* et *Foe*, a montré que la maladie est apparue au même moment autant chez les plants traités que chez les témoins (Figures 10 et 11).

4.3.3 Réisolement des champignons : Les observations microscopiques après 7 jours

d'incubation des champignons isolés à partir des fibres prélevées dans le pseudobulbe brun, ont été comparées à la souche de *F. oxysporum* f.sp. *elaedis* ayant servi à l'inoculation des plants. Les champignons mis en culture sont semblables à la souche *Foe*.

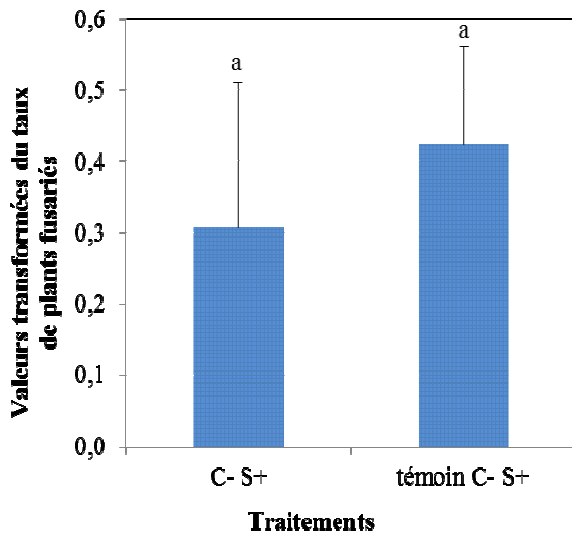


Figure 8 : Effet de l'inoculation simultanée sans confrontation de *Fot* et *Foe* sur la prémunition contre la fusariose des plants de palmier à huile

Traitement : C- S+ : inoculation simultanée de *Fot* et *Foe* sans confrontation

Foe : souche pathogène de *F. oxysporum*, *Fot* : souche non pathogène de *F. oxysporum*. Les moyennes affectées d'une même lettre sur les histogrammes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Newman-keuls.

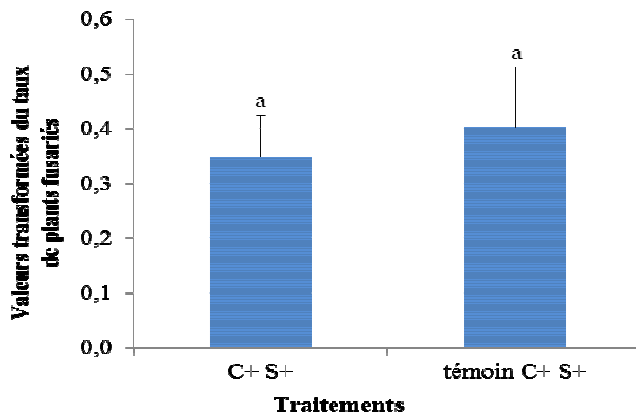


Figure 9 : Effet de l'inoculation simultanée avec confrontation de *Fot* et *Foe* sur la prémunition contre la fusariose des plants de palmier à huile

Traitement C+ S+ : inoculation simultanée de *Fot* et *Foe* avec confrontation.

Foe : souche pathogène de *F. oxysporum*, *Fot* : souche non pathogène de *F. oxysporum*

Les moyennes affectées d'une même lettre sur les histogrammes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Newman-keuls.

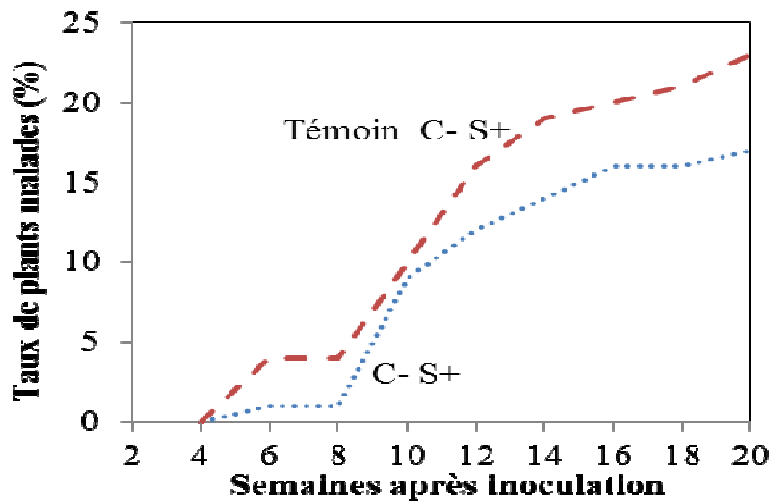


Figure 10 : Évolution de la fusariose chez les plants de palmier à huile dans le cas d'une inoculation simultanée sans confrontation de *Fot* et *Foe*.

Traitement C- S+ : inoculation simultanée de *Fot* et *Foe* sans confrontation.

Foe : souche pathogène de *F. oxysporum*, *Fot* : souche non pathogène de *F. oxysporum*

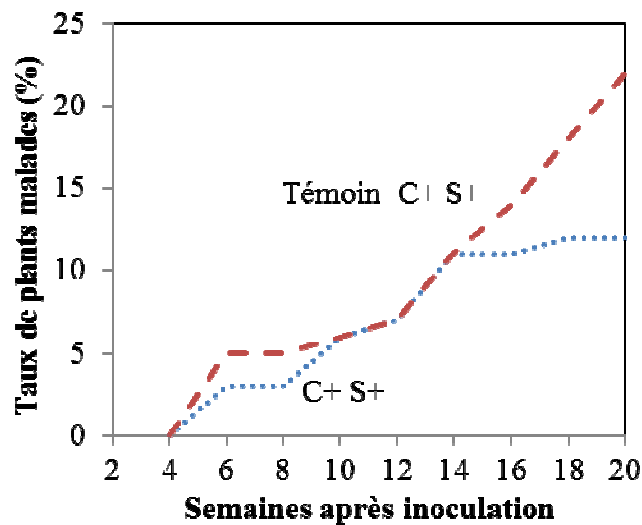


Figure 11 : Évolution de la fusariose chez les plants de palmier à huile dans le cas d'une inoculation simultanée avec confrontation de *Fot* et *Foe*

Traitement C+ S+ : inoculation simultanée de *Fot* et *Foe* avec confrontation

Foe : souche pathogène de *F. oxysporum*, *Fot* : souche non pathogène de *F. oxysporum*

5 DISCUSSION

Des traitements visant à étudier le type d'interaction entre la souche pathogène de la fusariose du palmier à huile, *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (*Foe*), et la souche saprophyte *Fot*, ont été effectués. L'efficacité d'un traitement à favoriser la prémunition est déterminée lorsque le taux de plants de palmier à huile ayant subi le dit traitement est inférieur à celui du témoin respectif et/ou d'un traitement auquel l'on veut le comparer. La préinoculation des souches fongiques antagonistes *Fot* et *Foe*, non suivie du repotage des plants, a protégé de façon significative

($F_{(1 ; 8)}=15,54$; $p=0,004$) le palmier à huile du développement de la fusariose, dont le pourcentage de la valeur transformée du taux de plants fusariés est passé de 77 % pour le témoin à 14 % après préinoculation du *Fot*. La préinoculation suivie du repotage des plants dans un terreau non inoculé de la souche non pathogène *Fot* s'est révélée sans effet significatif. Toutefois, le fait d'avoir détérioré les plants pour les repoter ensuite a pu les avoir fragilisés, de telle sorte que toute induction de la résistance a pu être masquée par cette opération. C'est ce qu'ont indiqué les résultats de la seule inoculation de *Foe* entraînant 32 % de fusariose après repotage, alors qu'elle n'en a provoqué que 19 % sans repotage. Ce résultat indiquerait que la confrontation des souches avirulente et pathogène est nécessaire à la manifestation du phénomène de protection. Des auteurs ont précédemment développé ce point de vue (Renard et Franqueville, 1989). Il ressort de leur analyse que, quand la souche non pathogène est séparée physiquement de la souche pathogène, la protection croisée est plus faible que lorsque les deux souches sont introduites ensemble.

L'influence de la confrontation des souches saprophytes *Fot* et pathogène *Foe* dans l'acquisition de la prémunition a apporté quelques précisions sur la nature de cette protection. Cette étude nous a montré que les résultats des essais ont été significatifs seulement en inoculation différée des champignons (*Fot* et *Foe*), avec des taux d'infection environ deux fois plus faible pour les plants traités que pour les témoins avec ou sans confrontation

des souches. Ainsi, la préinoculation de *Fot* suivie de sa confrontation directe avec *Foe* protège mieux les jeunes plantes de palmier à huile du développement de la fusariose. Ces résultats sont en concordance avec ceux de travaux cités plus haut. En effet, il a été montré que, dans leur compétition pour les nutriments du sol, la présence préalable de la souche non pathogène favorise la germination de ses chlamydiospores et l'invasion des tissus des racines au détriment de la souche pathogène, lorsque celle-ci est mise plus tard au contact de la plante (Couteaudier et Alabouvette, 1990). De même, un grand nombre de sites d'infection sont protégés par une densité croissante de la souche non pathogène, si celle-ci est inoculée avant la souche pathogène (Mandel et Baher, 1995 ; Boa et Lazarivits, 2001).

Cependant, l'on observe également un rôle prémunisant de la souche *Fot* sans confrontation ultérieure de celle-ci avec *Foe*. Bien que cet effet soit moindre que dans le cas de la confrontation, ceci signifie que la protection apportée par *Fot* repose, au moins en partie, sur sa capacité à déclencher les mécanismes de défense des jeunes plantes, puisque tout phénomène de compétition est exclu par la non-confrontation des souches. Il existe donc une expansion de la prémunition qui permet en outre, de penser que la synthèse de composés de défense ne se fait pas qu'au seul point de confrontation entre l'hôte et le pathogène (Billes et Martyn, 1989 ; Diabaté *et, al.* 1990).

La comparaison de ces essais suggère fortement que la compétition entre souches est le premier phénomène qui régit la prémunition, compétition suivie ou non d'une élévation des mécanismes de défense (Diabaté *et, al.* 1990 ; Van Peer *et, al.* 1991 ; Diabaté *et, al.* 2010). En outre, si effectivement il y a compétition, celle-ci reposerait sur la disponibilité des éléments nutritifs, le développement du champignon ou l'occupation des sites d'infection (Renard et Franqueville, 1989 ; Billes et Martyn, 1989 ; Mandel et Baher, 1995).

Par ailleurs, les délais séparant l'inoculation des organismes non agressifs de celle de l'agent pathogène sont, dans le cadre de ces essais, de trois

jours afin de se placer avant la réaction de défense, mesurée par les teneurs en composés phénoliques, que des travaux antérieurs situent entre trois et huit jours après l'agression parasitaire. Ces délais peuvent avoir une importance prépondérante dans la réponse à l'inoculation du pathogène. C'est le cas notamment de la fusariose de la pastèque provoquée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*, dont le développement peut être significativement retardé ou réduit par la préinoculation d'autres formes spécialisées (Fravel *et al.* 2003). Dans le cas de la fusariose du cotonnier, provoquée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, trois jours entre les deux inoculations semblent insuffisants à déclencher les mécanismes de défense de l'hôte, mais suffisant cependant à protéger celui-ci de l'agression parasitaire (Robert *et al.* 2007). Un délai plus long (7 jours), en revanche, entre l'inoculation d'une souche de *Pseudomonas* et celle de *Fusarium*

oxysporum f.sp. *dianthi* permet d'induire la résistance de l'œillet à la fusariose par augmentation des synthèses de phytoalexines (Kroon *et al.*, 1991). L'on peut donc envisager un système dans lequel l'installation des souches non agressives constitue un préalable nécessaire au phénomène de protection croisée rendu possible par la compétition entre *Fusarium*, compétition éventuellement relayée par l'élicitation des mécanismes de défense de l'hôte (Filippi *et al.* 1987, Flood, 2006 ; Diabaté *et al.* 2010).

Les différentes observations microscopiques des conidies du champignon responsable du brunissement des pseudobulbes des plants de palmier à huile âgés de 2 mois, ont mis en cause *Foe*. C'est bien la souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* qui est responsable de l'apparition de ces symptômes chez les plants de palmier à huile au stade pré-pépinière (Renard et Franqueville, 1989).

6 CONCLUSION

Dans cette lutte croisée contre la fusariose chez les plants de palmier à huile âgés de deux mois, l'inoculation différée avec confrontation directe des souches non pathogène *Fot* et pathogène *Foe*, n'a pas été nécessaire à la manifestation de la

prémunition. Cependant, la confrontation directe a apporté la meilleure protection. Ceci a montré que l'acquisition de la prémunition dans ce cadre, est basée en partie, sur l'induction des mécanismes de défense de la plante.

7 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bao JR and Lazarovits G: 2001. Differential colonization of tomato roots by nonpathogenic and pathogenic *Fusarium oxysporum* may influence *Fusarium* wilt control. *Phytopathology* 91: 449 – 456.
- Biles CL and Martyn RD: 1989. Local and systemic resistance induced in watermelons by Formae Speciales of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 79: 856 – 860.
- Couteaudier Y and Alabouvette C: 1990. Quantitative comparison of *Fusarium oxysporum* competitiveness in relation with carbon utilization. *FEMS Microbiol. Lett.* 74: 261-267.
- Diabaté S, Taquet B, Renard JL, Franqueville (de) H, et Reiser P: 1990. Analyse en CLHP des substances produites par le palmier à huile au cours de l'infection par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*, Perspectives pour la sélection. *Oléagineux* 45 (2): 49-55.
- Diabaté S: 2008. Contribution à l'étude de la diversité phénolique dans la réaction de défense du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq) contre la fusariose vasculaire. *Thèse de Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, UFR Biosciences.* 155p.
- Diabaté S, Traoré A, and Koné B: 2010. Evaluation of the performance of tolerant crosses of oil palm selected in prenursery and replanted on wilt disease areas. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 1 (6): 1273-1277.
- Diabaté S, Gbongué L-R, Dick E, Bomisso E L and Franqueville (de) H, 2012. Etude Comparée de L'action de Souches Non Pathogènes de *Fusarium Oxysporum* dans l'induction des réactions immunitaires du palmier à huile contre la fusariose. *European Journal of Scientific Research* 73(2) : 193-201.
- Durand-Gasselin T, Blangy L, Picasso C, Franqueville (de) H, Breton F, Amblard P, Cochard B, Louise C et Nouy B: 2010.

- Sélection du palmier à huile pour une huile de palme durable et responsabilité sociale. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* 17 (6) : 385-392.
- Filippi C, Bagnoli G, Volterrani M and Picci G: 1987. Antagonistic effects of soil bacteria on *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *dianthi* (Prill and Dell.) Snyd. and Hans – III, Relation between protection against *Fusarium* wilt in carnation and bacterial antagonists organization on roots. *Plant and Soil* 98: 161 – 167.
- Flood J: 2006. Symposium *Fusarium*, Induced Diseases of Tropical Perennial Crops, A Review of *Fusarium* Wilt of Oil Palm Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis*. *Phyto.* 96 (6): 660-662.
- Fravel D, Olivain C. and Alabouvette C: 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist* 157 (3): 493–502.
- James C. Correll, 1991. The relationship Between Formae Speciales, Races, and Vegetative Compatibility Groups in *Fusarium oxysporum*. The American Phytopathological Society. Vol. 8 (9): 1061-1064.
- Kaur R, Kaur J, and Singh RS: 2010. Nonpathogenic *Fusarium* as a Biological Control Agent. *Plant Pathology Journal* 9 (3): 79-91.
- Kroon BAM, Scheffer RJ and Elgersma DM: 1991. Induced resistance in tomato plants against *Fusarium* wilt invoked by *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, *Neth.J.Pl. Path.* 97: 401-408.
- Mandeeel Q, and Baher R, 1991. Mechanisms involved in biological control of *Fusarium oxysporum*, *Phytopathology* 81: 462-469.
- Taquet B, Ravisé A, Renard JL et Kunesch G: 1985. Modulation des réactions de défense du palmier à huile contre le *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Schlecht) Toovey, Applications : prémunition et stimulation chimique. *Phytopath. Z.* 142: 298-314.
- Renard JL et Franqueville (de) H: 1989. La fusariose du palmier à huile. *Oléagineux* 44 (7): 341-350.
- Van Peer R, Niemann GJ and Schippers B: 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt, 768; Molecular Plant-Microbe Interactions of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81: 728-734.