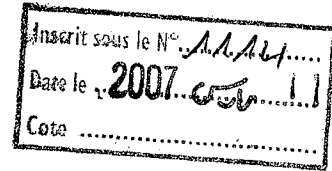


INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE



THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
« HOUARI BOUMEDIENE » - ALGER

pour l'obtention

DU GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

par

Nicole BOUNAGA - RIVEILL

**Contribution à l'étude de FUSARIUM
OXYSPORUM F. SP. ALBEDINIS (Killian et Maire)
Gordon, agent de la Fusariose du Palmier Dattier**

Soutenue le 9 Avril 1985, devant la commission d'examen :

M.	B. ASSELAH	Président
M.	J. CHEVAUGEON	Rapporteur
M ^{me}	F. BOULAHBAL	} Examineurs
M.	A. MESLI	
M.	L. THALER	

"La science n'est qu'une suite d'erreurs rectifiées,
mais la rectification qui est un progrès n'eut pas
été possible sans l'erreur intelligente qui l'a
précédée".

(BECKER 1976)

Ce travail est dédié :

A Djilali , absent aujourd'hui, mais
pourtant encore si présent,

A Sakina, Abbès et Talia,

A mes parents,

et à tous ceux, parents et amis, qui m'ont
sincèrement aidé, à surmonter..., à poursuivre et
à mener à bien cette oeuvre.

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Botanique de l'Université d'Alger, devenu par la suite C.N.R.Z.A., puis A.R.Z.A. et enfin U.R.Z.A.

Initié, il y a plusieurs années, sous la direction de Monsieur le Professeur Djilali BOUNAGA, aujourd'hui disparu, auquel je dois ma formation et mon approche de la Recherche, ce travail est partie intégrante d'une oeuvre que j'ai tenté de mener à bonne fin.

Ce travail ne prétend cependant pas être complet et pose peut être plus de problèmes qu'il n'en solutionne.

Avant d'entreprendre l'exposé de mes recherches, je veux exprimer ma vive gratitude à tous ceux qui de diverses façons et à différents moments m'ont apporté leur aide et soutenu.

Monsieur le Professeur Jean CHEVAUGEON, de l'Université de Paris-Sud (ORSAY), a bien voulu me recevoir en Mars 1980, avec mes résultats "en chantier"; sa compétence, son soutien, son indulgence et ses encouragements, m'ont été d'un grand secours et me permettent, aujourd'hui, de présenter ce travail.

Il a accepté, de plus, malgré ses nombreuses charges et responsabilités, d'être le rapporteur de cette thèse ; je le prie d'accepter l'assurance de ma très vive reconnaissance et mon profond respect.

Monsieur le Professeur Boualem ASSELAH de l'Université Houari Boumédiène - Alger, m'a très souvent facilité la tâche en tant que Directeur de l'Institut de Biologie; il m'a toujours soutenu et encouragé dans mes travaux, et me fait l'honneur de présider mon jury. Qu'il reçoive ici l'expression de ma profonde gratitude.

Monsieur le Professeur Louis THALER de l'Université de Montpellier, après une rencontre à Béni-Abbès, m'a "entraîné" vers l'étude biochimique par électrophorèse du *Fusarium*; il m'a fait connaître une voie de recherche particulièrement attrayante et riche en découvertes. Qu'il en soit remercié, ainsi que de son accueil et de ses conseils toujours chaleureux. Je lui salue gré et le remercie aussi de me faire l'honneur de participer au jury de ma thèse.

Monsieur le Professeur Abderrezak MESLI de l'Université d'Oran, m'a prodigué ses encouragements, a toujours fait preuve d'une grande patience, il m'a honoré de sa confiance en me remettant de nouveaux produits, synthétisés dans son laboratoire, à tester,

Il a accepté, de plus, malgré ses nombreuses charges et responsabilités, d'être le rapporteur de cette thèse; je le prie d'accepter l'assurance de ma très vive reconnaissance et mon profond respect.

Monsieur le Professeur Boualem ASSELAH de l'Université Houari Boumédiène - Alger, m'a très souvent facilité la tâche en tant que Directeur de l'Institut de Biologie; il m'a toujours soutenu et encouragé dans mes travaux, et me fait l'honneur de présider mon jury. Qu'il reçoive ici l'expression de ma profonde gratitude.

Monsieur le Professeur Louis THALER de l'Université de Montpellier, après une rencontre à Béni-Abbès, m'a "entraîné" vers l'étude biochimique par électrophorèse du *Fusarium*; il m'a fait connaître une voie de recherche particulièrement attrayante et riche en découvertes. Qu'il en soit remercié, ainsi que de son accueil et de ses conseils toujours chaleureux. Je lui salue et le remercie aussi de me faire l'honneur de participer au jury de ma thèse.

Monsieur le Professeur Abderrezak MESLI de l'Université d'Oran, m'a prodigué ses encouragements, a toujours fait preuve d'une grande patience, il m'a honoré de sa confiance en me remettant de nouveaux produits, synthétisés dans son laboratoire, à tester,

m'ouvrant ainsi une nouvelle voie de recherche. Je l'en remercie, ainsi que d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Madame Fadila BOULAHBAL, Professeur à l'I.S.M. d'Alger, m'a honoré de sa confiance et accepté de juger ce travail, qu'elle soit assurée de ma reconnaissance.

Madame le Docteur Nicole PASTEUR de l'Université de Montpellier, m'a ouvert le laboratoire d'électrophorèse et m'a fait participer à cette aventure passionnante, m'initiant aux techniques et à l'interprétation des résultats. Je la remercie pour son aide précieuse lors de la correction de ce mémoire, j'aurais souhaité la voir parmi nous aujourd'hui.

Monsieur le PROFESSEUR Benoît RETHER, de l'Université de Strasbourg m'a entouré et soutenu de sa confiance et son dynamisme me permet aujourd'hui de soutenir cette thèse, qu'il accepte tous mes sincères remerciements.

Je tiens également à exprimer ma sympathie et mes remerciements à :

Monsieur Salah TELLAL, chargé de cours à l'U.S.T.H.B., pour sa grande patience, son amitié, et son dévouement.

Monsieur Jacques ALTES, Professeur à l'U.S.T.H.B. pour ses discussions et ses conseils enrichissants.

Monsieur HAROUBIA , Recteur de l'U.S.T.H.B.

Monsieur CHIKHAOUI, Vice-Recteur de l'U.S.T.H.B.

Monsieur HACHAICHI, Vice-Recteur de l'U.S.T.H.B.

pour leurs concours et leurs conseils.

J'ai beaucoup apprécié l'atmosphère du laboratoire d'électrophorèse de l'Institut des sciences de l'Evolution à Montpellier, et l'accueil de l'équipe qui l'anime , Janice BRITTON-DAVIDIAN, François BONHOMME, Josette CATALAN et je les en remercie.

Mes sincères remerciements vont aussi, au "secrétariat technique" Monsieur et Madame AMIR, Madame BARAKA, Madame BENNACEUR, Mesdemoiselles ALI-HAIMOUD, Madame DJEBROUNI, Messieurs BENSALID, SAHNOUN, ALI HAIMOUD, SABAOU et les autres chercheurs du laboratoire Madame RAHMANIA , Madame BOUGUEDOURA et Monsieur BRAC DE LA PERRIERE.

A Madame BENBERNOU, à qui il a fallu une longue patience dans la course vers la meilleure présentation, comme à Monsieur BRAIFI , toujours fidèle au poste et prêt à tout, pilier de ce laboratoire, Mademoiselle RABIA et sa grande disponibilité, Monsieur NAIT DJOUDI, et encore ceux de Béni-Abbès, Monsieur KEBIR et Monsieur BENLABBAS ; Monsieur HASSANI et Monsieur MAMMERI pour leur concours technique.

D'une manière générale, que tous soient remerciés pour la part qu'ils ont prises à ce travail, qui sans eux, ne serait pas.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE PREMIER : DONNEES SUR LA FUSARIOSE

1. Historique des recherches 4
2. Symptômes 7
3. Origine géographique et progression de
la maladie 9
4. Epidémiologie10
5. Méthodes de lutte11
 - 5.1. Sélection de plantes résistantes
 - 5.2. Lutte chimique
 - 5.3. Lutte ou contrôle biologique

CHAPITRE DEUXIEME : MATERIEL ET METHODES

- I - MATERIEL20
 1. Isolement des souches de *F.o.albedinis*....20
 2. Provenance et isolement des autres souches
et espèces de *Fusarium*20
- II - MILIEUX
 1. Milieu eau gélosée23
 2. Milieu naturel solide : P.D.A.23
 3. Milieu synthétique liquide Czapeck23

III - TECHNIQUES POUR ETUDE DE LA PHYSIOLOGIE DU CHAMPIGNON

1. Technique d'isolement monospore24
2. Techniques d'ensemencement et de culture.....26
3. Techniques d'obtention des macroconidies27
4. Techniques d'obtention des chlamydospores28

IV - MESURE DE CROISSANCE

1. En milieu solide28
2. En milieu liquide28
 - 2.1. Substrat soluble28
 - 2.2. Substrat insoluble.....30

V - ELECTROPHORESE

1. Les souches32
2. Les cultures32
3. Les enzymes étudiés32
4. Préparation des extraits pour l'électrophorèse35
5. Technique d'électrophorèse36
6. Révélation des enzymes39
7. Expression des résultats40

CHAPITRE TROISIEME : APPROCHE SYSTEMATIQUE ET ESSAIS
DE CARACTERISATION BIOCHIMIQUE

I - <u>DONNEES SYSTEMATIQUE SUR <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F.SP <i>ALBEDINIS</i></u>	44
1. Place au sein du genre <i>Fusarium</i>	46
2. L'espèce <i>oxysporum</i>	46
3. La forme spéciale <i>Albedinis</i>	52
II - <u>ESSAIS DE CARACTERISATION BIOCHIMIQUE DU <i>FUSARIUM</i> <i>OXYSPORUM</i> F. SP. <i>ALBEDINIS</i>, DE QUELQUES FORMES SPECIALES ET DE QUELQUES ESPECES DE <i>FUSARIUM</i>..</u>	53
1. Rappel bibliographique	55
2. Résultats et discussion	61
2.1. Caractérisation d'une souche de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i> .	
a- essais préliminaires	61
b- effet de l'âge	63
c- effet du milieu	64
2.2. Comparaison de différentes sou- ches de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>	65
2.3. Comparaison de différentes formae speciales de <i>Fusarium oxysporum</i> ..	66
2.4. Comparaison de différentes espèces de <i>Fusarium</i>	72
III - <u>CONCLUSIONS</u>	76

CHAPITRE QUATRIEME : MORPHOLOGIE, BIOLOGIE, PHYSIOLOGIE

I - <u>MORPHOLOGIE et MORPHOGENESE</u>	84
1. Isolement du palmier	85
2. Isolement sur milieu P.D.A.....	86
II - <u>BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE DU <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i></u>	
<u>F. SP. <i>ALBEDINIS</i></u>	89
1. Germination	90
1.1. Cinétique de germination des spores..	91
1.2. Formation des tubes germinatifs.....	92
1.3. Effets de la température sur la germination des microconidies et des chlamydospores	93
2. Croissance du champignon	96
2.1. Influence de la température sur la croissance linéaire du champignon....	96
2.2. Le milieu	97
2.3. Le pH	97
2.4. La nutrition azotée	98
2.5. Action du chlorure de sodium	99
2.6. La nutrition carbonée	99

CHAPITRE CINQUIEME : METABOLISME DE FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. ALBEDINIS SUR DIFFERENTES SOURCES DE CARBONE: RAPPORTS ENTRE LEUR STRUCTURE MOLECULAIRE ET LEUR UTILISATION

I -	<u>ETUDE DE LA CROISSANCE DU FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. ALBEDINIS SUR DIVERS GLUCIDES</u>	104
1.	Rapport entre la stéréochimie des oses et quelques uns de leurs dérivés et la croissance du <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	104
2.	Rapport entre la structure moléculaire des di et triholosides et leur utilisation par le <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	105
3.	Rapport entre la structure moléculaire des polymères glucidiques et leur utilisation par le <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	106
3.1.	Résultats et discussions	106
3.1.1.	Polymères solubles	106
3.1.2.	Polymères insolubles	112
3.2.	Conclusions	118
II -	<u>ETUDE DE LA CROISSANCE DU FUSARIUM OXYSPORUM F.SP. ALBEDINIS SUR DES COMPOSANTS DE LA LIGNINE</u>	123

CHAPITRE SIXIEME : ESSAIS, IN VITRO, DE RECHERCHES DE
MOYENS DE LUTTE CONTRE FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. AL-
BEDINIS

I - <u>LUTTE CHIMIQUE : EFFET, DE MERCAPTO-2-AZOLES GLY- COLYSÉS SUR LA CROISSANCE DE FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. ALBEDINIS</u>	127
1. Action de quelques mercapto-2-azoles ribo- sylés sur la croissance <i>in vitro</i> de <i>Fusarium</i> <i>oxysporum albedinis</i>	128
2. Action de quelques mercapto-2-benzothiazoles glycosylés (xylose et arabinose sur la crois- sance de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i> .	130
II - <u>LUTTE BIOLOGIQUE : ACTIONS ANTIBIOTIQUE, MYCO- LITIQUE ET PARASITAIRE, DE DEUX ACTINOMYCETES ENVERS FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. ALBEDINIS ET AUTRES FORMAE SPECIALES</u>	135
<u>CONCLUSION GENERALE</u> :	137
<u>BIBLIOGRAPHIE</u> :	148

ANNEXES :

1. Traitement des données à l'ordinateur.

2. Lexiques

3. PUBLICATIONS

1) BOUNAGA N. 1970

2) BOUNAGA D. et BOUNAGA N. 1973

3) BOUNAGA N. 1975

4) BOUNAGA N. 1976

5) BOUNAGA N. 1977

6) BOUNAGA N. 1980

7) SABAOU N., BOUNAGA N., et BOUNAGA D. 1983

INTRODUCTION GENERALE

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est l'arbre providence des régions sahariennes. Il est bien adapté aux conditions climatiques et joue un rôle indispensable tant par sa production de fruits, les dattes, que dans l'écosystème "oasis", permettant sous son ombre la pratique de nombreuses cultures.

L'Algérie est le cinquième pays producteur de dattes* (SAAIDI 1979). En 1977, 25000 tonnes ont été exportées. Pourtant cela ne représente que le septième de la production nationale, car la datte reste la base de l'alimentation d'une grande partie des populations sahariennes. Cependant depuis la fin du siècle dernier les palmiers dattiers sont atteints par une maladie appelée localement "Bayoud" qui tue les arbres à plus ou moins brève échéance (Planche 1).

Elle a ravagé les palmeraies marocaines, où les meilleures variétés ont disparu. Elle a atteint les oasis de l'ouest et du centre de l'Algérie et menace actuellement les palmeraies de l'est où la variété Deglet Nour, très sensible, produit les trois quarts des dattes exportées

Devant ce grave problème de nombreux chercheurs ont engagé des travaux.

Le travail exposé dans ce mémoire s'inscrit dans l'ensemble des recherches menées depuis 1967 par notre laboratoire sur le Bayoud ou Fusariose du palmier dattier.

* Les données du Ministère de l'Agriculture et de la Révolution Agraire (1983) font état de 7.659.000 palmiers producteurs (dont 2.614.000 de variété Deglet Nour), pour une superficie de 71.000 hectares, produisant 181.539 tonnes de dattes, soit 2,5 tonnes à l'hectare. Or un hectare de blé produit en moyenne 8 à 10 quintaux, équivalant à 3.800.000 calories. La récolte moyenne d'un hectare de palmiers correspondrait à 10 millions de calories.

Il concerne essentiellement l'étude de l'agent pathogène : *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (KILLIAN et MAIRE) GORDON.

Il se compose de 6 chapitres :

- Le premier chapitre est un historique sur la Fusariose et sur les recherches effectuées ou en cours sur la maladie, qui devrait permettre de situer les difficultés rencontrées.
- Le deuxième chapitre concerne les "Matériels et Méthodes"; pour la partie d'électrophorèse sur gel d'amidon nous sommes familiarisée avec la technique dans le laboratoire de génétique de l'Institut de l'Evolution à Montpellier et nous l'avons montée pour notre recherche à Alger.
- Le troisième chapitre traite de la systématique du genre *Fusarium* auquel appartient le pathogène. Nous posons les problèmes liés à sa détermination et à sa reconnaissance. Une approche biochimique de caractérisation par l'électrophorèse des protéines enzymatiques est proposée. Elle peut apporter une contribution à la classification de ce genre et à l'identification du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.
- Dans le quatrième chapitre, nous exposons les caractéristiques morphologiques et rapportons quelques résultats obtenus sur la biologie et la physiologie du parasite.
- Le cinquième chapitre traite plus précisément du métabolisme glucidique du champignon qui peut être en relation avec ses capacités parasitaires.

- Dans le dernier chapitre , nous rapportons quelques résultats sur l'effet *in vitro* de molécules fongicides (synthétisées en Algérie par l'équipe de chimie du Professeur MESLI), ainsi que sur les activités antagonistes d'Actinomycètes isolés des sols des palmeraies, sur la croissance *in vitro* du pathogène. Cette dernière partie entre dans le cadre d'un programme de recherche de moyens de lutte contre la Fusariose.

Dans la conclusion nous essayons d'intégrer l'ensemble de ces résultats.

Ce travail comprend des résultats inédits et des résultats publiés qui sont introduits dans la thèse ou joints en annexe.

CHAPITRE PREMIER

DONNEES SUR LA FUSARIOSE

I - HISTORIQUE DES RECHERCHES

Les premières données sur le Bayoud ont été publiées en 1919 par FOEX et VAYSSIERE; ces auteurs décrivent les symptômes de la maladie mais pensent qu'elle est provoquée par la nature du sol et qu'il s'agit donc d'une maladie physiologique.

En 1921, SERGENT et BEGUET isolent un champignon que MAIRE détermine comme étant *Neocosmopora vasinfecta* (E.F. SMITH). Pour PINOY (1925) le champignon est un *Fusarium*, mais la maladie serait due à une asphyxie racinaire.

BALACHOVSKY (1925 et 1926), puis CHABROLIN (1930) pensent à une origine bactérienne ou virale.

KILLIAN et MAIRE (1930) isolent à nouveau le champignon qu'ils nomment *Cylindrophora*; pour eux la pénétration se fait par des blessures au niveau des palmes.

MAIRE et al. (1933) puis MALENCON, après une série d'études (1934 a et b, 1936, 1946) apportent la certitude que la maladie est une trachéomycose et identifient le champignon comme étant *Fusarium albedinis* (KILLIAN et MAIRE) MALENCON. Celui-ci le rattache plus tard à *Fusarium oxysporum* (SCHLECHT) de la section "Elegans" de WOLLENWEBER, en tant que *Fusarium oxysporum* var. *albedinis* (MALENCON) SNYD. et HANS.

Ce n'est qu'en 1965 que GORDON le classera dans les "formae speciales" des *Fusarium oxysporum* comme *Fusarium oxysporum* forma specialis *albedinis* (KILLIAN et MAIRE) GORDON, nomenclature actuellement admise.

MALENCON (1947, 1949 a et b) détermine les exigences thermiques du champignon, réalise les premiers essais de traitement de la maladie et effectue les premiers tests de pathogénicité (1950 a). Après des essais infructueux d'inoculation dans les inflorescences, il montre que l'infection se fait par les racines dans le sol (1950 b). Ces observations seront reprises et confirmées par NIXON (1950).

De 1954 à 1958, PERREAU-LEROY approfondit les données sur le Bayoud et le palmier dattier ; il répertorie les principales variétés marocaines et donne des indications sur leur résistance au Bayoud (1954, 1957, 1958).

LAVILLE et LOSSOIS (1963) étudient un foyer de Bayoud et montrent comment se fait la propagation.

TOUTAIN (1965) présente une carte de répartition du Bayoud en Afrique du Nord.

Une mise au point sur le Bayoud est publiée en 1967 par BULIT et al. Ils confirment les résultats acquis, donnent une description précise des symptômes, montrent que le champignon peut se conserver dans les fragments végétaux et qu'il peut être présent dans les sols jusqu'à un mètre de profondeur. D'après ces auteurs, il ne peut subsister dans les sols fortement salés et ne préexiste pas dans les sols désertiques. Ils affirment en outre, que les souches peuvent avoir un pouvoir pathogène différent suivant la partie de l'arbre dont elles sont isolées.

L'essentiel des travaux et programmes de recherche effectués en Algérie et au Maroc de 1962 à 1970 est présenté lors du 1er Congrès d'Agronomie saharienne à Zagora (Maroc) en 1970 et du 1er séminaire international sur

le Bayoud à Alger en 1972. Les principales interventions se rapportent aux méthodes de lutte (LOUVET et al . 1970), à la cartographie des variétés de palmier (TOUTAIN et al. 1970), à la répartition du Bayoud en Algérie (BENZAZA et al. 1970) , à la prospection (BROCHARD et DUBOST, 1970) et à la physiologie du parasite (BOUNAGA 1970, DUBOST et al. 1970). Les conclusions de ces rencontres et les priorités d'action dans la lutte contre le Bayoud sont publiées en 1974 (SNYDER et WATSON 1974).

En 1973, BOUNAGA D. et BOUNAGA N. montrent que la taille des vaisseaux, leur type , le nombre et le type de cloisons, peuvent être impliqués dans la résistance , mais que le phénomène de thyllose, proposé par de nombreux auteurs comme responsable du flétrissement provoqué par les fusarioses (DIMOND 1970, BECKMANN et al. 1972, BECKMANN et TALBOYS 1981) n'est pas en rapport direct avec la maladie , car les thylles sont présents aussi bien dans les vaisseaux de palmiers sains que malades. Ils pensent en outre que les vaisseaux pourraient être des marqueurs génétiques utilisables pour la reconnaissance des variétés de palmier dattier.

Poursuivant ses travaux sur la physiologie du pathogène, BOUNAGA publie une étude sur la germination des spores (1975) et sur la croissance des champignons (1976, 1977). Ces résultats sont exposés et complétés dans le présent travail.

En 1979, SAADI récapitule l'ensemble des résultats obtenus depuis 1962 pour la sélection de variétés résistantes au Maroc.

Les premières données sur l'analyse microbiologique des sols de palmeraies en relation avec le Bayoud

PLANCHE 2

Symptômes de la fusariose



peut déjà être atteint depuis un temps indéterminé. Ainsi pour la Fusariose du bananier, STOVER (1962) a montré que les symptômes sur les feuilles n'apparaissent que 2 à 5 mois après l'infection des racines des plantules. (Planche 3)

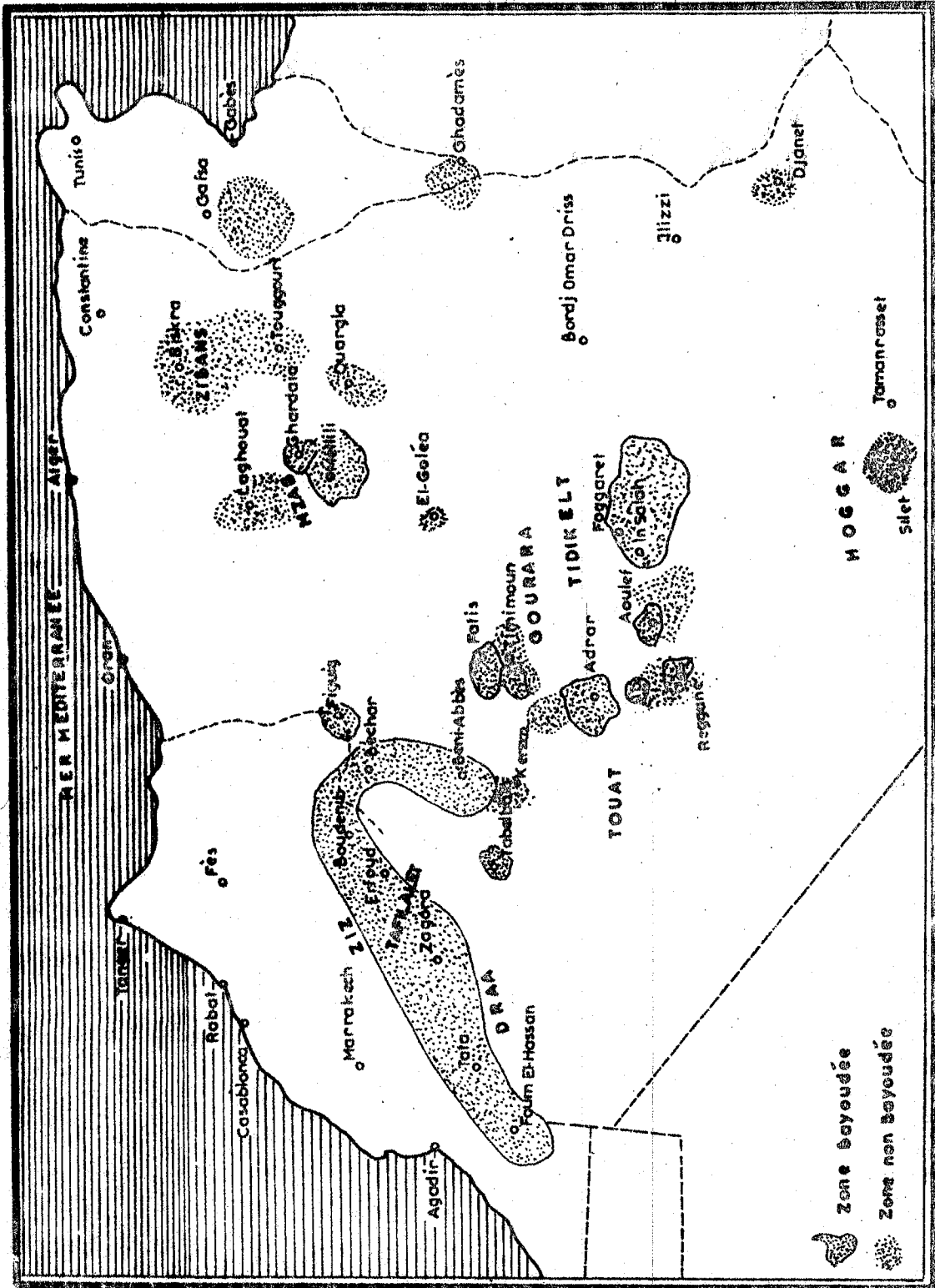
Pour le palmier, dans des conditions favorables au développement de la maladie, les symptômes peuvent apparaître 6 mois après l'inoculation sur des arbres de 5 ans, en serre, et seulement 5 ans après l'inoculation pour des individus âgés d'environ 20 ans en champs (LOUVET et TOUTAIN 1973). Ces délais particulièrement longs rendent difficiles les recherches sur cette fusariose.

L'observation d'un palmier atteint, fait apparaître que seul un petit nombre de racines, moins d'une dizaine, sont touchées alors que le palmier en compte plusieurs centaines.

L'examen des symptômes internes permet de constater le changement de couleur des tissus atteints, à partir desquels on peut généralement isoler le parasite. Dans le stipe, seuls quelques faisceaux libéro-ligneux présentent une coloration brun acajou. Celle-ci est due à l'accumulation de composés phénoliques. Grâce aux études en microscopie optique et électronique, on a pu constater la lignification des parois des cellules des faisceaux libéro-ligneux infectés (RAHMANIA 1982). (Planche 4).

Ces modifications sont décrites dans de nombreux cas de maladies vasculaires et sont mises en cause pour expliquer le phénomène de flétrissement ou "wilt" observé (BECKMANN et TALBOYS 1981).

PLANCHE 5



● CARTE DES FOYERS DE BAYOUD EN AFRIQUE DU NORD
 — D'après DUBOST et KADA (1974) LAVILLE (1977) et BOUNAGA (1979 non publié).

On peut noter par ailleurs que cette fusariose n'entraîne pas de pourrissement. Les tissus "bayoudés" sont très secs et d'une grande dureté. Le champignon s'y conserve parfaitement, pendant de longues années (plus de 8 ans) à l'état de chlamydozoospores dans les stipes et racines (LOUVET 1977); ceci contribue à la propagation de la maladie car ce bois est très utilisé par les populations locales pour la confection d'objets domestiques.

3 - ORIGINE GEOGRAPHIQUE ET PROGRESSION DE LA MALADIE

La maladie est apparue au siècle dernier dans la vallée du Draa au Maroc vers 1870 (MALENCON 1934a, PERREAU-LEROY 1954, TOUTAIN 1965) où la plupart des palmeraies sont contaminées, les meilleures variétés de dattes, exportées au 19ème siècle, la Mehjoul et la Bou-Feggous ont disparu.

Du Maroc, le Bayoud se propage vers l'Algérie en suivant deux grands axes géographiques : Ouest-Sud et Sud-Sud-Est.

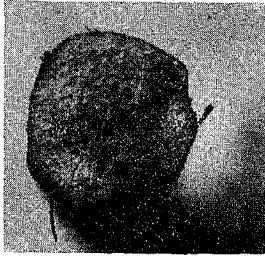
Signalé pour la première fois au Nord-Ouest du Sahara algérien à Béni-Ounif en 1898, il atteint Béchar en 1900, Béni-Abbès en 1908, Foggaret ez Zoua en 1910, Fatis en 1912, Adrar en 1923, In Salah en 1941.

D'In Salah, il "franchit" 700 km vers le Nord et, entre 1945 et 1949, la palmeraie de Metlili est atteinte.

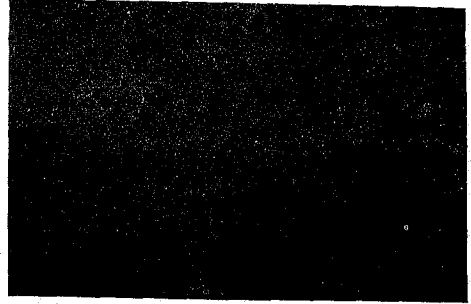
En 1975 il est signalé à Ghardaia (KADA et DUBOST 1975), puis à El Goléa en 1977 (où un traitement énergétique à base de chloropicrine semble l'arrêter) et en 1979 à quelques kilomètres de Timimoun (BOUNAGA non publié).

PLANCHE 4

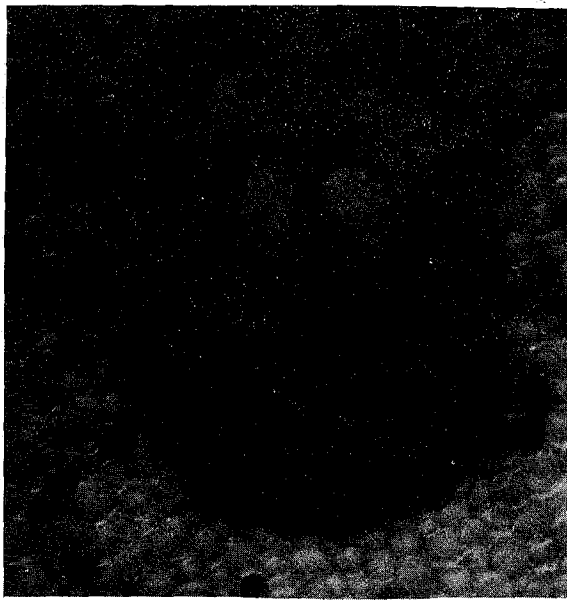
Symptômes internes de la maladie observés dans des coupes
transversales de rachis.



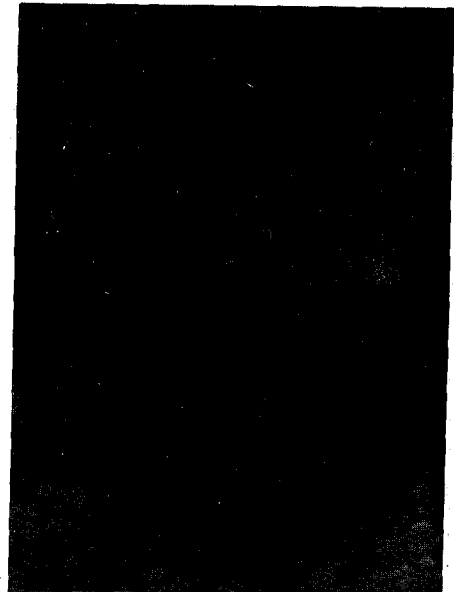
Emergence du pathogène et brunissement des
tissus atteints (G=x1).



Détail de la photo ci-contre
montrant des spores du
pathogène dans la lumière
d'un vaisseau de bois.
(G=x 2000).



Présence de tannins dans les cellules
du parenchyme (G=x200; coloration
et photo RAHMANIA, 1982).



Lignification intense d'un
Paisceau libéro-ligneux (G=x200)
(Coloration et photo RAHMANIA, 1982)

Arrivé dans le Mزاب (Metlili, Ghardaïa) le Bayoud est bien proche des palmeraies de l'Oued Rhir, où la variété "Deglet Nour" (très sensible au Bayoud) constitue des plantations presque monovariétales. Le développement de la maladie dans cette partie du Sahara aurait des conséquences économiques désastreuses. (Planche 5).

Les autres pays, producteurs de dattes semblent, à ce jour, indemnes (Planche 6).

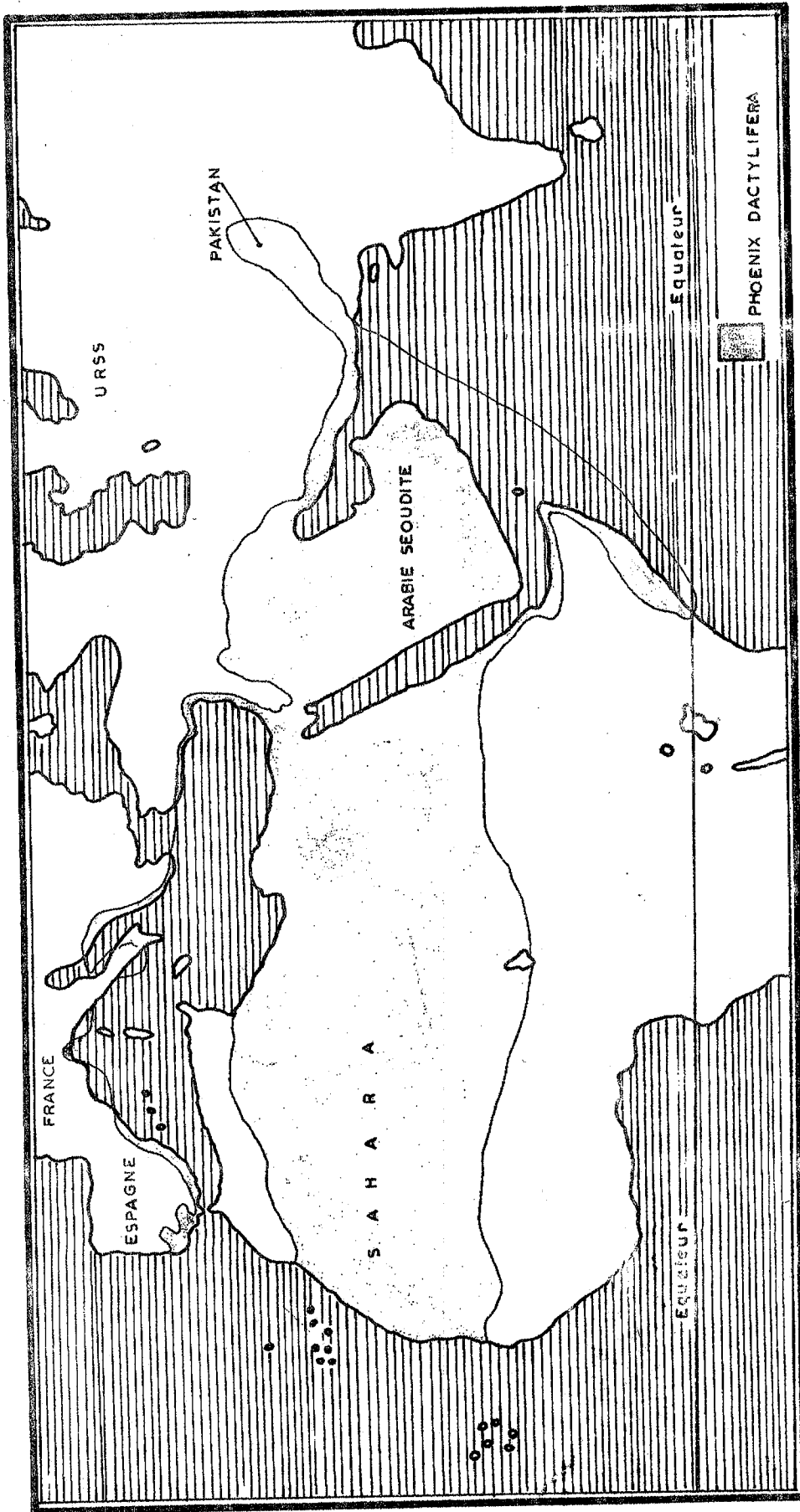
4 - EPIDEMIOLOGIE

Le pathogène est un champignon du sol pouvant être alternativement saprophyte ou parasite. D'après les auteurs, il peut survivre pendant plusieurs années sous forme de chlamydospores, dans le sol en l'absence de la plante hôte (LAVILLE 1977) ou dans les tissus du palmier dattier (LOUVET 1977).

Les travaux sur la propagation du Bayoud (LAVILLE et LOSSOIS 1963, TOUTAIN et *al.* 1970, BRÔCHARD et DUBOST 1970) ont montré que les meilleures conditions pour la culture du palmier dattier, sont aussi les plus favorables au développement de la maladie (qui n'est donc pas une maladie de faiblesse). Les cultures sous palmiers accélèrent et favorisent les épidémies à cause de l'irrigation et des pratiques culturales.

La dispersion est assurée principalement par l'homme. En effet les caravanes transportaient des rejets de palmiers et des objets faits à partir de cet arbre. Le vent a également été mis en cause dans la dispersion des propagules

PLANCHE 6



● REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES PALMIERS DATTIERS DANS L'ANCIEN MONDE
[d'après MUNIER 1973]

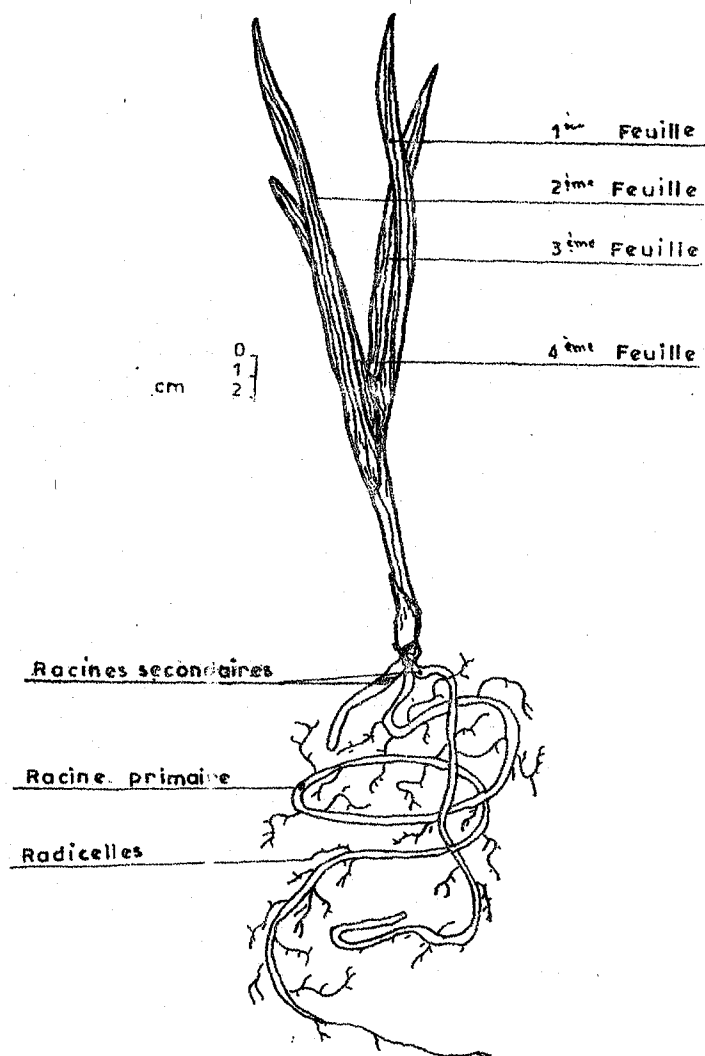
(LAVILLE 1977)mais l'incidence de ce facteur n'a pas été clairement démontrée, d'autant plus que les *Fusarium oxysporum* sont considérés comme des champignons des sols ("soil-borne fungi" fortement saprophytes (BURGESS 1981). En outre certains auteurs ont signalé des "porteurs" sains dont le henné (*Lawsonia inermis* L.) (BULIT et al., 1967 , WILHEM 1981).

D'autre part, il semblerait que le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* puisse parasiter d'autres espèces de palmiers. En effet, une fusariose vasculaire du palmier des Canaries (*Phoenix canariensis* CHABAUD) est décrite en Europe (CORTE 1972 , 1973 , MERCIER et LOUVET 1973), au Japon (ARAI et YAMAMOTO 1977), puis aux Etats Unis en Californie (MUNNECKE cité par SNYDER et NASH-SMITH 1981). CORTE puis ARAI nomment le parasite *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. LOUVET (communication personnelle) le nomme *Fusarium oxysporum* f. sp. *canariensis*, et pour SNYDER et NASH-SMITH (1981) il ne peut s'agir de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* car les symptômes ne sont pas exactement les mêmes que ceux du Bayoud.

5 - METHODES DE LUTTE

Le Bayoud, ou fusariose du palmier dattier est une trachéomycose, maladie vasculaire , et en tant que telle déjà très difficile à combattre. De nombreux travaux de recherches ont été consacrés à ces maladies mais les résultats ne sont pas satisfaisants (NELSON et al. 1981 , MACE et al. 1981). Quand elles touchent des plantes annuelles ou

PLANCHE 7



PLANTULE DE PALMIER DATTIER
[Age 1 an]

(D'APRES D. DUBOST ET A. KADA 1974)

bisannuelles, des solutions peuvent être trouvées. Mais le palmier dattier, *Phoenix dactylifera*, est une plante pérenne, monocotylédone arborescente, dioïque, fortement hétérozygote, à croissance lente et à production tardive (5 à 10 ans).

Les arbres mâles et femelles sont donc des hybrides non fixés. Les semis donnent naissance à des populations d'individus qui ne présentent pas les mêmes caractères que l'arbre femelle dont ils sont issus (Planche 7). Les palmiers femelles qui sont les seuls à assurer la production de fruits sont multipliés végétativement par clonage (rejets) seule façon de conserver les qualités des fruits. Ces derniers permettent de nommer les variétés.

Les palmiers mâles ne sont donc pas reconnus en tant que variétés : ils sont issus de graines, ne sont généralement pas "clonés" et ne constituent donc jamais des populations homogènes.

Ces caractères constituent autant de "handicaps" pour la lutte contre le Bayoud. Les méthodes envisagées devront en tenir compte impérativement. Dès que la maladie fut connue, et avant même que le parasite soit nommé, les chercheurs ont reconnu son caractère épidémique et les premières mesures prophylactiques ont été prises. Elles ont été appuyées par différents arrêtés en 1939, 1945, 1949, 1969, et rappelées à maintes reprises (MAIRE 1933, MALENCON 1947, 1949a, PEREAU-LEROY 1958, BULIT et al. 1967, LOUVET 1974, SNYDER et WATSON 1974).

Comme pour les autres maladies, les méthodes de lutte sont de trois types : la sélection de plantes résistantes, la lutte chimique et la lutte biologique. Nous exposerons brièvement les travaux effectués et les programmes en cours.

5.1. Sélection de plantes résistantes

Dés 1930 KILLIAN et MAIRE, puis MAIRE (1933) signalent l'existence de variétés résistantes, au Maroc; ils notent que cette résistance est variable suivant la région. MALENCON en 1945, puis PEREAU-LEROY (1957 et 1958) entreprennent des programmes de sélection et ce dernier publie la première liste des variétés marocaines résistantes au bayoud. Il reconnaît des variétés hautement résistantes (qu'il qualifie d'immunes), modérément résistantes, sensibles et très sensibles. Ce programme est ensuite repris par l'équipe de LOUVET et permettra de confirmer la résistance des variétés marocaines (SAAIDI 1979, SAAIDI et al. 1981).

En Algérie peu de travaux ont été faits. Une seule variété a été reconnue résistante, la "Takerbouchet". Cette variété issue du Sud-Ouest du Sahara algérien (Adrar) n'a pas toutes les qualités requises pour produire des dattes d'exportation, même si elle est appréciée dans sa région d'origine. D'autre part l'effet des conditions de milieu (température, humidité, type de sol, eau) sur la qualité du fruit, rend nécessaire une sélection par région. Un premier programme de sélection a été mis en place à Adrar (KELLOU et DUBOST 1974) mais on n'en connaît pas encore les résultats.

Cependant durant toutes ces années, aucune étude n'a été faite sur le niveau et le type de résistance, et il est possible que comme au Maroc, on constate au bout de dix ans, que certaines variétés considérées comme résistantes, ne le soient pas. C'est pourquoi les programmes actuellement en cours en Algérie, sont orientés dans plusieurs directions de recherches appliquées et de recherches fondamentales.

a - La prospection systématique des palmeraies atteintes (déjà entamée BOUNAGA et al. 1980, 1981) devrait permettre :

- de repérer les variétés femelles résistantes au bayoud, qu'il serait souhaitable de multiplier par micropropagation *in vitro*. En effet le palmier ne produit naturellement qu'un petit nombre de rejets qui peuvent servir à sa propagation, et les essais pour en augmenter la production n'ont pas donné de résultats satisfaisants (LOUVET et TOUTAIN 1973). Par culture de tissu, il est actuellement possible de reproduire le palmier dattier (RHISS et BEAUCHESNE 1979, FINKLE et al. 1979, TISSERAT 1979, 1980, TISSERAT et al. 1981, BENBADIS et AMAR 1981), mais les difficultés sont nombreuses car chaque variété possède des aptitudes morphogénétiques particulières (BOUGUEDOURA 1979, 1980, 1983). Cependant cette multiplication conforme de géotypes avantageux recèle un énorme risque : exercer sur le *Fusarium oxysporum albedinis* une pression de sélection unidirectionnelle ; le champignon pourrait alors être capable de surmonter cette résistance.

- de rechercher de nouvelles variétés issues de graines (appelées localement "Khalt" Deguel " ou "SaTr") qui ont poussé

naturellement dans les foyers bayoudés (qui possèdent probablement une certaine résistance) et qui produisent des fruits de bonnes qualités. Les rejets issus de ces "Khalt" sont eux mêmes plantés en parcelles infectées.

b - La création de variétés résistantes est un programme important mais qui nécessite une connaissance certaine de la génétique du palmier dattier. Celle-ci pour des raisons évoquées précédemment, est très mal connue. Les seuls travaux qui ont été réalisés aux Etats Unis (NIXON 1962) et en Algérie à El Arflane en 1958 (BROCHARD 1974) avaient pour but d'obtenir à la suite de plusieurs back-cross, la possibilité de multiplier certaines variétés de haute qualité fruitière, par graine. Les variétés concernées étaient principalement la Medjhoul et la Deglet Nour, toutes deux très sensibles à la maladie.

Pour lutter contre le bayoud, il s'agirait d'introduire par croisements dirigés des gènes de résistance dans une variété à haute qualité fruitière. Mais ces études sont longues et difficiles car elles ne sont pas à l'échelle humaine à cause des délais de croissance et de fructification du palmier. Il serait également souhaitable de répertorier et d'analyser les palmiers mâles (de préférence en foyer bayoudé) en se basant sur des critères biochimiques, chimiques, ou autres, dans l'espoir de trouver des variétés ressemblant aux palmiers femelles résistants.

SI l'utilisation de variétés résistantes constitue à l'heure actuelle le procédé de lutte pour la reconstitution des palmeraies, le plus efficace et le plus répandu,

Il n'en demeure pas moins qu'elle permet généralement l'expression plus ou moins rapide de nouveaux pathotypes. Ceci a été démontré pour les Fusarioses du bananier, du cotonnier, du pois, du melon et de la tomate (ALABOUVETTE 1983) et par conséquent, ce problème doit être toujours envisagé.

Les études fondamentales en cours dans notre laboratoire :

- sur la reconnaissance des variétés et des palmiers mâles,

- sur les mécanismes de sexualité et la transmission des caractères,

- sur la reconnaissance précoce du sexe (la plante ne donne ses premières fleurs qu'au bout de 5 ans) et l'étude de pollen,

- enfin sur les caractéristiques biochimiques liées à la résistance, permettront une meilleure connaissance du problème et une plus grande efficacité dans les moyens de lutte à long terme.

5.2.- Lutte chimique

Dès 1945 MALENCON essaye de traiter le Bayoud par injection d'oxyquinoléine dans le stipe de plusieurs centaines de palmiers, mais sans aucun résultat. Les expérimentations faites ultérieurement ont permis de tester les effets *in vitro*, de fongicides (SAAIDI et RODET 1974, SURICO 1976, BOUNAGA 1980).

Cependant plusieurs études ont montré que des substances peuvent produire un effet différent si elles sont utilisées *in vivo* ou *in vitro* (SBRAGIA 1975).

En outre, chez le palmier dattier les plantules constituent un stade très différent morphologiquement, physiologiquement et génétiquement de l'adulte. Les tests sur plantules effectués par SURICO (1976) et SELVARAJ (1978) sur l'efficacité du bénomyl contre le bayoud ne peuvent être, à ce titre qu'indicatifs.

Un essai d'éradication d'un foyer primaire a été tenté en Algérie, à El Goléa en 1977, par stérilisation des sols à la chloropicrine et par arrachage et destruction des arbres, atteints ou non, dans le périmètre traité.

Ce traitement drastique semble efficace car aucun cas de bayoud n'a été signalé à ce jour c'est-à-dire 5 ans après l'intervention. Pourtant dans le cas de la Fusariose de la tomate, il a été démontré que l'efficacité de la lutte chimique est pratiquement nulle dans des conditions normales. La destruction de l'inoculum dans le sol grâce à divers fumigants n'est jamais totale et aucun des fongicides actuellement commercialisés ne protège correctement les plantes, car leur diffusion dans le système racinaire reste très limitée (ALABOUVETTE 1983).

Si la nécessité d'utiliser des fongicides s'impose, ces derniers doivent être le moins toxiques et le plus spécifiques possible. La mise au point de fongicides ribosylés (GOSSELIN et al. 1978, DIARRA 1980) répondait à ces préoccupations. Cependant BOUNAGA (1980 en annexe) montre que ces produits deviennent alors inactifs sur le parasite.

Même en utilisant des produits actifs LOUVET et BULIT (1973) et LAVILLE (1977) pensent que les cultures de dattiers ne peuvent supporter le coût de ces traitements.

D'autre part un nombre important des produits utilisés, est cancérigène (FISHBEN et al. 1972 DASSE-NOY et MEYER 1973), et mutagène, entraînant l'apparition de souches résistantes (DAVIDSE 1977, DEKKER 1977, BOUHOT 1981, SOZZI et GESSLER 1980, ALABOUVETTE 1983). De plus, leurs effets toxiques sur la "chaîne" ou la "pyramide" écologique ont également été étudiés et démontrés (RAMADE 1974, 1976).

Le traitement du sol bayoudé par voie chimique semble donc, à la suite de toutes ces études, poser de sérieux problèmes d'ordre économique, social, technique et éthique.

5.3. Lutte ou contrôle biologique

La remise en cause des méthodes de lutte génétique (par sélection de variétés résistantes) et chimique (par l'apparition de souches ou de races nouvelles des pathogènes et par pollution) et le développement de l'écologie des champignons phytopathogènes, a remis à l'honneur les études sur le contrôle biologique (BAKER 1968 et 1981, BAKER et COOK 1974, BRUEHL 1976).

GARRET (1965) définit le contrôle biologique comme la réduction d'une maladie par l'action d'un ou de plusieurs organismes vivants autres que l'hôte ou l'homme. Les mécanismes mis en route doivent agir soit directement sur le pathogène (par antagonisme) soit par l'intermédiaire de l'hôte (prémunition). Trois types d'antagonismes sont reconnus : l'antibiose, la compétition et l'exploitation (prédation ou parasitisme).

Si pour les autres Fusarioses un grand nombre de travaux ont été réalisés dans cette voie, pour la Fusariose du dattier, les seules tentatives et recherches en cours sont, à notre connaissance, celles de notre laboratoire. Elles comprennent des études, sur la microbiologie des sols rhizosphériques (ALI HAIMOUD et al. 1979, CHAMI et BOUNAGA 1979), sur les exsudats racinaires (BENNACEUR 1981) et sur les antagonistes (SABAOU 1979, 1980, SABAOU et al. 1980, 1981, 1983, AMIR 1981, AMIR et SABAOU 1983).

Cette longue revue bibliographique donne une idée des connaissances sur la Fusariose du Palmier dattier et sur les problèmes qu'elle soulève, dûs à la méconnaissance du pathogène, de l'hôte et des rapports hôte-parasite.

Une des approches essentielles dans une maladie est donc de connaître les protagonistes et d'abord l'organisme responsable: le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Dans le travail exposé dans les chapitres suivants, nous essayerons de décrire et de caractériser ce pathogène, de comprendre les mécanismes physiologiques qui lui permettent de provoquer la maladie et qui le différencient éventuellement des autres *Fusarium*.

La pathogénicité d'un germe est la capacité de produire une maladie dans l'organisme hôte. Le champignon doit être apte à survivre dans le sol, à pénétrer dans les racines, donc à s'adapter à un mode de vie différent, à résister aux mécanismes de défense de l'hôte et à se multiplier dans ce dernier.

Les caractères du champignon sont donc la clé de ces étapes.

CHAPITRE DEUXIEME

MATERIEL ET METHODES

I - MATERIEL

1 - isolement des souches de *Fusarium oxysporum albedinis*

Un grand nombre de souches α été utilisé dans ce travail. La liste complète est donnée dans le tableau I, avec la date, le lieu et la variété de palmier dont elles proviennent.

Elles ont été pour la plupart isolées de rachis de palmiers malades, ce qui nous donne plus de chance d'obtenir un "*albedinis*", car on peut fréquemment isoler d'autres *Fusarium* du cortex des racines des plantes ou de la base du stipe. De plus, pour BULIT et al. (1967) les souches du rachis auraient un pouvoir pathogène plus élevé.

L'isolement se fait en déposant, après stérilisation à la flamme, un morceau de rachis présentant des taches brunes soit sur tube de milieu gélosé (Potato-Dextrose-Agar), soit dans des tubes stériles vides ou contenant 2 ml d'eau distillée (Planche 8).

La plupart des souches ont fait l'objet d'isolement monospores ("m"). Les souches 1 à 3 (F₅ mol, Aol, M2m) ont été utilisées pour les essais biologiques et physiologiques ; les autres (3 à 32) pour la caractérisation par électrophorèse.

2 - Provenance et isolement des autres souches et autres espèces de *Fusarium*

Dans le tableau 2 nous donnons la liste des autres *Fusarium* que nous avons étudiés.

La 1ère série (souches 33 à 39) est constituée par des souches de *F. oxysporum* parasites d'autres plantes. Elles proviennent de la collection de M. LOUVET (Dijon) et de M. RENARD (Côte d'Ivoire). La 2ème série comprend les souches 40 à 44 isolées de palmiers malades, la 3ème série les souches 44 à 48, provenant des sols de palmeraies.

TABLEAU I

Liste des souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*
(COLLECTION BOUNAGA N.)

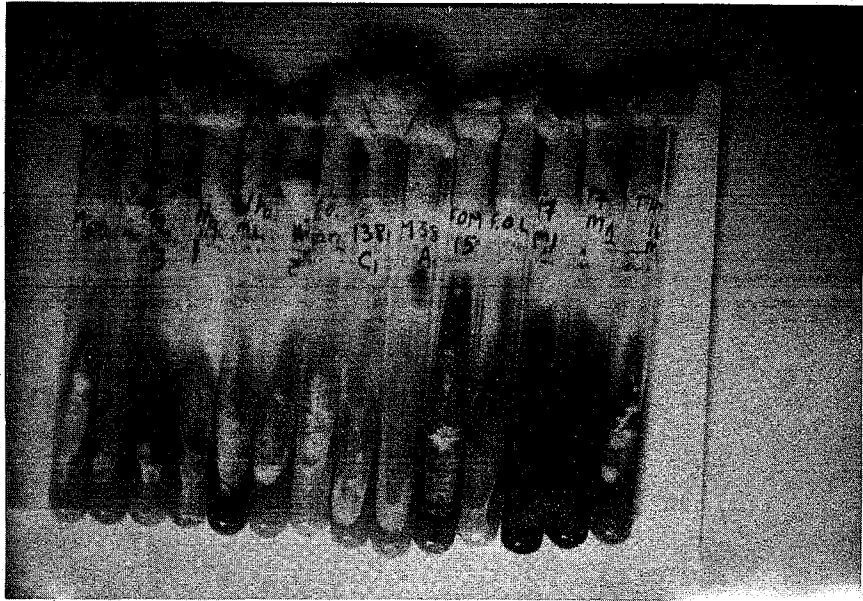
Souches dénomination	Variétés de palmiers dattiers	date du isolément	Lieu géographique	Remarques
1. F5 mol	Tazerzait	1967	In Salah	Souches utilisées pour les études physiologiques
2. A01	Tgaza	1972	Adrar	
3. M2m *	Tafazouaine	1973	Metlili Mزاب	
4. 2 Azm	Azerza	1976	Metlili	Souches "m" ont fait l'objet d'isolements monospores
5. B2m1	Timliha	1977	Béni-Abbès	
6. B2m3	Timliha	1977	Béni-Abbès	"s" souches sauvages même arbre que B2 mais autres palmes
7. A2 s	Timliha	1977	Béni-Abbès	
8. C2 s	"	"	"	
9. G2 s	"	"	"	"s" souche sauvage "m" isolements monospores de Khl
10. Khs	Khalta	1979	Béni-Abbès	
11. Khm1	"	"	"	
12. Khm4	"	"	"	
13. Khm5	"	"	"	"s" souche sauvage "m" isolements monospores de Gh1
14. Gh.5	Ghares	1979	Béni-Abbès	
15. ghm1	"	"	"	
16. ghm6	"	"	"	
17. ghm7	"	"	"	"s" souches sauvages " " " " " " " " "
18. Tim1.As	Timliha	1979	Adrar	
19. As.s	Addam	"	Timimoun	
20. Hei.5s	Heimera	"	"	
21. Har.s	Hartane	"	"	
22. Feg.s	Feggous	"	"	
23. Ouz.s	Ouzmigue	"	"	
24. Tin.s	Tindoukan	"	"	
25. Tak.s	Taksaya	"	"	
26. Tinas	Tinasser	"	"	
27. TK.s	Takerbouchet	1979	Metlili	"
28. Rh.s	Rhars	"	"	"
29. AZ.79s	Azerza	"	"	"
30. D.N.s	Deglét-Nour	"	"	"
31. D.N.2.s	"	"	"	"
32. Adda.s	Addala	"	"	"

* M2m enregistrée à Berkeley (ATCC n° 38448)

** KHALTA : à Béni-Abbès, les dattiers appelés "Khalta" ne sont pas des variétés. Ce sont des palmiers issus de semis (leur nom signifie mélange).

*** La Takerbouchet est en principe une variété résistante de la région d'Adrar. Mais il existe une variété dénommée Takerbouchet à Métlili d'où la souche a été isolée. (Cependant bien que portant le même nom il n'est pas sûr que ce soit la même variété).
(KADA et DUBOST, 1975)

PLANCHE 8 bis



Aspect de quelques souches de Fusarium citées
dans les tableaux 1 et 2.



Fusarium moniliforme sur milieu PDA

TABLEAU 2
Liste des *Fusarium* étudiés

Souches dénomination Abréviation	<i>Fusarium</i> sp.	Plante hôte/ou sol	Origine	date d'i- solement	Collec- tion
33. F.o.l.8	<i>F.o.f. sp. lycopersici</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i> MILL. (tomate)	France	Inconnue	LOUVER
34. F.o.m.15	<i>F.o.f. sp. melonis</i>	<i>Cucumis melo</i> L. (melon)	"	"	"
35. F.o.can.	<i>F.o.f. sp. canariensis</i>	<i>Phoenix canariensis</i> CHABAUD (palmiers des Canaries)	"	"	"
36. F.o.e.M381A	<i>F.o.f. sp. eleoidis</i>	<i>Elaeis guineensis</i> JACQ. (palmiers à huile)	Côte d'Ivoire	"	RENARD
37. F.o.e.M381C	"	"	"	"	"
38. F.o.d.	<i>F.o.f. sp. dianthi</i>	<i>Dianthus caryophyllus</i> L. (oaillet)	France	"	LOUVER
39. F.o.cong.	<i>F.o.f. sp. conglutinans</i>	<i>Brassica oleracea</i> L. (choux)	"	"	"
40. Kheim. A	<i>F. equiseti</i>	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Adrar	1979	BOUNAGA
41. Heim. T.	<i>F. equiseti</i>	"	Timimoun	1979	"
42. Met. Taf.	<i>F. equiseti</i>	"	Metlili	1979	"
43. Tgaz. F.	<i>F. acuminatum</i>	"	Timimoun	1979	"
44. THmh	<i>F. montiforme</i>	"	Béni-Abbès	1979	"
45. 19TG	<i>F. solani</i>	Sol de palmeraie	Béni-Abbès	1978	SABAOU
46. TK24	<i>Fusarium</i> sp.	"	"	1978	LAOUFI
47. TH16ml	<i>F. acuminatum</i>	"	"	1978	"
48. TK5-4RP	<i>F. equiseti</i>	"	"	1978	"

II - MILIEUX

1 - Milieu : eau gélosée:

Il est préparé en faisant fondre 15 g de gélose dans un litre d'eau distillée puis est stérilisé .

Ce milieu est utilisé pour les isollements monospores et les expériences sur la germination.

2 - Milieu naturel solide : Potato-Dextrose-Agar(P.D.A.)

Il permet généralement de caractériser les *Fusarium* (TOUSSOUN et NELSON 1968). Il est utilisé comme milieu de maintenance, sa composition est la suivante :

- 250 g de Pommes de terre épluchée (P.)
- 10 g de Dextrose (=glucose) (D.)
- 20 g d'Agar (A.)

- Il peut être préparé de deux façons :

en mixant les 250 g de Pommes de terre cuites et en les mélangeant au reste du milieu, ou en utilisant uniquement le filtrat de cuisson des pommes de terre. Il est stérilisé à l'autoclave pendant une heure à 120°C puis distribué aseptiquement dans des boîtes de pétri ou des tubes stériles.

3 - Milieu synthétique liquide Czapeck-Dox

La composition de ce milieu, appelé Czapeck-Dox (THOM et RAPER 1968) ou encore Saccharose-nitrate (LILLY 1965) est donnée dans le tableau 3.

TABLEAU 3

Composition originale du Czapeck-Dox

Nitrate de sodium	NO_3Na	3g
Phosphate de Potassium monopotassique	$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	1g
Chlorure de Potassium	K Cl	0,5g
Sulfate de Magnésium	$\text{SO}_4\text{Mg}, 7\text{H}_2\text{O}$	0,5g
Sulfate de fer ferreux	$\text{SO}_4\text{Fe}, 7\text{H}_2\text{O}$	0,01g
Saccharose	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	30g
Eau distillée	H_2O q.s.p.	1000 ml.

Ce milieu a été modifié pour les besoins des expériences : le nitrate de sodium est remplacé par le phosphate d'ammonium (bi-ammonique) à raison de 2,25g/l soit 0,47g/l d'azote ; et le saccharose est remplacé successivement dans chaque expérience par la source de carbone à étudier (Tableau 4). Pour les sucres insolubles ils sont ajoutés en quantité nécessaire (12g/l de carbone) dans chaque erlenmeyer.

Le milieu liquide est réparti à raison de 50 ml par erlenmeyer de 250 ml, puis tyndallisé à l'autoclave trois fois quinze minutes, à 90°C., à un jour d'intervalle. Lorsque des méthodes spéciales sont utilisées pour des expériences particulières, elles sont indiquées au moment opportun.

III - TECHNIQUES POUR ETUDE DE LA PHYSIOLOGIE DU CHAMPIGNONI - Technique d'isolement monospore

Quelques gouttes de suspension de spores (de faible concentration) sont étalées sur la surface d'un milieu gélosé

TABLEAU 4

Liste des sources de carbone utilisées dans les milieux.*

1 - Sources de carbone aliphatiques

- Adonitol (ribitol)
- Aldéhyde glycérique
- Dulcitol (galactitol)
- Mannitol
- Meso-érythritol
- Méso-inositol (myo-inositol)
- Sorbitol

2 - Oses

- Arabinose L (+)
- Arabinose D (+)
- Arabinose DL
- Fructose D (-)
- Galactose D (+)
- Glucose D (+)
- Mannose D (+)
- Rhamnose L (+) = 6 Déoxy-Mannose
- Sorbose L (-)
- Xylose D (+)

3 - Ac. uroniques et polygalacturoniques

- a. galacturonique
- a. glucuronique
- a. pectique

4 - Di et triholosides

- Cellobiose
- Lactose
- Maltose
- Mélibiose
- Palatinose
- Raffinose
- Saccharose
- Tréhalose
- Turanose

5 - Polysaccharides

- Amidon
- Dextrane
- Dextrine
- Inuline
- Pectine
- Cellulose
- Laminarine ou callose

6 - Dérivés de la lignine

- ac. syringique
- aldéhyde syringique

* Produits Fluka

à 15g/l en boîte de pétri stérile. Des bandes de gélose sont découpées sur lames et observées au microscope ; on peut alors repérer les spores et choisir au grossissement le plus faible, un champ dans lequel il n'y a qu'une seule spore. On centre la lumière sur celle-ci et on diaphragme de façon à n'en laisser passer qu'un très petit faisceau. Après avoir relevé l'objectif on peut découper aisément la surface de gélose éclairée en suivant la trace du faisceau lumineux. Le petit carré de gélose est ensuite déposé sur un milieu adéquat (P.D.A.). Cette technique présente l'avantage de ne pas nécessiter de micromanipulateur et permet un gain de temps considérable.

2 - Techniques d'ensemencement et de culture

- a - Sur milieu solide l'ensemencement est réalisé à partir d'une culture sur P.D.A. de *Fusarium*, âgée d'une semaine
- soit par suspension de spores, distribuée de façon ponctuelle à raison d'une goutte par boîte à l'aide d'une pipette Pasteur stérile,
 - soit par transfert calibré de disques de mycélium de 5mm de diamètre,
 - soit pour les repiquages de maintenance, par transfert massif de mycélium. Les boîtes sont incubées à 28°C ou à la température expérimentale choisie.
- b - En milieu liquide, les erlenmeyers sont ensemencés avec 1 ml d'une suspension de spores à l'aide d'une seringue de Cornwall.

Ils sont ensuite placés à l'obscurité à 28°C sur un agitateur rotatif (Karl Kolb) à 90 tours par minute, vitesse utilisée par de nombreux chercheurs en physiologie des champignons (COCHRANE et COCHRANE 1971, KIDD et WOLF 1973).

3 - Techniques d'obtention des macroconidies

Les *F. oxysporum* ne produisent que très peu de macroconidies dans les conditions de laboratoire et le *Fusarium oxysporum albedinis* n'en produit pas du tout.

Les techniques utilisées avec succès par d'autres auteurs (utilisation de différents types de lumière, utilisation de différents milieux, MILLER 1955, REID 1958, WILSON 1960, FRENCH et NIELSEN 1966, COCHRANE et COCHRANE 1966, BONN et CAPPELLINI 1970, BOUHOT 1972), pour augmenter la production de macroconidies de différentes espèces de *Fusarium* nous ont donné des résultats négatifs chez *Fusarium oxysporum albedinis* (BOUNAGA 1970, en annexe).

Cependant nous avons pu remarquer qu'au premier isolement des souches sauvages en présence de tissu de palmier, il y avait une production massive de sporodochies et de macroconidies qui sont donc étudiées dans la suite du travail.

Les essais pour en obtenir d'une souche anciennement isolée en la remettant sur palmier, n'ont à ce jour donné aucun résultat.

4 - Techniques d'obtention des chlamydo-spores

Les chlamydo-spores sont obtenues :

- soit dans des cultures âgées, où elles se forment spontanément par appauvrissement du milieu,
- soit en recouvrant des cultures de 8 jours, de faïence, de sable, ou de terre,
- soit en plaçant du mycélium dans l'eau distillée.

5 - Techniques d'observation

Les observations du champignon sont faites au microscope optique en présence de bleu coton.

Les photographies ont été réalisées avec un microscope Leitz orthoplan.

IV - MESURE DE CROISSANCE

1 - En milieu solide

La croissance en boîte de pétri est appréciée en mesurant quotidiennement deux diamètres perpendiculaires de chaque colonie.

- En tube, la croissance linéaire est mesurée.

2 - En milieu liquide

2-1- Substrats solubles

La mesure de la croissance du champignon se fait dans tous les cas possibles par détermination du poids sec de mycélium après un certain temps de croissance (variable avec les expériences).

Le mycélium est retenu par filtration sur un couple de papiers filtres équilibrés. Les filtres sont mis à l'étuve

à dessécher à 80°C pendant 24h., puis pesés l'un après l'autre. La différence de poids permet d'obtenir le poids sec de mycélium (à 2 mg près); les données en mg. correspondent à la moyenne arithmétique des résultats de trois essais. Pour les expériences sur les sources de carbone, en raison du grand nombre de sources fournies au champignon, de la répétition des essais et des contraintes mécaniques dues à la taille de l'agitateur dont la capacité est égale à 100 erlenmeyers, il ne nous a pas été permis de conduire simultanément toutes les expériences. Celles-ci ont été groupées par séries et effectuées à tour de rôle dans les mêmes conditions de préparation, de tyndallisation et d'ensemencement. Cependant la concentration en spores des suspensions utilisées dans chaque série n'est pas calculée, (l'estimation à l'hématimètre entraîne de trop grandes erreurs comme l'ont montré LOPEZ et FERGUS 1965). Aussi avons-nous pris la précaution d'effectuer avec chaque série d'expériences trois essais de croissance de la souche étudiée, en présence de glucose comme référence.

Les résultats, afin d'être comparables, sont exprimés en pourcentage de croissance sur une source de carbone, calculé comme suit :

$$P = \frac{X}{Y} \times 100$$

X étant le poids sec de mycélium obtenu après 9 jours, sur la source de carbone à tester ; Y, le poids sec du mycélium obtenu après le même temps, sur glucose.

L'ensemencement en spores pour X et Y provient de la même suspension. Dans la plupart des expériences, nous avons rapporté le pH initial (pH ini.) après tyndallisation du milieu, et avant l'ensemencement ; et le pH final (pH fin.) des filtrats des milieux de culture en fin d'expérience. Ils sont mesurés au moyen d'un pH mètre de type Méthrom Herisau (E. 350 B.).

2.2. Substrats insolubles (cellulose et laminarine)

Le contenu des erlenmeyers est filtré sur filtre de verre, rincé à l'eau distillée, centrifugé à 3000 tours/minute à 3 reprises après rinçage à l'eau distillée.

- Le mycélium recueilli est lyophilisé puis pesé.
- Le matériel lyophilisé est broyé à sec ; des fractions de 5 mg sont soumises à hydrolyse dans HCl 4N (2 ml ou 4 ml) pendant 24h à 100°C en tubes scellés.
- Les tubes sont ensuite évaporés en présence de KOH.
- Les résidus secs sont repris par 10 ml d'eau distillée et la glucosamine est dosée par spectrophotométrie, suivant la technique d'ELSON MORGAN (TRACEY et PEACH 1955 modifiée par LOISELEUR (1963)).
- Le dosage est basé sur la propriété qu'ont les glucosamines de réagir avec l'acétyl-acétone, grâce à leur groupement amine, pour donner un complexe qui se colore en rose violacé avec le p-diméthyl-amino-benzaldéhyde. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de glucosamine.

- **Protocole expérimental :**

Dans une série de tubes en pyrex, on introduit 1 ml de solution à titrer et 1 ml de réactif I (1 mM d'acétyl-acétone redistillé, est dissous dans 50 ml de carbonate de sodium 0,5N, juste avant l'emploi).

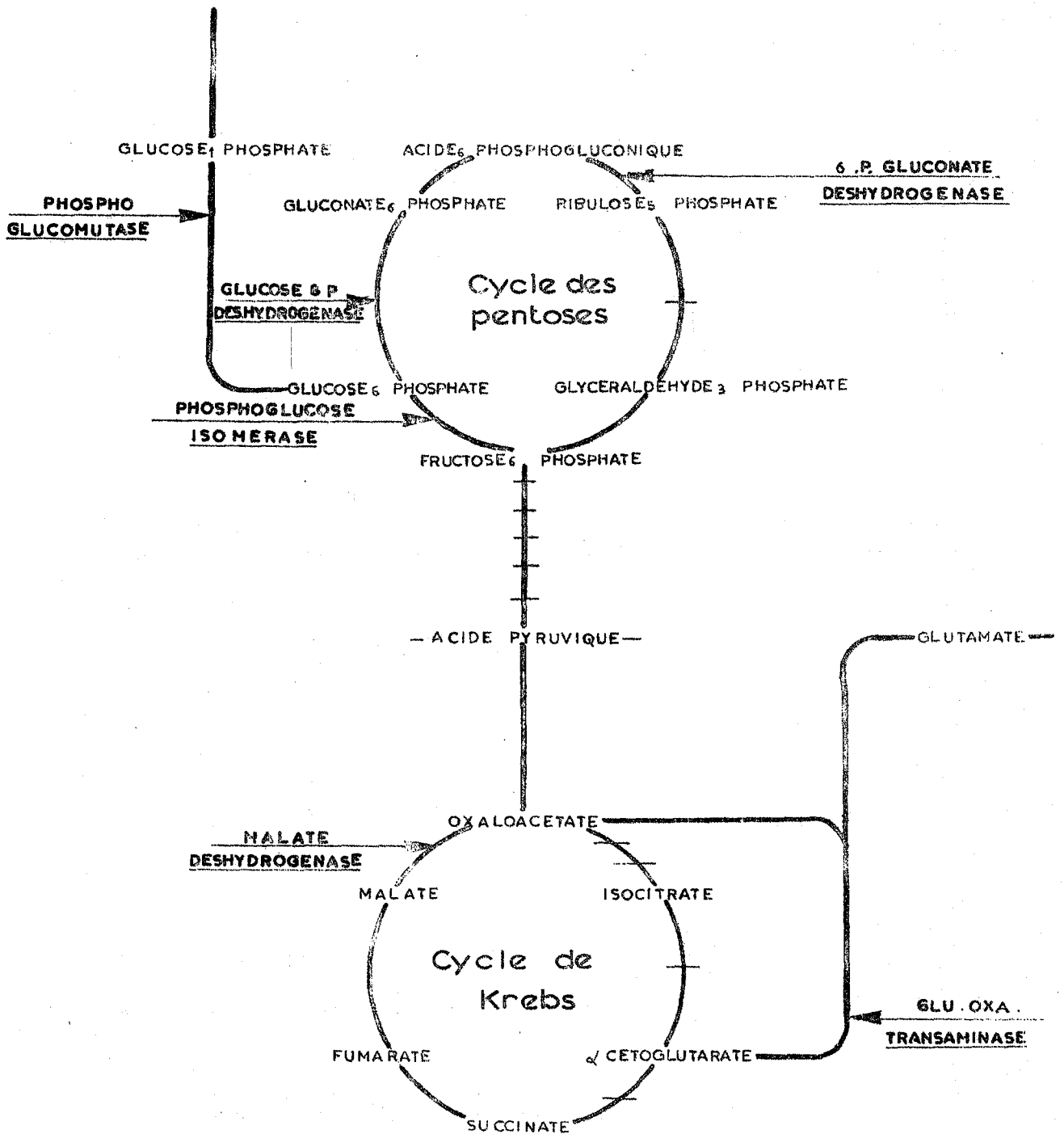
Le mélange est bien agité et la paroi des tubes est rincée avec 1 ml d'eau distillée.

Les tubes, fermés par des bouchons de verre, sont chauffés dans un bain marie bouillant, pendant vingt minutes. Ils sont ensuite refroidis dans un bain d'eau froide. Puis, on ajoute dans chaque tube 5 ml d'éthanol, 1 ml du réactif II (0,8 g de p-diméthyl-amino-benzaldéhyde sont dissous dans 30 ml d'éthanol, on ajoute ensuite 30 ml d'HCl concentré) et on complète à 10 ml avec de l'éthanol. Après chaque addition, le mélange doit être bien agité. Les tubes sont ensuite chauffés dix minutes dans un bain marie à 65°C. pour accélérer la libération du gaz carbonique.

Au bout d'une demi heure, lorsque le dégagement gazeux est terminé, nous lisons la densité optique au spectrophotomètre (Zeiss-PM 2 DL) à 520 nm.

Une courbe d'étalonnage est tracée avec des quantités connues de glucosamine. La quantité de glucosamine contenue dans les parois du champignon poussant sur glucose et sur pectine rapportée au poids sec de champignon sert de référence et permet de calculer le poids de mycélium sur substrat insoluble.

PLANCHE 9



PLACE DES SYSTEMES ENZYMATIQUES
ETUDIES [Soulignés] DANS LE CYCLE
ENERGETIQUE

V - ELECTROPHORESE

1 - Les souches

Les souches étudiées sont portées dans les tableaux 1 et 2. Elles ont été isolées à partir de palmiers appartenant à différentes variétés, dans différentes palmeraies ainsi qu'à partir du sol.

2 - Les cultures

Chaque souche est cultivée dans 100 ml de liquide Czapeck-Dox à 28°C (Tableau 3); sur un agitateur rotatif (80 r.p.m.). Le mycélium est récolté après 10j, 24j, 43j de culture par filtration sur Buchner n° 2, lavé 3 fois à l'eau distillée (500 ml au total) et partiellement asséché sous vide.

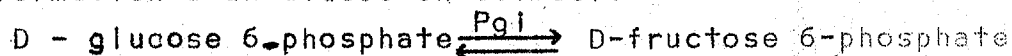
Il est soit lyophilisé, soit congelé à -20°C jusqu'à son extraction, soit extrait immédiatement (aucune différence n'est observée entre les extraits obtenus par ces différents procédés de conservation).

3 - Les enzymes étudiées

Les enzymes mises en évidence sont pour la plupart des enzymes du métabolisme général (Tableau 5) (planche 9).

3-1- La phosphoglucose isomérase = (Pgi) E.C. 5.3.1.9.

Ce système catalyse dans les 2 sens la réaction d'isomérisation du glucose 6-phosphate en fructose 6-phosphate (transformation d'un aldose en cétose).



3-2- La phosphoglucomutase (Pgm) E.C. 2.7.5.1.

Ce système concourt au transfert réversible d'un radical phosphate du carbone 1 au carbone 6 sur la molécule de glucose (il prépare les composés phosphorylés aux réactions cataboliques ou de biosynthèse).

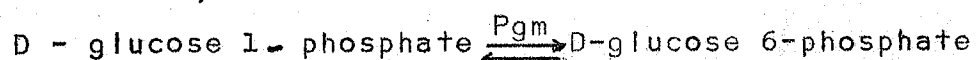


TABLEAU 5

Systèmes enzymatiques mis en évidence chez
Fusarium oxysporum f.sp. *albedinis*

Enzymes Abrévia- tions utilisées	Nomenclature	Nombre max. de bandes d'activité	Optimum
Pgi	Phospho-gluco-isomérase EC.5.3.1.9.	1	7,4 - 7,8
Pgm	Phospho-gluco-mutase EC.2.7.5.1.	2	6,5 - 8
Mdh	Malate déshydrogénase EC.1.1.1.37	2	7,4
6-Pgdh	6 phospho-gluconate déshydrogé- nase EC.1.1.1.44.	2	
G-6-Pdh	Glucose-6-phosphate déshydrogé- nase EC.1.1.1.49.	2	9,2 levure
Got	Glutamate oxalo-acétate transami- nase EC.2.6.1.1.	2	8 à 8,5
Acph	Phosphatase acide EC.3.1.3.2.	2	5

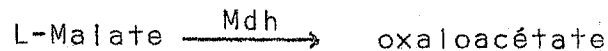
Les hexokinases et estérases ont été mises en évidence, mais elles n'ont pas fait l'objet d'études systématiques pour toutes les souches. Elles apparaissent souvent en "trainée"

Les I.P.O. apparaissent après certaines colorations (indo phénol oxydase : 1.9.3.1. Cytochrome oxydase)

3.3. La Malate déshydrogénase (Mdh) E.C.1.1.1.37.

Système enzymatique catalysant la déshydrogénation irréversible de l'acide malique. Le produit de cette réaction est l'oxaloacétate, plaque tournante du cycle de Krebs.

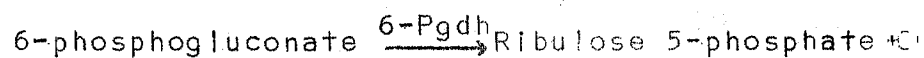
Généralement, deux Mdh existent chez les Eucaryotes, l'une est localisée dans le cytoplasme, l'autre dans les mitochondries. Toutes deux sont sous le contrôle des gènes nucléaires.



3.4. La 6-phosphogluconate déshydrogénase

(6-Pgdh) EC. 1.1.1.44.

Catalyse la déshydrogénation du carbone 3 de l'acide phosphogluconique ; il en résulte un composé très instable qui perd spontanément une molécule de dioxyde de carbone, ce qui induit la formation du premier pentose du cycle : le ribulose 5-phosphate.

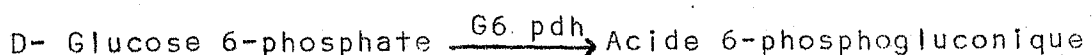


3.5. La glucose 6-phosphate déshydrogénase (G-6-Pdh)

EC. 1.1.1.49

La clé de la voie des pentoses, elle amorce le cycle, en déshydrogénant le glucose 6-phosphate.

Le produit obtenu : phosphogluconolactone est instable ; il fixe une molécule d'eau pour se transformer en acide 6-phosphogluconique (la voie des pentoses est importante pour la production du nicotinamide dinucléotide phosphate réduit (NADPH, H⁺)).



3.6. La Glutamate oxaloacétate transaminase (Got)

EC. 2.6.1.1.

Enzyme catalysant le transfert d'un radical aminé d'un résidu d'acide aminé sur un composé hydrocarboné. Son

importance est traduite par son aptitude à rattacher le cycle catabolique des peptides au cycle énergétique de Krebs. L'acide aspartique cède son radical aminé à l'acide cétooglutarique; les produits formés sont l'acide L-glutamique et l'acide oxaloacétique.

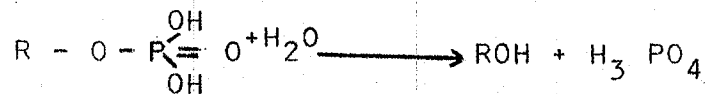
C'est la plus abondante des transaminases et elle joue un rôle important dans le maintien des quatre métabolites qui sont ses substrats. Généralement il existe une enzyme Got_M mitochondriale et une Got_S cytoplasmique.

L-aspartate + cétooglutarate \xrightarrow{Got} L-glutamate + oxaloacétate

3.7. Les Phosphatases acides (Acph)(hydrolases)

EC. 3.1. 3.2. phosphomonoestérases II

Elles hydrolysent les mono-esters phosphoriques, leur pH optimum est entre 4,5 et 6.



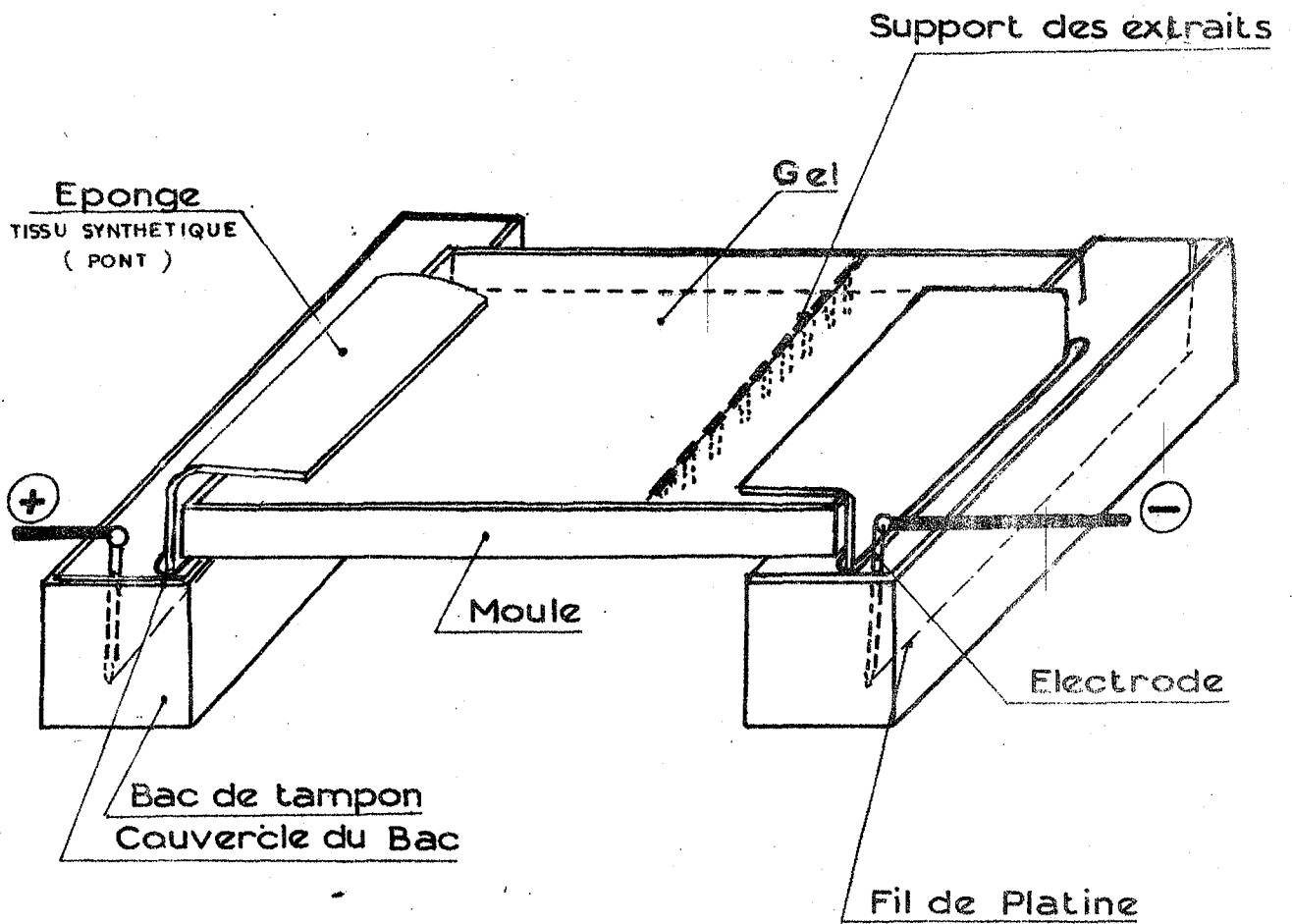
Elles sont présentes dans tous les tissus, elles contribuent à la mobilisation du phosphore et interviennent dans le métabolisme des parois (lysosomes).

Chez les champignons, beaucoup d'auteurs leur attribuent une action dans l'apparition de types morphologiques (FINCHAM et al. 1979) ou dans la conidiogénèse (NELSON et GARBER 1967). Ces enzymes sont très répandues dans le règne vivant ; il est cependant difficile de relier l'existence d'un type d'isoenzyme à une structure phénotype particulière (DAVIS, 1978).

4 - Préparation des extraits pour l'électrophorèse

0,2g de mycélium lyophilisé ou 1g de mycélium humide additionné de poudre de verre sont broyés dans un mortier préalablement refroidi en présence d'un ml de tampon d'extraction de composition suivante : Tris 1g, EDTA 2H₂O disodique : 0,37g pour 1 litre d'eau distillée . Le pH est ajusté

PLANCHE 10



DISPOSITIF D'ELECTROPHORÉSE
SUR GEL D'AMIDON

à 6,8 avec HCl concentré et on rajoute 4 ml de NADP à 1 %. Ces opérations sont réalisées à 4°C sur paillasse réfrigérée, ou en chambre froide. Les broyats sont centrifugés pendant 20 minutes à 10.000 tours minute dans une centrifugeuse réfrigérée (type SORVAL). Les surnageants constituent les extraits bruts de protéines solubles ; ils sont congelés dans l'azote liquide et conservés à -20°C ou à -80°C. Pour chaque souche et chaque expérience, trois séries de culture ont été extraites.

5 - Technique d'électrophorèse

L'électrophorèse se fait sur gel d'amidon de pomme de terre hydrolysé suivant la technique de MORETTI et al. (1957) modifiée par PASTEUR et al. (1975). Les gels à 12 % d'amidon sont préparés d'après les méthodes de SELANDER et al. (1971) : 48 g d'amidon sont chauffés en présence de 400 ml de tampon de "gel" choisi, en agitant constamment.

La composition des tampons utilisés pour la préparation des gels et pour la migration est donnée dans le tableau 6.

Après cuisson et dégazage sous vide, le gel est coulé dans un moule en plexiglass de 20 cm x 19 cm de côté et d'environ 12 mm de hauteur. On le laisse refroidir sur une surface parfaitement plane et horizontale, avant de la recouvrir d'une feuille de cellophane pour éviter sa dessiccation. L'introduction des échantillons et l'électrophorèse proprement dite ont lieu 10 à 12 heures plus tard. On pratique une fente à 5 cm du bord le plus long du gel (voir planche 10) dans laquelle sont insérés à intervalles réguliers des papiers Whatmann n° 3 imbibés de l'extrait à analyser.

TABLEAU 6Tampons d'électrophorèse1) Tampon Tris citrate (TC 6,7)Electrode (pH 6,3)

0,223 M Tris = 27,0 g Tris

0,086 M acide citrique = 18,07 g acide citrique monohydraté
q.s.p. 1 litre d'eau distillée

ajuster à pH 6,3 avec NaOH 1,0 M

Gel : (pH 6,7)

0,008 M Tris = 0,97 g Tris

0,003 M acide citrique = 0,63 g acide citrique monohydraté
q.s.p. 1 litre d'eau distillée

ajuster à pH 6,7 avec NaOH 1,0 M

(durée 3h. à 170V.)

2) Tampon Tris maléate (TME 6,9)-(TME 7,4)Electrode

0,10 M Tris = 12,1 g Tris

0,10 M anhydride = 11,6 g anhydride maléique

0,01 M EDTA disodique = 3,72 g EDTA disodique

0,01 M Mg Cl₂ 6H₂O = 2,03 g Mg Cl₂ 6H₂O

q.s.p. 1 litre d'eau distillée

Le pH est ajusté à la valeur désirée (6,9 ou 7,4) avec
une solution 1,0 M de NaOH.Gel : dilution à 1/9 du tampon d'électrode
(durée 5h. à 100V.)3) Tampon Tris citrate (TC 8,0)Electrode pH 8,0

0,687 M Tris = 83,2 g Tris

0,159 M acide citrique = 30,0 g acide citrique monohydraté
q.s.p. 1 litre d'eau distilléeGel :

22,89 mM Tris = 2,77 g Tris

5,22 mM acide citrique = 1,10 g acide citrique monohydraté
q.s.p. 1 litre d'eau distillée

(durée 4h. à 100V.)

TABLEAU 6 (suite)4) Tampons Tris-EDTA-borate (TEB 8,6)

Solution mère

0,9 M Tris = 109 g

0,5 M acide borique = 30,9 g

0,02 M EDTA = 7,6 g

q.s.p. 1 litre d'eau distillée

Electrode

Diluer la solution mère au 1/14

Gel

Diluer la solution mère au 1/39

5) Tampon Poulik = Tris-citrate discontinueElectrode pH 8,2

0,3 M borate = 18,55 g acide borique et 2,40 g de NaOH

q.s.p. 1 litre d'eau distillée

Gel : pH 8,7

0,076 M Tris = 9,21 g Tris

0,005 M acide citrique 1,05 g d'acide citrique monohydraté
q.s.p. 1 litre d'eau distillée

(250 V. pendant 3h. ou jusqu'à l'arrivée du front à l'anode)

6) Tampon acide borique (DH 9)Electrode et gel

0,87 M Tris 10,54 g

0,0089 M acide borique 0,54 g

0,0010 M EDTA 0,41 g

q.s.p. 1 litre d'eau distillée

On peut ainsi étudier simultanément de 12 à 24 échantillons encadrés par deux ou 3 "témoins".

Le gel est placé à cheval entre 2 bacs à électrodes, contenant le tampon de migration ("pont") correspondant. Le contact est assuré grâce à des éponges de tissu synthétique maintenues appuyées par une plaque de verre sur laquelle on dispose un bac métallique rempli de glace pilée. L'ensemble est placé en chambre froide à 14-16°C., ou dans un réfrigérateur. Les électrodes sont reliés à un générateur de courant continu.

La migration se fait pendant des temps variables de 4 à 6 h suivant les tampons. Du Bleu de Bromophénol est placé dans la fente de départ avec les échantillons pour le marquage du front de migration. L'intensité du courant est telle que la différence de potentiel est d'environ 6 V/cm² soit pour le type de moule utilisé une puissance globale comprise entre 10 et 12 watts.

6 - Révélation des enzymes

Après électrophorèse, les gels sont découpés en tranches de 2 mm d'épaisseur chacune. La tranche supérieure n'est pas utilisée. La découpe en biais de l'angle supérieur du gel permet l'orientation de chaque tranche. Ces dernières sont traitées pour la révélation spécifique des protéines enzymatiques portées dans le tableau 5.

Celles-ci sont effectuées suivant les principes de SELANDER et al. (1971) modifié quelques fois par le C.E.R.E.M. (Montpellier). Les conditions opératoires sont

rapportées dans les tableaux 7 et 8. Les gels sont photographiés puis rincés et fixés durant 12h dans un mélange méthanol/acide acétique/eau (5/1/5, V/V).

7 - Expression des résultats

Dans les conditions de nos expériences, les systèmes enzymatiques étudiés ont révélé une ou deux bandes d'activité du côté anodique du gel. Etant donné que les *Fusarium* sont haploïdes, chaque bande ou isozyyme peut être assimilée à l'expression d'un gène distinct. Suivant la nomenclature de l'IUPAC - IUB (1974), chaque bande est numérotée, le nombre 1 est assigné à la forme ayant la plus grande mobilité anodique (de la plus anodique à la plus cathodique).

Ainsi les deux glutamate-oxalo transaminases, par exemple, correspondent à l'expression de deux gènes : GOT-1 qui code l'enzyme la plus anodique Got-1, et GOT-2 qui code l'enzyme la plus lente proche de l'origine ou Got-2.

La comparaison des différentes souches a montré qu'il existe une variabilité de la mobilité électrophorétique des molécules codées par un même gène. Ces molécules, nommées électromorphes ou allozymes ont été désignées par des indices indiquant leur mobilité relative par rapport à celle d'un "marqueur" choisi arbitrairement (ici enzymes présentes dans la souche M2m) et désigné par l'indice 100. Quelque soit la distance "dm" parcourue par l'enzyme du marqueur, on peut ainsi calculer l'indice de l'enzyme présente dans une souche x ayant parcourue la distance "dx" suivant la formule :

$$\frac{dx}{dm} \times 100.$$

TABLEAU 7

Conditions opératoires de révélation enzymatique

Enzymes	Substrats	Co-enzymes	Additifs	Révélateurs	Température de révélation (Tris HCl 0,2 M) * pH 8,0	pH final	Température de révélation	Solution d'Agar à 2 %
Pgl (E.C.5.3.1.9.)	Fructose-6-P 10 mg	NAD 10 mg	G-6-Pdh 20 I MgCl ₂ 10 mg	NBT 10 mg PMS 10 mg	10 ml	8,0	4°C	5 ml
Pgm (E.C.2.7.5.1.)	Glucose-1-P 300 mg	NAD 10 mg	G-6-Pdh 20 I MgCl ₂ 10 mg	NBT 10 mg PMS 10 mg	10 ml	8,0	25°C	5 ml
Mdh (E.C.1.1.1.37)	Malate Na 600 mg	NADP 10 mg	-	NBT 10 mg PMS 10 mg	8 ml	8,0	37°C	5 ml
6-Pgdh (E.C.1.1.1.44)	Ac.6-P Gluconique 40 mg	NADP 10 mg	MgCl ₂ 10 mg	NBT 10 mg PMS 10 mg	10 ml	8,0	25°C	5 ml
G-6-Pdh (E.C.1.1.1.49)	Glucose-6-P 20 mg	NADP 10 mg	EDTA 25 mg	NBT 10 mg PMS 10 mg	10 ml	8,0	25°C	5 ml
Got (E.C.2.6.1.1.)	Cétoglutarate 100 mg Ac. Aspartique 200 mg	Pyridoxal-5-phosphate (Vit. Pp) 10 mg	-	NBT 10 mg Fast Blue B.B. 150 mg	40 ml	7,5	20°C	
Acph (E.C.3.1.3.2.)	α -naphthylacide phosphate 50 mg	-	-	Fast Blue B.B. 50 mg	Acétate sodium 0,15 M 40 ml	5,0	27°C	

* Sauf Acph

TABLEAU 8

Tampons de coloration

Tampon Acétate de sodium 0,15 M (pour la révélation du phosphatase acide)

Acide acétique glacial	9,3 ml
NaOH	5,1 g
H ₂ O	900 ml.

Tampon Tris HCl pH8 (pour les autres colorations)

Tris 0,2 M	24,2 g
H ₂ O	q.s.p. 1000 ml.

ajuster le pH à 8 avec HCl concentré.

L'analyse électrophorétique de l'ensemble des systèmes étudiés permet de définir un profil caractéristique de chaque souche correspondant à l'association des différentes allozymes rencontrées aux différents locus étudiés. Suivant LANOTTE et al. (1981) nous avons désigné sous le nom de zymodème, l'ensemble des souches présentant les mêmes électromorphes pour l'ensemble des systèmes (= locus) étudiés.

Au cours de notre étude nous avons été amenée à analyser le degré de divergence ou de similarité existant entre les divers zymodèmes identifiés. Cette analyse a été basée sur le calcul d'un indice de similarité établi d'après la formule de WHITNEY et VAUGHAN (1968).

$$S = \frac{\text{nombre de bandes identiques}}{\text{nombre de bandes identiques} + \text{nombre de bandes différentes}} \times 100$$

Notons que dans le cas particulier des *Fusarium* cet indice donne des valeurs similaires à celui de NEI (1972) ou à celui de JACCARD (1908) puisque les *Fusarium* sont haploïdes.

En regroupant les ensembles (zymodèmes) dont les indices sont les plus proches, suivant la méthode dite à lien complet : UPGMA (un-weighted pair group arithmetic average) nous avons pu tracer des dendrogrammes (FERGUSON 1980). Ils permettent de montrer la possibilité de liens entre les différents groupes de souches.

L'intensité de la coloration peut refléter des différences quantitatives et pourrait avoir une signification taxonomique mais notre expérience s'est limitée aux variations qualitatives, présence ou absence de telle enzyme, et à la comparaison des distances relatives parcourues par chaque enzyme.

CHAPITRE TROISIEME

APPROCHE SYSTEMATIQUE ET ESSAIS DE CARACTERISATION

BIOCHIMIQUE

La première difficulté à laquelle se trouve confronté le phytopathologiste travaillant sur une Fusariose est due à la complexité de la taxonomie du genre *Fusarium* et aux problèmes posés par sa détermination.

L'édification de systèmes de classification a été le premier souci des naturalistes ; une notion s'est imposée très tôt : la notion d'espèce.

Les critères de l'espèce utilisés originellement sont des critères de ressemblance. Cependant très vite les naturalistes (BUFFON 1753 , de CANDOLLE 1813 , CUVIER 1816) ont pris en compte les critères de fécondité et de descendance pour définir l'espèce.

"L'espèce est la collection de tous les individus qui se ressemblent plus entre eux qu'ils ne ressemblent aux autres, qui peuvent par une fécondité réciproque produire des individus fertiles et qui se reproduisent par la génération de telle sorte qu'on peut les supposer tous sortis originellement d'un seul individu" (de CANDOLLE 1813).

"L'espèce est la collection de corps organisés nés les uns des autres ou de parents communs et de ceux qui lui ressemblent autant qu'ils se ressemblent entre eux" (CUVIER 1816).

MAYR (1942) définit l'espèce de la façon suivante "Species are groups of actually or potentially interbreeding populations which are reproductively isolated from such other groups". Mais ce concept biologique de l'espèce s'applique aux formes à reproduction sexuée biparentale, non aux formes totalement dépourvues de reproduction sexuée. Cependant de telles formes existent aussi bien dans le règne animal que végétal. Elles sont parfois apparentées à des espèces à reproduction sexuée biparentale. L'absence de reproduction sexuée pourrait n'être qu'apparente chez de nombreuses formes par suite de l'insuffisance des connaissances, notamment chez les champignons imparfaits hétérothalliques.

De tels groupes ne peuvent être définis que par des critères purement descriptifs (morphologie, physiologie ou biochimie). Formellement rien ne s'oppose à ce que ces formes reçoivent des binômes conformément à la nomenclature habituelle des espèces (GENERMONTE 1980).

Mais les limites des espèces définies ainsi ne sont pas fixes et il est probable qu'avec le développement des techniques modernes les classifications proposées soient encore fortement modifiées ; GENERMONTE (1980) ajoute d'ailleurs : "La valeur biologique et même taxonomique de telles entités est douteuse". Il nous faut garder présent à l'esprit ces remarques qui permettent d'expliquer, d'une part les difficultés de la classification des *Fusarium* que nous allons exposer, d'autre part les résultats différents

et contradictoires obtenus par les techniques récentes en matière de détermination (CHESSON et al. 1978). GLYNN et REID (1969), trouvent plus de ressemblances biochimiques entre des *Verticillium* et des *Fusarium* qu'entre deux espèces de *Fusarium*. Avec les mêmes techniques PARKINSON (1980) est amené à rapprocher *Fusarium nivale* de *Rhynchosporium* plus étroitement qu'avec *Fusarium avenaceum*.

Dans ce chapitre nous présenterons : le genre "*Fusarium*", l'espèce "*oxysporum*" et la forme "*albedinis*", tels qu'ils sont actuellement admis, puis par l'étude de quelques protéines enzymatiques, un essai de caractérisation biochimique.

I - DONNEES SYSTEMATIQUES SUR *FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP.*ALBEDINIS*

1 - Place au sein du genre *Fusarium* LINK

Fusarium oxysporum f. sp. *albedinis* est l'organisme responsable de la Fusariose du Palmier dattier. Ce champignon appartient au genre *Fusarium* LINK *Fungi Imperfecti, Tuberculariaceae* Ascomycètes Hypocréales (BOOTH 1971). C'est en 1809 que LINK pour la première fois, attribue ce nom à un champignon filamenteux, présentant uniquement des spores de reproduction asexuée, dont certaines sont arquées et pluricellulaires.

De 1809 à 1810 plus de 1000 espèces, variétés ou formes seront décrites (les auteurs se préoccupant peu des ressemblances ou des relations avec des champignons déjà décrits). Mais, devant l'ampleur des problèmes posés par les *Fusarium* qui sont responsables de nombreuses maladies de

plantes partout dans le monde, APPEL et WOLLENWEBER (1910) puis WOLLENWEBER et REINKING (1935) reprennent la systématique de ce genre; ils classent les *Fusarium* en 16 sections, 6 sous-sections, et 143 variétés et formes (pour le seul *F. avenaceum* ils comptent 77 synonymes et 133 pour *F. lateritium*). De plus ils rassemblent dans l'unique genre *Fusarium* 9 genres distincts, précédemment décrits (Tableau 9).

TABLEAU 9

Genres rassemblés dans le genre *Fusarium*

WOLLENWEBER et REINKING (1935)	GERLACH (1981)
<i>Fusisporum</i> LINK 1809	<i>Fusisporum</i> LINK 1809 exFr. 1821
<i>Fusidium</i> LINK 1809	<i>Selonosporium</i> CORDA 1837
<i>Atractium</i> LINK 1809	<i>Microcera</i> DESM. 1848
<i>Fusoma</i> CORDA 1837	<i>Pionnotes</i> FRIES 1849
<i>Selenosporium</i> CORDA 1837	<i>Sporotrichella</i> KARST 1887
<i>Microcera</i> DESM. 1848	<i>Lachnidium</i> GIARD 1891
<i>Pionnotes</i> FRIES 1849	? <i>Discocolla</i> PRILL. et DEL. 1894
<i>Discocolla</i> PRILL. et DEL. 1894	? <i>Rachisia</i> LINDER 1913
<i>Discofusarium</i> PETCH. 1921	<i>Discofusarium</i> PETCH. 1921
	? <i>Fusidomus</i> GROVE 1929

Cependant si leurs travaux restent la base de la systématique moderne des *Fusarium*, différents systèmes sont actuellement proposés et défendus par leurs auteurs, avec deux "écoles":

- La première s'appuyant sur le système de WOLLENWEBER, conserve un certain nombre de sections et d'espèces avec quelques modifications (RAILLO 1935, BILAI 1955, 1970, GORDON 1952, 1960, 1965, BOOTH 1971, 1975, 1981, JOFFE 1974, GERLACH 1970, 1977, 1981).

TABLEAU 10

Subdivisions proposées par différents auteurs pour
la classification des *Fusarium*

Auteurs	WOLLENWEBER et REINKING 1935	RAILLO 1935	BILAL 1955, 1970	SNYDER et HANSEN 1940, 1941 1945, 1965, 1981	GORDON 1960	MESSIAEN et CASSINI 1968, 1981	BOOTH 1971, 1981	GERLACH 1970, 1981
Sections	16	17	9	0	12	0	12	16
Sous-sections	3	12	-	0	-	0	-	-
Espèces	65	55	26	9	26	9	44	81 ± 19
Sous espèces	-	10	-	-	-	-	-	2
Cultivar(= variétés)	55	55	29	11	4	9	7	49
Formes	22	61	-	+ f.sp.	17	f.sp.66	f.sp.70	f.sp.80

- La seconde simplifie considérablement la classification pour ne retenir que 9 espèces, dans le but de permettre aux pathologistes une détermination rapide des parasites rencontrés (SNYDER et HANSEN 1940, 1941, 1945, 1965, 1981 et TOUSSOUN et NELSON 1968, 1975, MESSIAEN et CASSINI 1968, 1981).

Le tableau 10 récapitule le nombre de sections, sous-sections, espèces, variétés et formes retenues par différents auteurs. Les formes parfaites, quand elles existent, sont classées dans 5 genres différents (BOOTH 1981).

Le tableau 11 montre les différentes sections de WOLLENWEBER et leur simplification par quelques auteurs.

2 - L'espèce *oxysporum* SCHLECHT

WOLLENWEBER et REINKING (1935) la placent dans la section "Elegans" qu'ils divisent en 3 sous-sections (tableau 12) en se basant sur la forme et la taille des spores et sur les caractères culturaux. En 1940, SNYDER et HANSEN rassemblent toutes les espèces de la section "Elegans" dans une seule espèce *F. oxysporum*, à laquelle SNYDER et al. adjoignent un cultivar "Redolens" en 1957.

Ce système a été accepté par la plupart des taxonomistes des *Fusarium* (GORDON 1965, GERLACH 1977, MESSIAEN et CASSINI 1968, 1981, BOOTH 1971, 1975) (Tableau 12). Cependant GERLACH (1981) conserve deux espèces en plus de *F. oxysporum* : *F. redolens* (classé comme variété par BOOTH) et *F. undum* (qui a été précédemment décrit comme *F. uncinatum* var. *lateritium* et *F. uncinatum*).

BILAI (1955) inclut dans la section "Elegans" qu'elle garde, l'espèce *F. solani* var. *redolens*.

TABLEAU 11

Classification des *Fusarium*

WOLLENWEBER et REINKING 1935, GERLACH 1981 Stade parfait	WOLLENWEBER et REINKING 1935, GERLACH 1981 Sections	BOOTH 1971 Sections	SNYDER et HANSEN 1940, 1954 Genre et espèces	MESSIAEN et CASSINI 1959, 1968, 1981 Genre et espèces
<i>Nectria</i> = <i>Monographella</i>	Arachnites	Arachnites (4 espèces)	<i>F. nivale</i>	<i>F. nivale</i>
<i>Nectria</i> = <i>Hypomyces</i>	Martiiella -----	Martiiella (4 espèces)	<i>F. solani</i> (1 espèce) (2 cultivars)	<i>F. solani</i>
<i>Nectria</i>	Ventricosum -----	Macroconia -----		
<i>Nectria</i>	Macroconia	Macroconia	<i>F. epispheeria</i>	<i>F. epispheeria</i>
<i>Nectria</i>	Eupionnotes -----	Eupionnotes -----		
<i>Caloneectria</i>	Pseudonidrocera	Eupionnotes -----		
<i>Caloneectria</i>	Submicrocera -----	Eupionnotes -----		
<i>Caloneectria</i>	Spicarioides	Spicarioides	<i>F. rigidiusculum</i>	<i>F. rigidiusculum</i>
<i>Gibberella</i>	Rosenum	Rosenum -----		
<i>Gibberella</i>	Arthrosporiella -----	Rosenum -----		
<i>Gibberella</i>	Gibbosum (<i>F. equiseti</i> (<i>F. acuminatum</i>))	Arthrosporiella (Gibbosum)	<i>F. roseum</i> Equiseti ----- Acuminatum -----	<i>F. roseum</i> var. <i>gibbosum</i>
<i>Gibberella</i>	Fusarium = Discolor	Discolor -----	6 culti- vars { Culmorum Graminearum Avenacearum Sambucinum	6 var. var. <i>culmorum</i> var. <i>graminearum</i> var. <i>avenacearum</i> var. <i>sambucinum</i> var. <i>arthrospo-</i> <i>notae</i>
<i>Gibberella</i>	Lateritium	Lateritium	<i>F. lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>
<i>Gibberella</i>	Liseola	Liseola	<i>F. moniliforme</i>	<i>F. moniliforme</i>
inconnue	Elegans	Elegans	<i>F. oxysporum</i> (1 cultivar)	<i>F. oxysporum</i>
inconnue	Sporotrichiella	Sporotrichiella	<i>F. tricinatum</i>	<i>F. tricinatum</i>

TABLEAU 12

Systématique de *Fusarium oxysporum* (SCHECHT.) = Section *Elegans* (MOLLENW. 1913)

MOLLENWEBER et REINKING 1935	SNYDER et HANSEN 1940 SNYDER et q.l. 1957.	GORDON 1965	ARMSTRONG G. et ARMSTRONG J. 1968 - 1981	BOOTH 1971	GERLACH 1981
Sous section : espèces					
<i>Oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i> 5 var.				
	<i>F. dianthi</i>	1 espèce	1 espèce	1 espèce	3 espèces
	<i>F. vasinfectum</i> 2 var.	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i> <i>F. undum</i>
	<i>F. redolens</i>	1 cultivar Redolens		1 var. redolens	<i>F. redolens</i>
<i>Constrictum</i>	<i>F. bulbigenum</i>	25 formes 2 races	65 formes 22 races	69 f. sp. (1968) 36 races (1968) 80 f. sp. (1981) 67 races (1981)	75 f. sp. 77 f. sp.
<i>Orthocera</i>	<i>F. Dostryaoides</i>				
	<i>F. lini</i>				
	<i>F. orthoceras</i> 3 var.				
	<i>F. conglutinans</i> 3 var.				
	<i>F. angustum</i>				

Dans le genre *Fusarium*, l'espèce *oxysporum* constitue 50 à 70% des populations "fusariennes" des sols (GORDON 1952, 1960, 1965, GUILLEMAT et MONTEGUT 1956, 1957, 1958, MC. MULLEN et STALK 1983).

Elle est considérée par de nombreux auteurs comme colonisatrice primaire du rhizoplan et du cortex racinaire (BRUEL 1976 , MC MULLEN et STALK 1983). Ces derniers auteurs ont montré qu'elle représente plus de 50% des isolats de *Fusarium* des racines de plantes diverses.

Elle se comporte soit en saprophyte, soit en parasite de vertébrés ou de plantes (NELSON et al 1981, REBELL 1981) ; sa spécialisation parasitaire a pu être comparée à celle des Urédinées (MESSIAEN et CASSINI 1981). La forme parfaite n'est pas connue. Des relations avec *F. moniliforme* et *F. solani* ont été avancées par quelques auteurs (BILAI 1955 , BUXTON et WARD 1962, MADOSHING 1964).

3 - La forme spécialisée "Forma specialis" *albedinis*

L'espèce est actuellement subdivisée en plus de 80 "formae speciales" (ARMSTRONG G. et ARMSTRONG J. 1981) suivant l'hôte auquel elle s'attaque et dont on l'a isolée. Leur reconnaissance ne fait appel à aucun critère morphologique mais seulement à la pathogénicité du champignon, et leur détermination doit se faire par la réinoculation du pathogène dans la plante hôte , étape difficile voire impossible pour *F.o.f.sp.albedinis*

Ces formes "spécialisées" ont pu être subdivisées en races, basées sur la pathogénicité différentielle des isolats sur des variétés distinctes (10 races ont été décrites à ce jour pour *F. oxysporum* f.sp. *pisi*

(ARMSTRONG G. et ARMSTRONG J. 1981). Mais par contre, certaines formes spécialisées ont été rassemblées, car elles étaient susceptibles de provoquer la même maladie dans plusieurs hôtes. (ARMSTRONG G. et ARMSTRONG J. 1952, 1958, 1965, 1968, 1981). Le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* est la forme spécialisée isolée du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. Cependant CORTE (1972), et ARAI et YAMAMOTO (1977) donnent ce nom à un *F. oxysporum* isolé du palmier des Canaries (*Phoenix canariensis* CHABAUD). MERCIER et LOUVET (1973) l'ont aussi décrit et LOUVET le nomme *F. oxysporum* f. sp. *canariensis*. SNYDER et NASH-SMITH (1981) pensent que ce champignon ne peut pas être *F. o. albedinis* au sens défini par ARMSTRONG (1975).

Il n'existe pas chez le *F. o. albedinis* de "races", mais BULIT et al. (1967) pensent que les souches peuvent être plus ou moins virulentes. En réalité, on ne peut actuellement définir, ni les races, ni la virulence du pathogène, car on ne possède pas de collection de l'hôte, génétiquement pure et sensible à la maladie (voir chapitre 1er), qui nous permettrait de séparer les souches obtenues.

A ces difficultés s'ajoute celle due au fait que les *F. oxysporum* peuvent être couramment isolés du cortex racinaire des plantes sans pour autant être parasites.

II - ESSAIS DE CARACTERISATION BIOCHIMIQUE DU *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *ALBEDINIS*, DE QUELQUES FORMES SPECIALES ET DE QUELQUES ESPECES DE *FUSARIUM*

Comme nous venons de le voir, la détermination des *Fusarium*, comme celle des autres champignons imparfaits,

est basée, jusqu'à ce jour, sur des critères morphologiques. Or, une des caractéristiques de ce genre est l'extrême variabilité de ces caractères (pigmentation, aspect du mycélium, présence ou absence de spores, taille, forme, nombre de cloisons...) au cours des repliquages successifs et en fonction des conditions de culture. L'importance relative attribuée à ces caractères explique les nombreuses classifications proposées et les controverses qu'elles provoquent (PALTÍ 1978).

Un des points importants pour l'avancement de la connaissance des *Fusarium* est de stabiliser le statut et la nomenclature des "formes spéciales". Ces souches sont morphologiquement indistinctes des souches saprophytes de la même espèce bien qu'elles montrent des propriétés physiologiques différentes dans leur capacité à parasiter des hôtes spécifiques. Leur détermination passe par la réinoculation dans la plante hôte. On a longtemps pensé que ces souches étaient des parasites stricts d'un hôte, mais les essais d'inoculations croisées montrent que la situation n'est pas si simple; les résultats sont d'ailleurs très variables suivant les auteurs et les techniques utilisées (ARMSTRONG G. et ARMSTRONG J. 1952, 1958, 1965, 1968; DUBOST et KADA 1974 CHETTAB et al. 1978).

La réinoculation dans la plante hôte est difficilement applicable aux *Fusarium oxysporum* isolés du palmier dattier pour les raisons que nous avons évoquées dans le premier chapitre : plantules différentes de l'adulte, lenteur de croissance des arbres, inoculations expérimentales dont les résultats sont aléatoires et peuvent n'être obtenus qu'après plusieurs mois voire quelques années.

Devant ces difficultés il devient indispensable de définir une nomenclature basée sur d'autres critères stables qui permettent de séparer les souches de *Fusarium o. albedinis* isolées du palmier dattier d'autres formes spéciales, et les *Fusarium oxysporum* d'autres espèces de *Fusarium*.

Le développement des techniques biochimiques a permis de proposer ces dernières années différentes méthodes utilisables pour la détermination des champignons imparfaits: sérologie (SEELIGER 1960, GOOS et SOMMER 1964) immuno-électrophorèse (WILLIAMS et TATUM 1966), électrophorèse (CHANG et al. 1962, CLARE 1963, CLARE et al. 1967, ...). L'utilisation de la technique d'électrophorèse des protéines pour la systématique des *Fusarium* n'est pas nouvelle.

1 - Rappel bibliographique

CLARE (1963) montre que les protéines permettent de séparer les *Fusarium* d'autres genres de champignons. MEYER et al. (1964) examinent les profils électrophorétiques des estérases et des phosphatases dans les filtrats de culture de huit formes spéciales de *Fusarium oxysporum* et rapportent l'existence de différentes caractéristiques. HALL (1967) distingue des types culturaux de *F. solani* f. sp. *pisi* à partir des profils électrophorétiques des catalases. WHITNEY et al. (1968) observent des différences interspécifiques plus larges que les différences inter-génériques à partir des protéines de plusieurs espèces du genre *Verticillium* et de souches de *Fusarium oxysporum*. CLARE et al. (1968) montrent que les protéines diffèrent de façon marquée entre les espèces d'un même genre mais très peu à l'intérieur d'une même espèce; quelques enzymes peuvent

avoir une valeur taxonomique au niveau sub-spécifique, d'autres au niveau spécifique, d'autres encore au niveau générique. Mais les travaux sur les *Fusarium* sont parfois contradictoires. Ainsi GLYNN et REID (1969) étudiant les estérases et les protéines concluent que les différences entre les souches sont aussi grandes que celles entre les formes. DRYSDALE et BRATT (1971) analysent les estérases, les phosphatases acides et les peroxydases chez cinq souches de *F. graminearum* et concluent que la technique peut permettre de distinguer certains groupes. REDDY et STAHMANN (1972) vont caractériser treize enzymes pour identifier dix souches de cinq espèces de *Fusarium*. Ils rapportent que parmi ces enzymes, la malate déshydrogénase, les phosphatases acides, les glucokinases et les acétyl-estérases sont caractéristiques de l'espèce. GUEZLANE (1976) essaie de caractériser les souches de *F. oxysporum* et montre que les isollements monospores d'une même souche sont identiques au niveau du contenu enzymatique en leucine-amino peptidase, en catalase, en estérase et que les formes spéciales peuvent être distinguées sur la base de leurs enzymes. SZECSI et al. (1976) étudiant les estérases de *F. culmorum* et de *F. graminearum* concluent après une étude statistique, que les deux espèces ne peuvent être séparées par l'étude de ces enzymes. MATSUYAMA et WAKIMOTO (1977) montrent que les estérases et les catalases de trois espèces de *Fusarium* sont différentes, mais qu'il y a une grande ressemblance entre les différentes formes spéciales des *oxysporum*. Pour MADOSHING (1980)

les Isoenzymes sont utilisables au dessus du niveau des formes spéciales. PERRIOT (1980) peut différencier les souches de *F. moniliforme* sur les profils des estérases et des protéines totales. SCALA et al. (1981) étudient les endopolygalacturonases de vingt six isolats de *Fusarium* regroupant six espèces ; pour chaque espèce les zymogrammes sont identiques ; les zymogrammes des *F. oxysporum* sont plus simples que ceux des autres espèces.

En analysant les résultats de ces publications nous pouvons faire quelques remarques :

- 1 - Les protéines totales ne semblent pas pouvoir être utilisées dans la comparaison des souches ou des espèces car elles ne sont pas assez discriminatives.
- 2 - Dans la plupart des travaux cités ci-dessus les auteurs ont travaillé sur des systèmes enzymatiques qui présentent une grande variabilité chez les champignons en fonction de l'âge et des conditions de culture. Ne faudrait-il pas étudier plutôt des enzymes dont l'activité est constante quelles que soient ces conditions?
- 3 - Les auteurs ont analysé le plus souvent les résultats pour chaque système enzymatique indépendamment des autres.
- 4 - L'utilisation des gels d'acrylamide en tube semble causer beaucoup de difficultés dans la reproductibilité et l'interprétation des résultats.

La mobilité électrophorétique d'une protéine dépend essentiellement de sa charge électrique, elle-même fonction de sa composition en acides aminés et du pH du milieu.

Il peut arriver que des substitutions multiples d'acides aminés se compensent et conduisent à des charges globales identiques. Il faut donc savoir qu'une différence de migration électrophorétique peut permettre d'affirmer une différence de structure protéique mais qu'une même migration ne peut pas toujours permettre d'affirmer une identité. La plupart des auteurs estiment que ce polymorphisme muet (ne se traduisant pas par des mobilités électrophorétiques distinctes) peut exister dans deux tiers des cas (SHAW 1970, LEVONTIN 1974, PASTEUR 1974, BONHOMME 1977). De plus, les travaux d'ISKANDAR (1984) montrent que dans des groupes éloignés du point de vue systématique, des molécules présentant une même mobilité électrophorétique dans des conditions précises ont toute chance de se révéler différentes si ces conditions sont modifiées.

Cependant l'électrophorèse a permis des résultats intéressants, tant sur le plan systématique qu'épidémiologique pour les protozoaires (études sur les *Trypanosoma* de GODFREY 1979, GIBSON et al. 1980, TIBAYRENC et al. 1981, et sur les *Leishmania* de MAAZOUN et al. 1981 a, b, c, 1982, 1984). D'après FERGUSON (1980), les similarités morphologiques de ces organismes masquent souvent une diversité génétique considérable.

Dans ce chapitre nous rapportons l'étude des variations électrophorétiques de plusieurs enzymes actifs dans les extraits de *Fusarium*.

La technique utilisée (électrophorèse sur gel d'amidon en plaque) permet d'analyser simultanément douze à vingt quatre échantillons qui sont traités dans les mêmes conditions de migration et de révélation.

Dans cette étude nous avons tenté de répondre plus particulièrement aux questions suivantes :

- 1 - Peut-on différencier les isolats monospores d'une même souche de *F. oxysporum albedinis*, en relation avec leurs variations morphologiques.
- 2 - Peut-on différencier plusieurs souches de *F. oxysporum albedinis* isolées :
 - (a) - d'un même arbre mais de palmes différentes?
 - (b) - de plusieurs individus de la même variété de palmiers ?
 - (c) - de différentes variétés de palmiers d'une même palmeraie , ou de plusieurs palmeraies ?
- 3 - Peut-on différencier différentes formes spéciales de *F. oxysporum* ?
- 4 - Peut-on différencier les espèces de *Fusarium* ?

Dans une première partie nous avons essayé de caractériser le profil électrophorétique d'une souche de *F. oxysporum albedinis*. Nous avons d'abord adapté les techniques d'extraction et de révélation d'un certain nombre d'enzymes Intra-cellulaires. Ensuite nous avons vérifié la stabilité de ces profils en fonction de l'âge, du milieu de culture et des modifications morphologiques observées dans les souches obtenues par isolements monospores. Ces études préliminaires achevées, nous avons entrepris la comparaison de diverses souches isolées de palmes différentes d'un même arbre , de différentes variétés de palmiers, prélevées à des périodes distinctes dans la même palmeraie et dans des palmeraies différentes. Nous avons ensuite comparé les souches de *F. o. albedinis* avec six autres formes spéciales de *F. oxysporum*, puis l'espèce *oxysporum* avec d'autres *Fusarium* isolés du sol des palmeraies ou de palmiers.

TABLEAU 13

Autres enzymes essayés n'ayant pas donné de résultats dans nos conditions d'études

Abréviation	Dénomination	Activité
ADH	Déshydrogénase de l'alcool	-
GDH	Glutamate déshydrogénase	Activité faible
α GPDH	Déshydrogénase de l' α glycéro-phosphate	-
IDH	Déshydrogénase de l'acide isocitrique	-
LDH	Déshydrogénase de l'acide lactique	+
ODH	Déshydrogénase de l'octanol	-
SDH	Sorbitol déshydrogénase	-
XDH	Xanthine déshydrogénase	-
ME	Enzyme malique	-
Po	Peroxydase	-
IPO	Indo-phéno-oxydase	+
A. Car	Anhydrase carbonique	+ faible
Ca	Catalase	-
AKP	Phosphate alcaline	-
β gal.	Galactosidase	-
LAP	Leucine amino peptidase	-

Remarques : Les résultats négatifs ne signifient pas nécessairement qu'elles n'existent pas mais plutôt qu'elles n'ont pu être mises en évidence dans les conditions d'études (concentrations insuffisantes ou conditions non optimales).

2 - Résultats et discussions2.1.- Caractérisation d'une souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*a - Essais préliminaires

Vingt trois systèmes enzymatiques ont été essayés (Tableaux 5 et 13). Seuls ceux portés dans le tableau 5 ont donné des résultats interprétables dans les conditions de notre étude. Si les estérases et les phosphatases acides ont été souvent étudiées chez les *Fusarium*, les autres systèmes ne l'ont été que rarement.

Pour déterminer les meilleures conditions de migration et de révélations sept tampons de pH et de compositions différents ont été essayés (Tableau 14).

TABLEAU 14

Différents tampons utilisés pour l'électrophorèse
qualité de la révélation - nombre de passage

Tampon gel pH	TC 6,7	TME 6,9	TME 7,4	TC8	TBE 8,6	POULIK	DH9
pont enzy- me	TC 6,3	TME 6,9	TME 7,4	TC8	TBE 8,6	Borate	DH9
Pgi	2 +	2 ++	15 +++	5 ++	2 ++	2 +	3 +
Pgm	0	-	6 +++	2 +	0	0	0
Mdh	2 ++	2 ++	13 +++	5 ++	2 +	-	2 +
Acph	2 ++	2 ++	15 +++	5 +++	2 +	-	-
Got	0	2 ++	9 +++	2 +++	2 +	-	2 +
G-6-Pdh	0	2 ++	9 +++	3 ++	2 ++	-	0
6-Pgdh	2 +	2 ++	12 ++	2 ++	0	-	1 +

Les chiffres indiquent le nombre d'essais

+++ bonne révélation

++ moyenne

+ en trainée

- mauvaise

0 non testée

Les tampons légèrement basiques Tris maléate (TME pH 7,4) et Tris citrate (TC pH 8,0) ont donné les meilleurs résultats pour la plupart des systèmes étudiés. Nos essais se feront surtout dans ces deux tampons. Nous donnons ici les résultats concernant les différentes enzymes étudiées.

La phospho-gluco-isomérase est révélée correctement quel que soit les tampons utilisés. Elle est universelle, elle est mise en évidence chez les végétaux et les animaux (SCANDALIOS 1969 et 1974, NEVO 1974, SELANDER et al. 1969, 1971). Elle présente pour la souche M2m une seule bande d'activité. Les extraits semblent très concentrés. Cette enzyme n'a été que peu étudiée chez les champignons; MADOSINGH (1980) est le seul auteur à la signaler chez les *F.o.*

spinacia : en gel acrylamide elle présente deux bandes d'activité une rapide et une lente de forte intensité.

La phospho-gluco-mutase montre deux bandes d'activité : la PGM₁ rapide est plus intensément colorée que la PGM₂ qui n'est pas toujours révélée. Elle n'a pas été étudiée par électrophorèse chez les *Fusarium*, mais elle a été mise en relation avec les changements de morphologie chez *Neurospora* (MAHADEVAN et TATUM 1964, MISHRA et TATUM 1971).

La malate-déshydrogénase est révélée sous forme de deux bandes MDH₁ et MDH₂ : elles ne sont pas toujours bien séparées. Chez les *Fusarium* les malates déshydrogénases ont été mises en évidence dans le mycélium et les spores (REDDY et STAHMANN 1972). Les deux bandes peuvent correspondre aux formes mitochondriales et cytoplasmiques.

La 6-phosphogluconate montre généralement deux bandes d'activité, 6-Pgdh₁ et 6-Pgdh₂ ; la plus lente (6-Pgdh₂) est la plus intensément colorée et correspond certainement à la seule enzyme révélée par REDDY et STAHMANN (1972).

La glucose-6-phosphate déshydrogénase présente aussi deux bandes d'activité, assez proche l'une de l'autre, la G-6-Pdh₂ est la plus intensément colorée. Cette activité enzymatique a été mise en évidence chez *F.o.pisi* (REDDY et STAHMANN 1972) mais avec une seule bande d'activité.

La glutamate-oxalo acétate transaminase deux bandes d'activité se retrouvent constamment, l'une rapide Got₁ l'autre lente Got₂. Elle n'a pas été étudiée chez les champignons et PERRIOT (1980) signale qu'il ne lui a pas été possible de la mettre en évidence.

La phosphatase acide deux bandes d'activités ont été révélées dans les extraits, l'une de faible coloration à migration anodique rapide Acph₁, la seconde de forte intensité, à migration lente Acph₂. Acph₁ n'apparaît pas toujours dans nos révélations, ce qui peut être dû à l'extraction ou à l'âge du mycélium. GUEZLANE (1976) étudiant différentes souches de *Fusarium* sur gel d'acrylamide ne trouve qu'une seule bande d'activité.

b - Effet de l'âge

De nombreux auteurs ont montré que les profils isozymiques de certaines enzymes varient en fonction de l'âge de la culture (MEYER et al. 1964, GLYNN et REID 1969, PERRIOT 1980).

Nous avons extrait du mycélium d'une souche de *F.o.albedinis*, M2m, après différents temps de croissance (Tableau 15)

TABLEAU 15

Variation du nombre d'enzymes avec l'âge
du mycélium sur tampon TME 7,4

enzyme \ âge	6-Pgdh	Acp	Pgi	Pgm	Mdh	Got	G-6-Pdh
5 j.	2	2	1	2	2	2	2
10 j.	2	1	1	2	2	2	2
29 j.	1	1	1	1	1	2	2
40 j.	1	1	1	1	1	2	1

Les résultats montrent qu'il n'existe que peu de variations avec l'âge du mycélium : en particulier la ou les bandes de plus forte activité sont toujours présentes. Ce sont elles qui seront prises en considération.

c - Effet du milieu

Les milieux contenant des sources de carbone différentes (glucose, arabinose, saccharose, amidon, cellulose) n'induisent pas de modifications dans l'activité principale et le nombre d'isoenzymes mises en évidence sauf pour les Acph, confirmant que les autres enzymes sont constitutives. Sur pectine, broyat de palmier et P.D.A., le nombre d'isoenzymes ayant une activité Acph est plus élevé mais elles sortent en "trainée" (planche 11). Les phosphatases acides participent à de très nombreuses réactions. Leur focalisation cellulaire dans les lysosomes suggèrent qu'elles ont un rôle de dégradation important

et il n'est pas étonnant que la synthèse de certaines Acph soit induite par la présence de composés particuliers dans le milieu de culture.

2.2.- Comparaison de différentes souches
de *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis*

On ne connaît jusqu'à présent aucune race chez les *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Cependant BULIT et al. (1967) pensent que des souches plus ou moins virulentes pourraient exister suivant le niveau d'isolement dans le palmier. De telles races ont pu être mises en évidence chez d'autres formes spéciales de *F. oxysporum* (ARMSTRONG G. et ARMSTRONG J. 1981). Nous avons réalisé trente isollements de *F. oxysporum* à partir de rachis de palmiers appartenant à de nombreuses variétés originales de différentes palmeraies, présentant des symptômes de Bayoud (Tableau 1). Les souches portant la mention "m" ont fait l'objet d'isollements monospores. Les souches "s" sont des souches sauvages, mises en culture sans isolement monospore. Toutes ces souches présentent au premier isolement les caractéristiques morphologiques des *F. oxysporum*, avec une vitesse de croissance semblable (contrairement à ce que l'on peut observer chez les *F. solani*). Elles sont nommées *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*. Les extraits présentent les mêmes profils isozymiques que la souche M2m de référence quelque soit la variété de palmier dont on les a isolé, et le lieu géographique dont elles sont originaires (Est ou Ouest du Sahara).

Les souches M2m, B2m, Khm, Ghm, qui ont fait l'objet d'isolements monospores (mais dont les souches filles peuvent présenter des types morphologiques différents sur milieu P.D.A. gardent le même profil enzymatique. Celui-ci se retrouve quelque soit le nombre de repliquages et la date d'isolement de ces souches. Si comme le suggèrent SNYDER et HANSEN (1954) et WAITE et STOVER (1962), les repliquages multiples favorisent les "mutations", celles-ci ne se maintiennent pas dans les systèmes étudiés au niveau qualitatif.

Il semble donc que l'électrophorèse sur gel d'amidon, dans les conditions de nos expériences ne permette pas de distinguer les souches de *F.o.albedinis* les unes des autres, tout au moins avec les systèmes que nous avons étudiés. Notons que GUEZLANE (1976) obtient des résultats comparables avec les isolements monospores de *F.o.dianthi*, mais non avec différentes souches.

2.3.- Comparaison de différentes formes spéciales de *Fusarium oxysporum*

Si les souches isolées du palmier apparaissent généralement homogènes peut-on les distinguer des autres formes spéciales ? Ces dernières sont nommées sur des caractères extrinsèques en fonction de l'hôte parasité. Toutefois quand les différents hôtes sont systématiquement proches, on est en droit de se demander si les parasites sont identiques ou non. CORTE (1972), puis MERCIER et LOUVET (1973) ont décrit une fusariose du palmier des Canaries,

Phoenix canariensis CHABAUD : les premiers nomment le parasite *F. oxysporum albedinis*, les seconds *F. oxysporum canariensis*. D'autre part on a également décrit une forme spéciale sur le palmier à huile, *Eleais guineensis*. Peut-on alors distinguer ces formes spéciales et si oui existe-t-il une relation entre leur niveau de différenciation et la distance taxonomique de leur hôte respectif ? Pour répondre à cette question, nous avons comparé sept formes spéciales isolées de *Phoenix dactylifera*, *Phoenix canariensis*, *Eleais guineensis*, *Cucumis melo*, *Lycopersicon esculentum*, *Dianthus caryophyllus*, *Brassica oleracea*.

Les résultats obtenus sont portés dans le tableau 16 (planche 12). Ils laissent apparaître une certaine différenciation. Si les Mdh et les Got sont semblables chez toutes les formes spéciales, il existe deux électromorphes pour les Pgi : Pgi 100 qui est la forme la plus commune et Pgi 95 qui caractérise la forme spéciale *conglutinans*. Deux électromorphes pour les Pgm : Pgm 100 et Pgm 95 chez les formes *lycopersici* et *eleaidis* ; deux électromorphes pour les 6-Pgdh : 6-Pgdh 100 est le plus commun, 6-Pgdh 105 caractérise *lycopersici* ; deux électromorphes pour les G-6-Pdh₂ : G-6-Pdh₂ 100 et G-6-Pdh₂ 98 chez la forme *conglutinans* ; deux électromorphes pour les Acph : Acph 100 que l'on rencontre chez les formes *albedinis* et *lycopersici* et Acph 130 chez les autres formes.

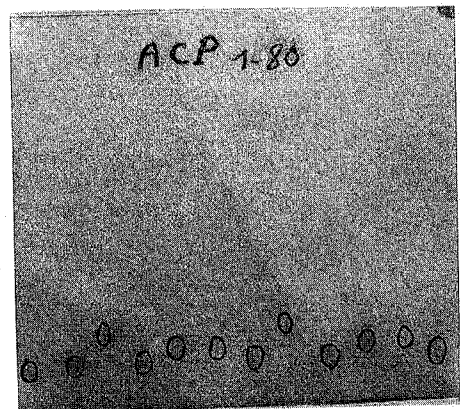
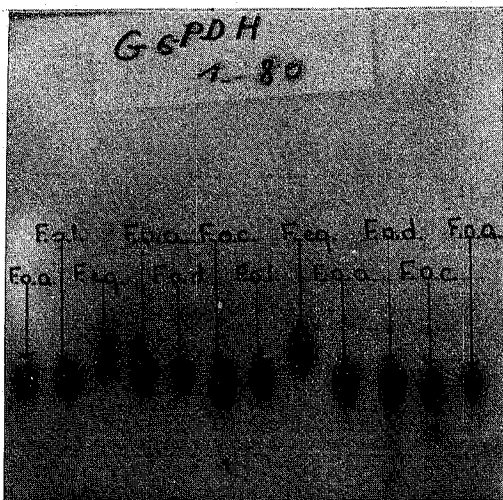
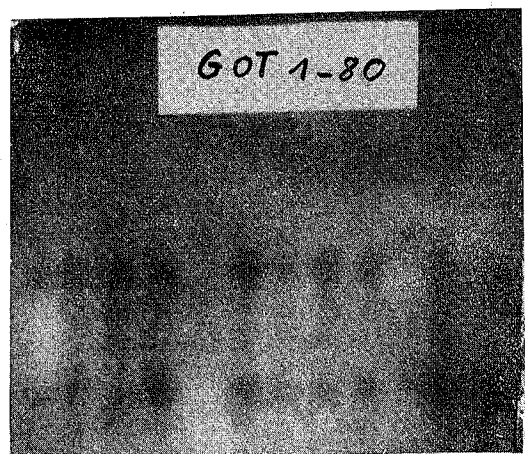
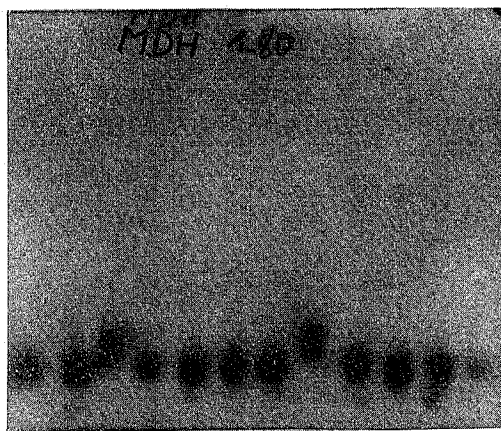
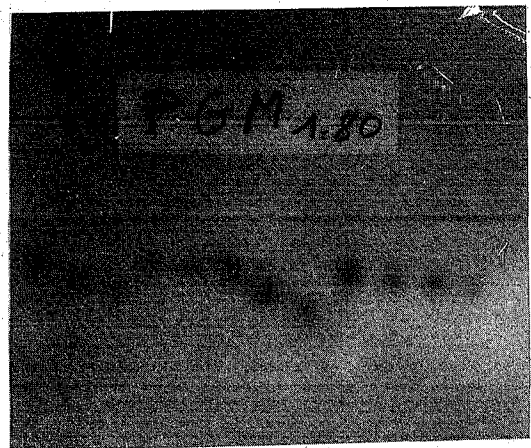
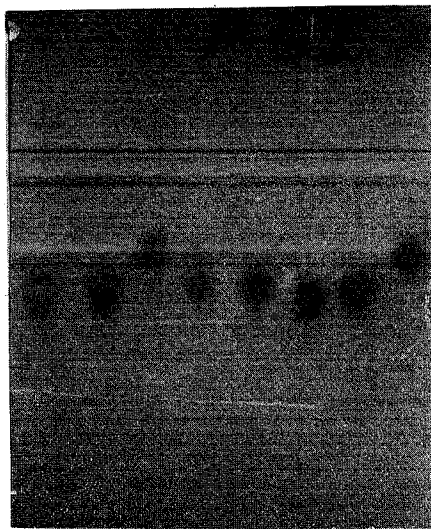
T/ BLEAU 16

Comparaison des isoenzymes (distances relatives de migration)
de différentes formes spéciales de *Fusarium oxysporum*

n° code	Enzymes Sou- ches	Pgi	Fgm	Mdh		6-Pgdh	G-6-Pdh		Got		Acph	Zym dém
				1	2		1	2	1	2		
3	<i>F.o.albedinis</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	1
35	<i>F.o.canariensis</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	130	2
36	<i>F.o.eleaidis</i>	100	95	100	100	100	100	100	100	100	130	3
34	<i>F.o.melonis</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	130	2
38	<i>F.o.dianthi</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	130	2
33	<i>F.o.lycopersici</i>	100	95	100	100	105	100	100	100	100	100	4
39	<i>F.o.congluti- nans</i>	95	100	100	100	100	100	98	100	100	130	5

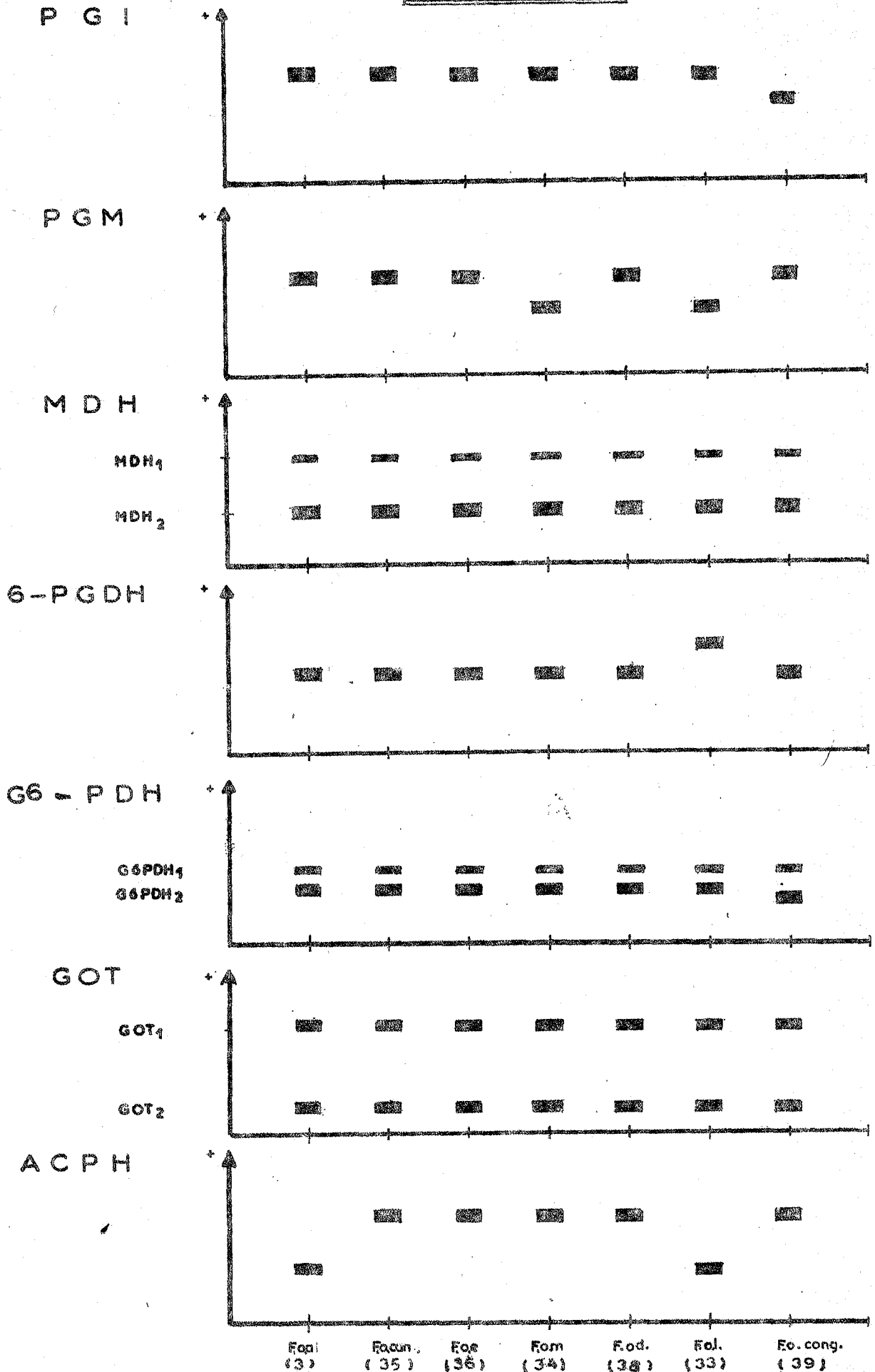
PLANCHE 11

Révélation de six enzymes chez quelques formes spéciales de Fusarium oxysporum par découpe d'un même gel, en présence d'une souche de Fusarium equiseti.



F = Fusarium ; F.eq. = F. equiseti ; F.o. = F. oxysporum ; F.o.a. = F.o. f.sp. albedinis ;
F.o.l. = F.o. f.sp. lycopersici ; F.o.d. = F.o. f.sp. dianthi ; F.o.c. = F.o. f.sp. conglutinans

PLANCHE 12



REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES ZYMOGRAMMES DE SEPT FORMES SPECIALES DE F. OXYSPORUM

Ainsi en regroupant dans un même ensemble les souches présentant les mêmes caractères de mobilité électrophorétique ou électromorphes nous pourrions reconnaître cinq zymodèmes (tableau 16).

- le premier ne comprend que la forme *albedinis*
- le deuxième regroupe les formes *canariensis*, *melonis* et *dianthi*
- le troisième la forme *elaeidis*
- le quatrième *lycopersici*
- le cinquième *conglutinans*

En comparant deux à deux les différents zymodèmes, on peut calculer des indices de similarité (s) ou d'identité (I) (tableau 17). L'indice de similarité varie entre 33 et 81 % et celui d'identité entre 0,69 et 0,1 . En d'autres termes, sur les dix locus étudiés entre un et cinq possèdent des électromorphes différents. Il apparaît ainsi qu'avec les systèmes enzymatiques étudiés, certaines formes spéciales peuvent être caractérisées par un zymodème particulier, (*albedinis*, *elaeidis*, *lycopersici* et *conglutinans*) alors que d'autres possèdent des caractéristiques communes et appartiennent aux mêmes zymodèmes.

Les deux zymodèmes les plus différents sont le zymodème Z-1 (comprenant la forme *albedinis* parasitant le palmier dattier) et le zymodème Z-5 (comprenant la forme *conglutinans* parasitant le chou). Les deux zymodèmes les plus semblables sont, d'une part, Z-1 et Z-2 (comprenant respectivement le palmier des Canaries, le melon et l'oeillet,

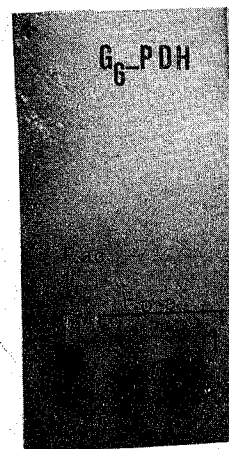
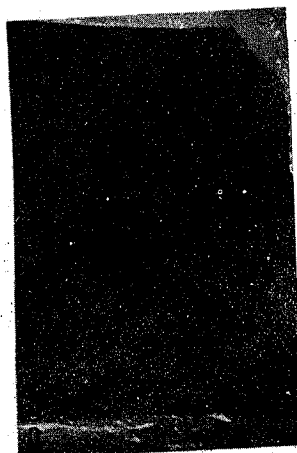
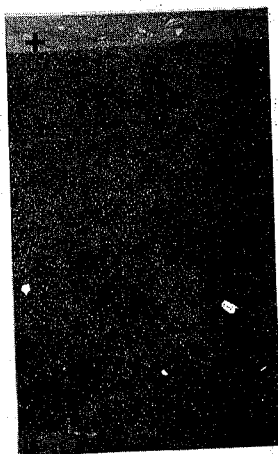
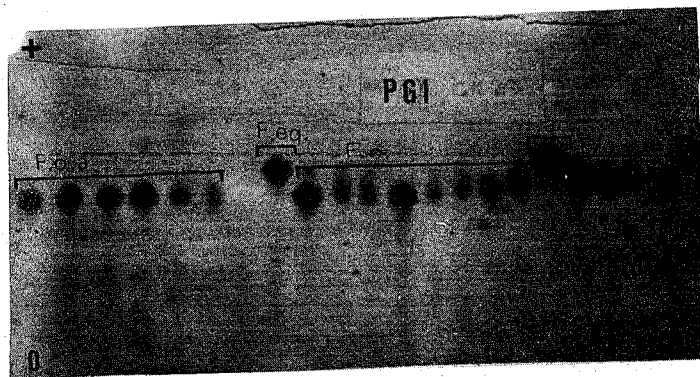
TABLEAU 17

Indices de similarité (S) de WHITNEY et VAUGHAN, et d'identité (I) de NEI, entre les zymodèmes rencontrés chez les formes spéciales de *F. oxysporum*

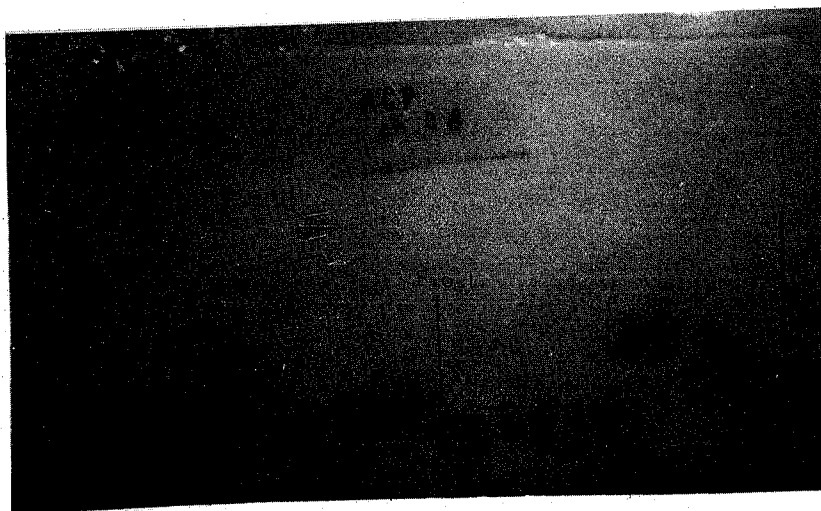
Souches	S					
	I	Z ₁	Z ₂	Z ₃	Z ₄	Z ₅
<i>F.o.albedinis</i>	Z ₁		81	66	66	53
<i>F.o.canariensis</i> <i>F.o.melonis</i> <i>F.o.dianthi</i>	Z ₂	0,1		81	53	66
<i>F.o.eleaidis</i>	Z ₃	0,22	0,10		66	53
<i>F.o.lycopersici</i>	Z ₄	0,22	0,35	0,22		33
<i>F.o.conglutinans</i>	Z ₅	0,35	0,22	0,35	0,69	

PLANCHE 13

Aspect des zymogrammes de quelques enzymes pour
différentes souches de Fusarium



F = Fusarium; F. eq. = F. equiseti; F. sol. = F. solani; F. ac. = F. acuminatum;
F. ma. = F. moniliforme; F. o. = F. oxysporum.
F. o. a. = F. o. f. sp. albedinis; F. o. c. = F. o. f. sp. canariensis; F. o. m. = F. o. f. sp. melonis



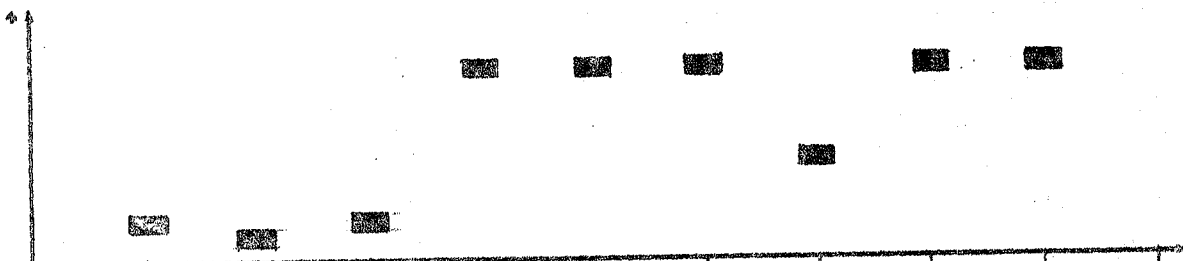
F. o. e. = F. o. f. sp. eleaidis; F. o. l. = F. o. f. sp. lycopersici.

trois hôtes systématiquement très éloignés) et d'autre part Z-2 et Z-3 (comprenant la forme *elaedis* parasitant le palmier à huile originaire de Côte d'Ivoire). Les autres zymodèmes présentent entre eux et avec les zymodèmes cités ci-dessus des degrés de similarités comparables ($S = .53 - .66$; $I = 0,70 - 0,80$).

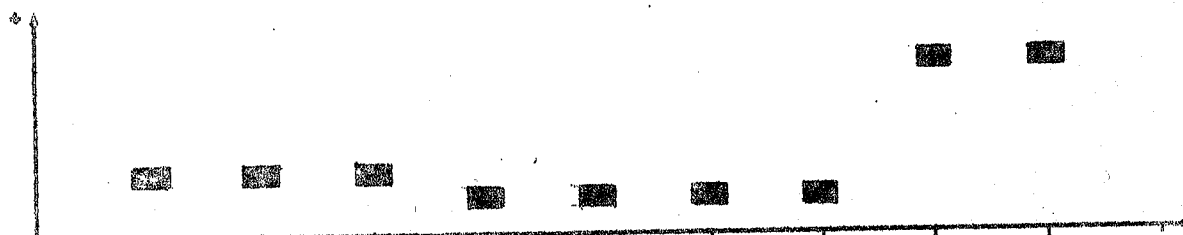
En conclusion, certaines formes spéciales de *F. oxysporum* peuvent être caractérisées par les techniques d'électrophorèse et avec les systèmes enzymatiques que nous avons étudiés. Toutefois, le même profil enzymatique peut être observé chez les formes spéciales isolées d'hôtes très différents (zymodème 2) et il ne semble pas que le degré de similarité (ou son inverse, de différenciation) soit corrélié avec la divergence systématique des hôtes parasités (le zymogramme Z-2 a été retrouvé chez des formes isolées de diverses plantes originaires de France, le zymodème Z-3 chez des formes originaires de Côte d'Ivoire, le zymodème Z-1 de formes originaires d'Algérie). Cela suggère que l'évolution des formes spéciales de *F. oxysporum* est indépendante de l'évolution des hôtes. De nombreuses études cherchant à relier le degré de différenciation génétique estimé par l'indice de Nei et la divergence évolutive des groupes, en particulier chez les animaux, ont été publiées (PASTEUR G. et N. 198). Un point important de ces recherches est d'avoir montré que l'on ne peut obtenir de résultats relativement fiables que si un nombre important (au moins 20) de caractères (gènes) sont utilisés. Il est possible que l'addition de systèmes enzymatiques à ceux étudiés ici, permette une meilleure caractérisation et qu'en particulier le zymodème Z-2 se décompose en plusieurs zymodèmes distincts selon les espèces parasitées.

PLANCHE 14

PGI



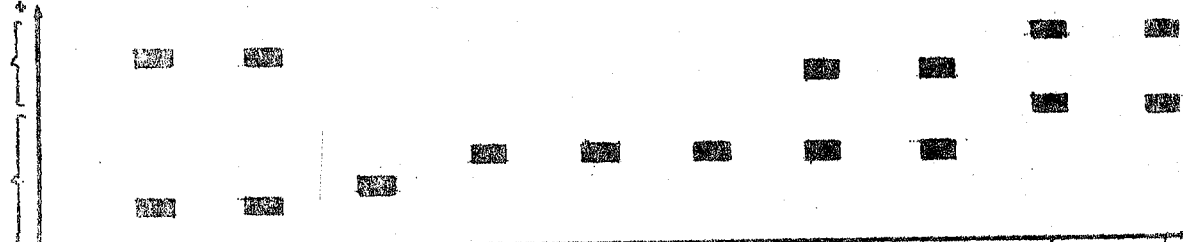
PGM



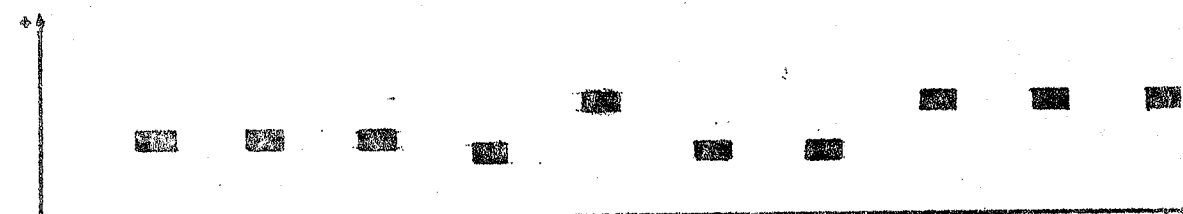
MDH

MDH₁

MDH₂



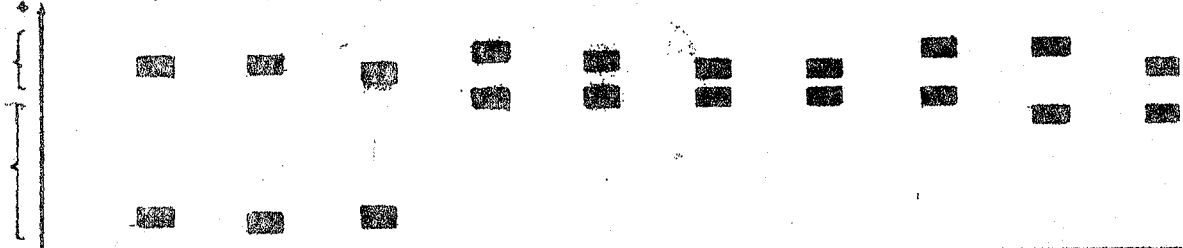
6_PGDH



G6PDH

G6PDH₁

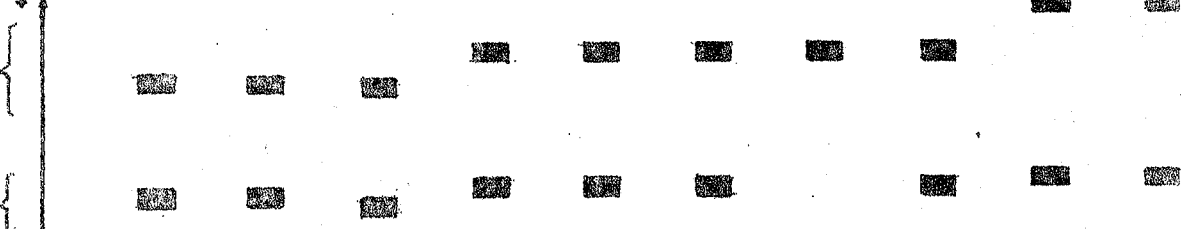
G6PDH₂



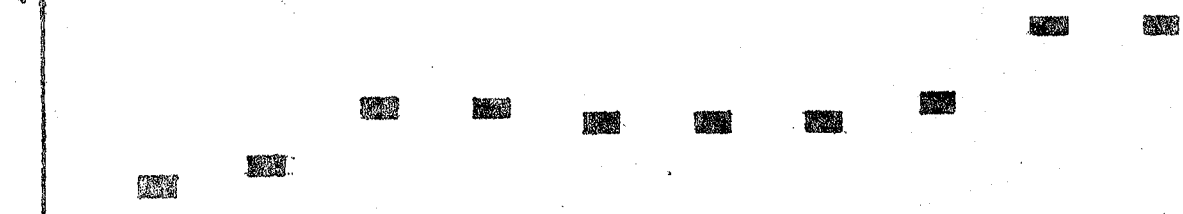
GOT

GOT₁

GOT₂



ACPH

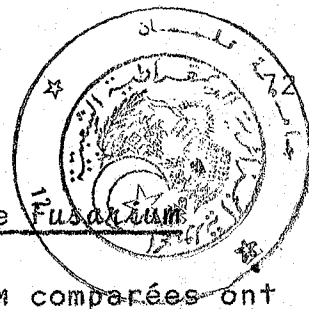


Z

Z1 Z5 Z6 Z7 Z8 Z9 Z10 Z11 Z12 Z13

Foa (3) Fo.cong (39) Fmon (44) Facum (43) Fequis. (41) Fequis (40) Fequis (48) Facum (47) Fsolani (45) F.sp (46)

REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES ZYMOGRAMMES DE CINQ ESPECES DE FUSARIUM



2-4 - Comparaison de différentes espèces de *Fusarium*

Les différentes espèces de *Fusarium* comparées ont été isolées soit de palmiers dattiers (ils accompagnent dans ce cas le *F.o.al-bedinis* en tant que colonisateurs secondaires), soit des sols des palmeraies (tableau 2). Leurs caractéristiques morphologiques sont différentes de celles des *Fusarium oxysporum* et il n'existe pas de confusion possible.

Les souches étudiées dont la détermination a été effectuée par le Commonwealth Mycological Institute (C.M.I.) suivant la nomenclature donnée par BOOTH (1971-1975), appartiennent aux espèces suivantes :

- *Fusarium oxysporum* (souches précédentes)
- *Fusarium moniliforme* (T H M 4)
- *Fusarium equiseti* (Helm Tim, Kheir Ad., TK5 - 4RP)
- *Fusarium acuminatum* (THT 16, Tgaza Tim.)
- *Fusarium solani* (19 TG)
- *Fusarium* sp. (TK 24), souche non déterminée par le C.M.I. Le tableau 18 donne les valeurs des électromorphes mis en évidence dans les différentes espèces (nous y avons reporté les valeurs obtenues pour *F.o.conglutinans* forme la plus différente de *F.o.al-bedinis*). (Planche 13). Les zymogrammes obtenus ne montrent aussi qu'une ou deux bandes d'activité mais les Pgm₂ (plus proches de la cathode) et les Mdh₄ n'ont pas pu être mis en évidence.
- Pour les Pgi: on peut reconnaître 4 électromorphes: 95, 100, 120, 150.

TABIEAU 18
 Comparaison des isoenzymes (distances relatives) de différentes
 espèces de *Fusarium*

Souche	Pg1	Pgm	Mdh		G6p dh	G6p dh		Got		Acph	Zymo- dèmes
			Mdh ₁	Mdh ₂		G6p dh ₁	G6p dh ₂	Got ₁	Got ₂		
(3) M2m (<i>F. o. albedinis</i>)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	1
(39) F. o. conglutina- nae	95	100	100	100	100	98	100	100	100	130	5
(44) F. moniliforme) F. Bm ^h	100	100	-	120	100	98	100	98	98	200	6
(43) Tg az. F. (<i>F. acuminatum</i>)	150	90	-	150	98	105	130	120	105	200	7
(41) Heim. T. (<i>F. equiseti</i>)	150	90	-	150	105	100	130	120	105	180	8
(42) Met Taf (<i>F. equiseti</i>)	150	90	-	150	105	100	130	120	105	180	8
(40) Kheim A (<i>F. equiseti</i>)	150	90	-	150	98	98	130	120	105	180	9
(48) TK5-4RP (<i>F. equiseti</i>)	150	90	90	150	98	98	130	120	0	180	10
(47) THT 16 (<i>F. acuminatum</i>)	120	90	90	150	105	105	130	120	105	200	11
(45) 19 TG (<i>F. solani</i>)	190	150	105	180	105	105	125	150	110	300	12
(46) TK 24 (<i>F. sp.</i>)	150	150	105	180	105	98	125	150	110	300	13

- non mise en évidence

TABLEAU 19

Indices de similarité (S) et d'identité (I) entre les zymodèmes rencontrés chez les *Fusarium* étudiés

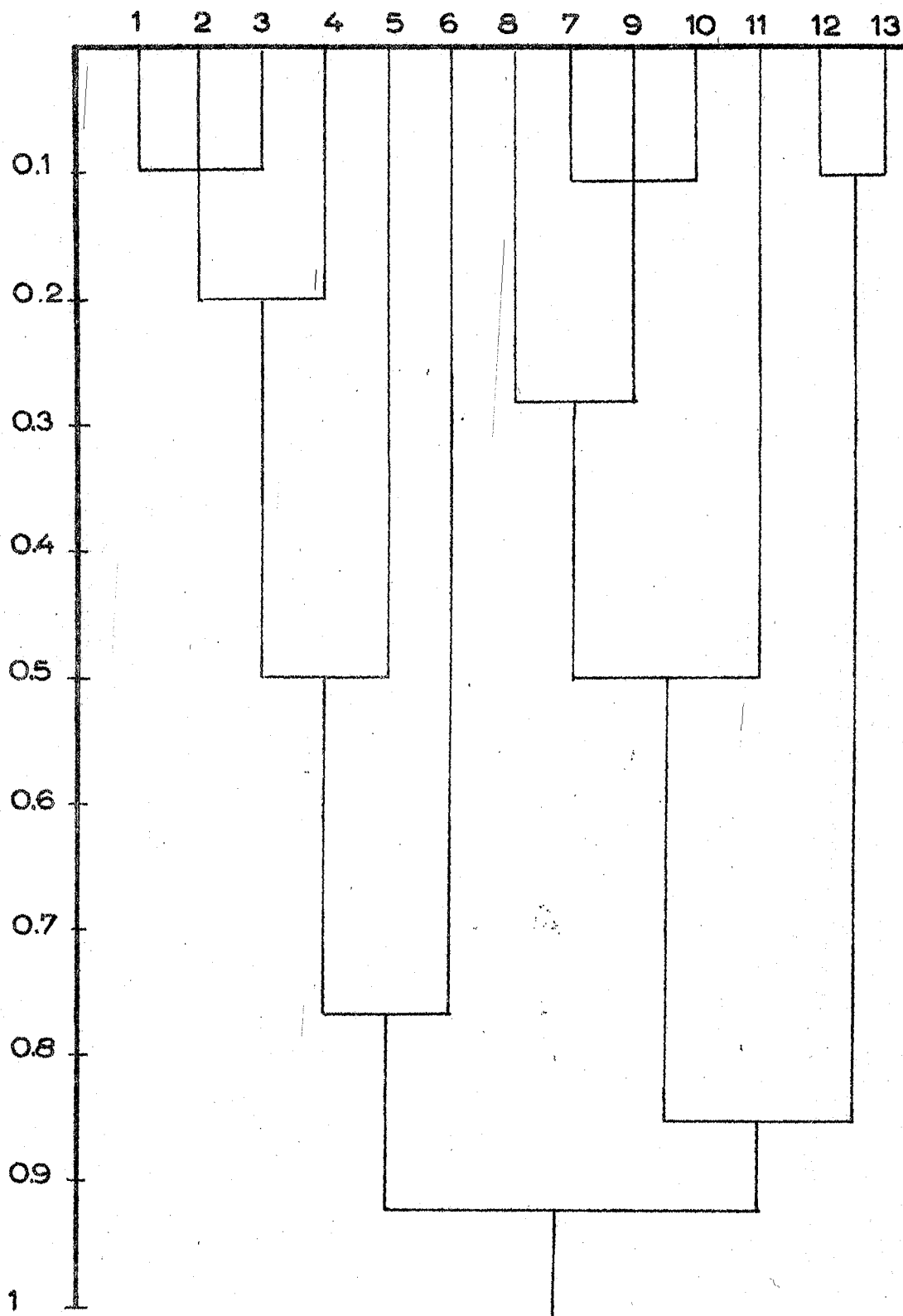
Groupes	Indices de similarité (S) et d'identité (I)														
	S	Z ₁	Z ₂	Z ₃	Z ₄	Z ₅	Z ₆	Z ₇	Z ₈	Z ₉	Z ₁₀	Z ₁₁	Z ₁₂	Z ₁₃	
G ₁	<i>Fusarium</i>	1													
	<i>F.o. albedinis</i>	Z ₁	Z ₁	81											
	<i>F.o. canariensis</i>	Z ₂	0,10		81										
	<i>F.o. melonis</i> <i>F.o. dianthi</i>	Z ₂	0,10		81	53	66	30	0	05	0	0	0	0	0
G ₁	<i>F.o. eleoidis</i>	Z ₃	0,22	0,10		66	53	20	0	05	0	0	0	0	0
	<i>F.o. lycopersiae</i>	Z ₄	0,22	0,35	0,22		33	10	0	0	0	05	05	05	05
	<i>F.o. conglutinans</i>	Z ₅	0,35	0,22	0,35	0,69		10	0	05	0	0	0	0	0
G ₂	<i>F. moniliforme</i>	Z ₆	1,09	1,09	1,5	2,19	1,09		1	0					05
	<i>F. acuminatum</i>	Z ₇	inf.	inf.	inf.	inf.	inf.	1,50		42	66	42	53	35	10
G ₃	<i>F. equiseti</i>	Z ₈	2,19	2,19	2,19	1,50	2,19	inf.	0,40		53	42	42	10	10
	<i>F. equiseti</i>	Z ₉	inf.	inf.	inf.	inf.	inf.	2,19	0,14	0,25		66	38	05	10
	<i>F. equiseti</i>	Z ₁₀	inf.	inf.	inf.	inf.	inf.	2,24	0,25	0,40	0,11		33	05	11
	<i>F. acuminatum</i>	Z ₁₁	inf.	inf.	inf.	inf.	inf.	2,24	0,40	0,40	0,58	0,69		11	05
G ₄	<i>F. solani</i>	Z ₁₂	inf.	inf.	inf.	inf.	inf.	inf.	2,19	1,50	2,19	2,30	1,6		
	<i>F. sp.</i>	Z ₁₃	inf.	inf.	inf.	inf.	2,3	inf.	2,19	1,50	1,50	1,60	2,3	0,105	

- Pour les Pgm : 3 électromorphes : 90, 100, 150.
- Pour les Mdh₁ : 3 électromorphes : 90, 100, 105.
- Pour les Mdh₂ : 4 électromorphes : 100, 120, 150, 180.
- Pour les 6-Pgdh : 3 électromorphes : 98, 100, 105.
- Pour les G-6-Pdh₁ : 3 électromorphes : 98, 100, 105.
- Pour les G-6-Pdh₂ : 4 électromorphes : 98, 100, 125, 130.
- Pour les Got₁ : 4 électromorphes ; 98, 100, 120, 150.
- Pour les Got₂ : 5 électromorphes : 0, 98, 100, 105, 110.
- Pour les Acph₂ : 5 électromorphes : 100, 130, 180, 200, 300.

Les souches étudiées appartiennent à 10 zymodèmes nommés , Z-1, Z-5 (déjà décrits), et Z-6 à Z-13. Comme pour les formes spéciales de *Fusarium oxysporum*, nous avons calculé les indices de WHITNEY et de Nei en comparant les zymodèmes deux à deux. Ils sont tous reportés dans le tableau 19. L'analyse de ce tableau permet de séparer l'ensemble des *Fusarium* , en quatre groupes :

- Le premier (G1) regroupe les zymodèmes 1 à 5 comprenant les *F. oxysporum*.
- Le deuxième (G2) ne comprend que le zymodème 6 correspondant à *F. moniliforme*.
- Le troisième (G3) regroupe les zymodèmes 7 à 11 correspondant aux espèces *F. acuminatum* et *F. equiseti* que certains auteurs regroupent sous le nom de *F. roseum* (tableau 11).
- Le quatrième (G4) comprend les zymodèmes Z-12 et Z-13 correspondant à deux souches , la première 19 TG déterminée par le C.M.I., est un *F. solani* , la seconde non déterminée , TK 24 présente une grande similarité avec 19 TG et pourrait lui être apparentée.

PLANCHE 15



● DENDROGRAMME ETABLI A PARTIR DE L'INDICE DE SIMILARITE

Identité [1-5]

Il apparaît nettement que les groupes génétiques G1 et G2, d'une part, et G3 et G4 d'autre part, partagent des caractéristiques génétiques communes à quelques 20% ($\frac{1,5}{100} = 0,78 - 0,85$) de leurs locus. Par contre il n'existe aucune ou très peu de relations génétiques entre ces deux types de "super" groupes.

Ce découpage en 4 groupes correspond en fait aux 4 espèces reconnues par SNYDER et HANSEN (1954) (Tableau 11). c'est-à-dire G1 au *Fusarium oxysporum*, G2 au *Fusarium moniliforme*, G3 au *Fusarium roseum*, G4 au *Fusarium solani*.

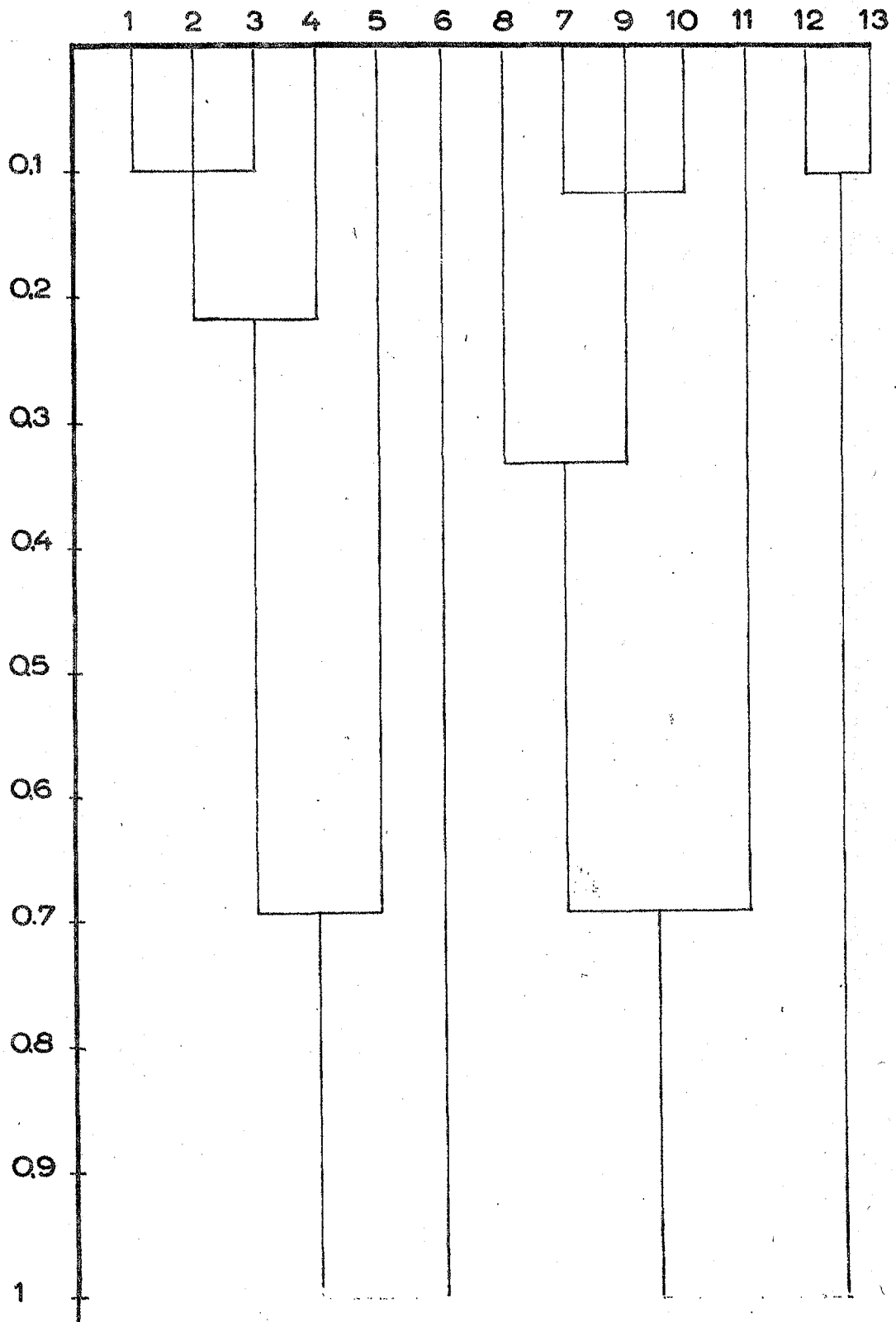
Les indices que nous avons calculés ne tiennent pas compte des mobilités électrophorétiques des systèmes comparés. Cependant, il est remarquable de constater que si on relie la distance de migration au nombre de mutations survenues (tout en sachant que le polymorphisme muet existe) les espèces *F. solani* et *F. equiseti*, qui présentent les électromorphes les plus distants de ceux de *F. oxysporum* sont aussi celles qui en sont le plus éloignées (planches 13, 13, 14, 16).

III - CONCLUSIONS

L'étude électrophorétique que nous venons d'exposer sur les *F.o. albedinis* et d'autres *Fusarium*, basée sur l'analyse de 10 locus codant des enzymes, nous a permis de montrer que :

- 1) Les souches de *F.o. albedinis* possèdent pour ces locus les mêmes allèles.
- 2) Les conditions de culture *in vitro* ne changent pas les motifs électrophorétiques des souches d'*albedinis*.

PLANCHE 16



● DENDROGRAMME ETABLI A PARTIR DES DISTANCES DE NEI

3) Les souches sauvages et les souches issues de leurs monospores, même si elles diffèrent morphologiquement, sont toujours semblables entre elles et avec l'isolat à partir duquel elles ont été obtenues; ce qui signifie que les différences morphologiques ne reflètent pas toujours des différences génétiques et ne devraient pas être seules, prises en compte dans les classifications. Il semble donc que certains caractères électrophorétiques du fait de leur stabilité pourraient constituer l'outil qui manquait aux systématiciens. pour établir une nomenclature objective.

4) Les *Fusarium oxysporum*, groupe G1, présentent une certaine homogénéité génétique; sur dix locus étudiés, cinq locus ont les mêmes allèles, alors que ce nombre n'est plus que de deux environ entre l'espèce *oxysporum* et les autres espèces. La différenciation au sein de l'espèce *oxysporum* semble indépendante de la divergence systématique des hôtes; les formes spéciales prélevées sur le palmier des Canaries *F.o. canariensis* et sur le melon *F.o. melonis* appartiennent au même zymodème (Z-2). Ce zymodème présente, quant à lui, le même degré de différenciation avec *F.o. albedinis* parasitant le palmier dattier (Z-1) et *F.o. elaeidis* parasitant le palmier à huile (Z-3).

Quand plusieurs souches de la même forme spéciale ont pu être étudiées (*F.o. albedinis* 30 souches; *F.o. elaeidis* 4 souches), on constate qu'elles sont semblables entre elles quelque soit leur origine géographique.

Le Bayoud n'est signalé qu'en Afrique du Nord, et il semble qu'il y ait eu un foyer unique au départ, situé quelque part dans la vallée du Draa au Maroc. La progression du Bayoud semble s'être effectuée par étapes successives d'Ouest en Est, suggérant des "effets fondateurs" répétés dans le temps. Ce type de dispersion est connu pour réduire considérablement la variabilité génétique des populations locales et il pourrait être à l'origine de l'absence de variabilité que nous avons constatée entre nos souches d'*albedinis*. Ainsi, s'il existe une variabilité génétique des souches de *Fusarium* responsable du Bayoud il est vraisemblable qu'elle sera maximale dans la zone précise d'apparition de la maladie, et il serait donc intéressant de pouvoir comparer les *Fusarium* de cette région.

De la même façon, il faudrait également comparer nos souches de *F.o.albedinis* avec celles qui ont été décrites sur palmier des Canaries aux Etats Unis, au Japon et en Italie. Dans ce travail nous n'avons étudié qu'une seule souche de *F.o.canariensis* provenant de France : elle se différencie de la forme *albedinis* par un seul électromorphe (1 = 0,1). Comme la maladie sur *Phoenix canariensis* a été signalée dans des régions géographiques n'ayant aucune communication (Italie en 1972, Japon en 1977, et aux Etats Unis en 1981), les foyers sont très probablement indépendants et les souches de *Fusarium* impliquées pourraient être différentes. Si la similarité des trois formes spéciales regroupées dans le zymodème Z-2 était confirmée (après étude d'un plus grand nombre de locus et de souches), il faudrait envisager alors la possibilité qu'une souche particulière soit susceptible de

passer d'un hôte à l'autre. Cependant nous rappelons que le nombre de locus étudié est faible, et qu'il est peut-être prématuré d'émettre une telle hypothèse.

Pour l'espèce *oxysporum*, nous avons vu que les souches présentaient un taux d'identité de 50% seulement. Nous rappelons que, dans un souci de simplification, SNYDER et HANSEN (1945) puis MESSIAEN et CASSINI (1981) ont regroupé les 10 espèces de la section "Elegans" de WOLLENWEBER en une seule. Mais GERLACH (1981) garde encore trois espèces. La méthode biochimique que nous avons utilisée dans ce travail élargie à d'autres systèmes (d'autres gènes) pourrait apporter des caractères complémentaires pour la systématique de cette espèce.

5) le groupe 2 est représenté par la seule souche THm₄ de *F. moniliforme* (au sens entendu par BOOTH, 1971) déterminée par le C.M.I. BOOTH (1971) regroupe dans cette espèce trois espèces et 4 variétés de la section "Liseola" de WOLLENWEBER et REINKING (1935). Mais NIRENBERG (1976) et GERLACH (1981) "éclatent" de nouveau la section en 13 espèces.

Il serait donc intéressant de pouvoir tester le contenu enzymatique de ces treize espèces et de voir si on retrouve une variabilité des locus étudiés du même ordre que celle trouvée pour l'espèce *oxysporum*.

6) Le groupe 3 (Z-7 à Z-11) regroupe deux espèces d'après BOOTH (1971, 1975) : *F. acuminatum* et *F. equiseti* ; ces souches se classent sans ordre précis. Z-7, Z-9 et Z-10 présentent entre elles des degrés de parenté équivalents (I=0,1) bien que Z-7 corresponde à une souche de *F. acuminatum* et Z-9 et

Z10 à des souches de *F. equiseti*. Au contraire, Z8 (*F. equiseti*) n'a que 75% d'allèles communs avec les 3 premiers et Z11. *F. acuminatum* et *F. equiseti* n'ont pas de caractéristiques génétiques propres. Ces deux espèces ont été regroupées par SNYDER et HANSEN (1947, 1954) puis par MESSIAEN et CASSINI (1959, 1968, 1981) dans une seule et même espèce *F. roseum*. Le souci de simplification qui a amené les chercheurs à regrouper dans un même ensemble des souches assez différentes semble correspondre au découpage apporté par la génétique, puisque les deux espèces *F. oxysporum* et *F. roseum* comportent des souches possédant 50% de similarité. La différenciation intra-spécifique que l'on observe est sans doute en relation avec la variation physiologique, morphologique de l'espèce (BOUNAGA 1970) et en fait doit correspondre à la diversité génétique.

7) Dans le groupe 4 (Z12 et Z13) nous trouvons deux souches assez proches ($I = 0,1$) pour pouvoir appartenir à la même espèce : *F. solani*. Ces deux souches ont été isolées des sols des palmiers mais la souche TK24 n'a pas pu être déterminée par le C.M.I. car les spores produites n'étaient pas suffisamment caractéristiques.

Il serait intéressant de comparer différentes souches de *F. solani* car on a décrit dans cette espèce des formes spéciales parasitant certaines plantes ; d'autre part c'est une espèce écologiquement proche de *F. oxyspo-*

rum et il a été envisagé de l'utiliser dans la lutte biologique contre les Fusarioses (ALABOUVETTE 1983, ALABOUVETTE et al. 1984, AMIR et al. 1985).

8) Les relations entre espèces sont hétérogènes mais font apparaître un regroupement G_1 et G_2 avec 25% d'allèles communs. Ce regroupement confirmerait les relations sérologiques qu'ont fait ressortir différents auteurs entre *F. oxysporum* et *F. moniliforme* (MADOSCHING 1964, HORNOK 1977, MARZIANO et al. 1983).

Pour MESSIAEN et CASSINI (1981) elles peuvent laisser supposer que les 2 espèces sont issues d'un ancêtre commun *Gibberella*, forme parfaite d'Ascomycètes à laquelle on rattache *F. moniliforme*.

Il serait donc intéressant de pouvoir comparer dans un travail ultérieur les deux espèces avec des souches de *Gibberella*.

9) Les groupes G_1 et G_4 ne présentent aucune ressemblance et les deux espèces qu'ils recouvrent sont donc bien distinctes. MATSUYAMA et YAKIMOTO (1977) ne trouvent aucune similitude entre les *F. solani* dans les estérases, et SCALA et al. (1981) avec les endopolygalacturonases. Des controverses ont eu lieu pour séparer les *F. solani* et les *F. oxysporum*. BILAL (1955) les classe encore ensemble dans la même section. BUXTON et WARD (1958, 1968) ont aussi avancé des relations entre les deux espèces,

mais ils ont été vivement critiqués (GORDON 1962, 1965). Ces deux espèces dont les exigences écologiques (BRUEL 1981 et ALABOUVETTE 1983) et même physiologiques sont voisines, ne présentent pourtant aucun lien étroit de parenté génétique ; ainsi comme l'a suggéré BOOTH (1975), les similarités entre les deux espèces sont plus un exemple d'évolution parallèle (convergence) qu'une évidence de rapport de parenté.

10) Les relations représentées sur les dendrogrammes à partir de l'indice de Nei de 0,70 n'ont pas grande signification. Les travaux de BONHOMME et ISKANDAR (1984) font d'ailleurs ressortir que plus les taxons divergent plus les différences biochimiques mesurées par électrophorèse sont sous-estimées.

En conclusion : Ce travail (avec les réserves que nous avons apportées concernant le petit nombre d'espèces testées, de souches par espèces, de gènes étudiés) montre que les études électrophorétiques sont susceptibles de fournir aux systématiciens un outil très efficace pour harmoniser la nomenclature des *Fusarium* et éventuellement de leurs parents proches parfaits ou imparfaits.

Selon la coutume nous avons utilisé la nomenclature binomiale. Cependant il faut rappeler que le concept d'espèce chez des organismes asexués est totalement subjectif du fait qu'il n'existe aucun moyen biologique pour la circonscrire, comme cela est le cas de la plupart des organismes diploïdes à reproduction biséxuée. Il est certain

que l'électrophorèse ne permettra pas de résoudre ce problème mais peut-être de classer les groupes en fonction de leurs affinités génétique, c'est donc un moyen complémentaire qui devrait apporter une aide à la classification morphologique.

CHAPITRE QUATRIEME

MORPHOLOGIE - BIOLOGIE - PHYSIOLOGIE

I - MORPHOLOGIE ET MORPHOGENESE

Les pathogènes dans le sol existent en tant que forme de conservation et leur passage à l'état de mycélium est rare et fugace. Quand ils sont mis en culture *in vitro* on devrait parler non de morphologie mais de morphogénèse.

Les *Fusarium oxysporum* sont des champignons imparfaits dont le mycélium produit normalement trois types de spores asexuées microconidies, macroconidies, chlamydo-spores (Planche 17).

Les "*Fusarium oxysporum*" vont présenter en culture, spontanément ou au cours des repiquages, des types morphologiques distincts. Ils ont été décrits par de nombreux auteurs (SNYDER et HANSEN 1940, WAITE et STOVER 1960, MESSIAEN et CASSINI 1968, TOUSSOUN et NELSON 1975). Nous en rappelons rapidement la description :

- Le premier type isolé est caractérisé par un mycélium aérien abondant, floconneux, fin, blanc qui peut produire des sporodochies (amas de conidiophores ramifiés portant des macroconidies), à sclérotos : c'est le type "sporodochial".

Les autres types sans sporodochies, sont au nombre de trois :

- Le mycélium aérien est abondant, mais d'aspect grossier et visqueux, souvent pigmenté ; les macroconidies sont produites sur des conidiophores simples, en pionnotes enfoncées dans le substrat, les sclérotos sont absents : type "*ropy*" traduit par "cordé" (MESSIAEN et CASSINI 1968).

PLANCHE 17

Les différents types de spores produits par Fusarium oxysporum

f.sp. albedinis.

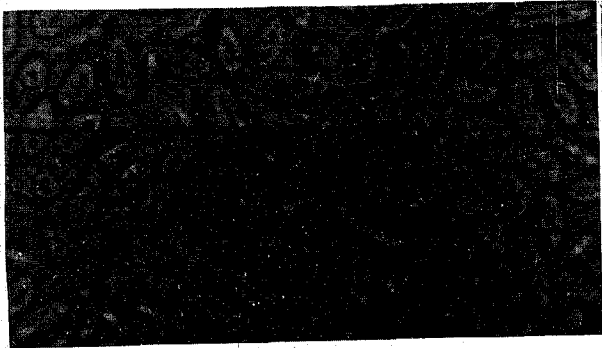


Fig.1- microconidies et macroconidies



Fig.2-Un article de macroconidie se transformant en chlamydo-spores



Fig.3- Macroconidie en quantité

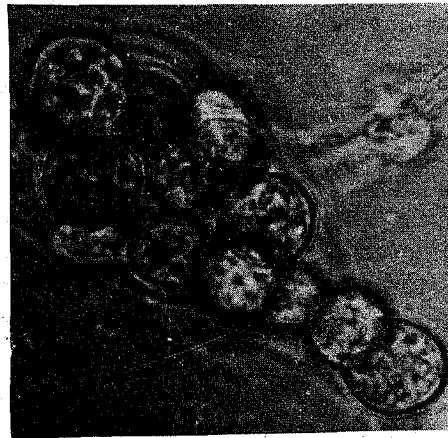


Fig.4- Chlamydo-spores



Fig.5- Phialide à microconidies

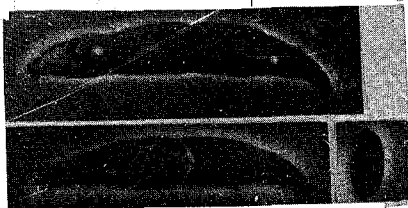


Fig.7- Macroconidies et microconidie

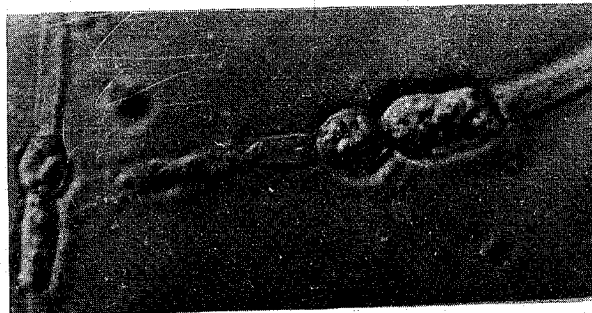


Fig.6- Formation de chlamydo-spores à partir du mycelium

Echelle des Figures 1,2,4,6 et 7: 30μ .
Echelle des Figures 3 et 5: 30μ .

Il produit de nombreuses microconidies dont la taille varie de 3 à 15 μ sur 3 à 5 μ le plus souvent unicellulaires quelques fois bicellulaires (7 à 10 μ sur 3 x 6 μ). Elles sont produites par des phialides en forme de bouteilles implantées perpendiculairement sur le mycélium. Elles sont généralement très nombreuses.

Les macroconidies sont courbes, cloisonnées de 2 à 3 cloisons, rarement plus (de 25 à 35 μ de long et de 3 à 5 μ de large). Elles ne sont produites en quantité par le *Fusarium oxysporum albedinis* que lors du premier isolement en présence de palmier. Dès que le champignon est repiqué il perd sa capacité à produire des macroconidies, quelque soit les expériences réalisées pour les produire (BOUNAGA 1970 en annexe).

Au bout de quelques jours (0 à 12), il produit des chlamydospores de 6 à 20 μ de diamètre soit à partir du mycélium, soit à partir des macroconidies (planche 17). Elles sont lisses et peuvent contenir de nombreux globules lipidiques. Elles sont produites en grande quantité dans les cultures âgées, ou couverte de terre, de sable et de talc .

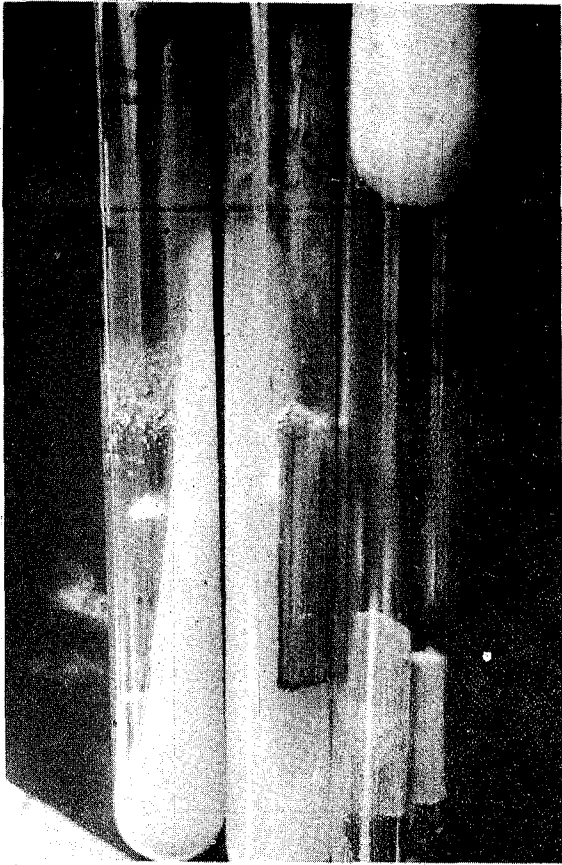
Différents auteurs ont signalé la formation de chlamydospores à partir de microconidies par épaissement de leurs parois. (SEQUEIRA 1962, TELLO MARQUINA et al. 1980, TELLO MARQUINA et ALABOUVETTE 1984).

2. Isolement sur milieu P.D.A.

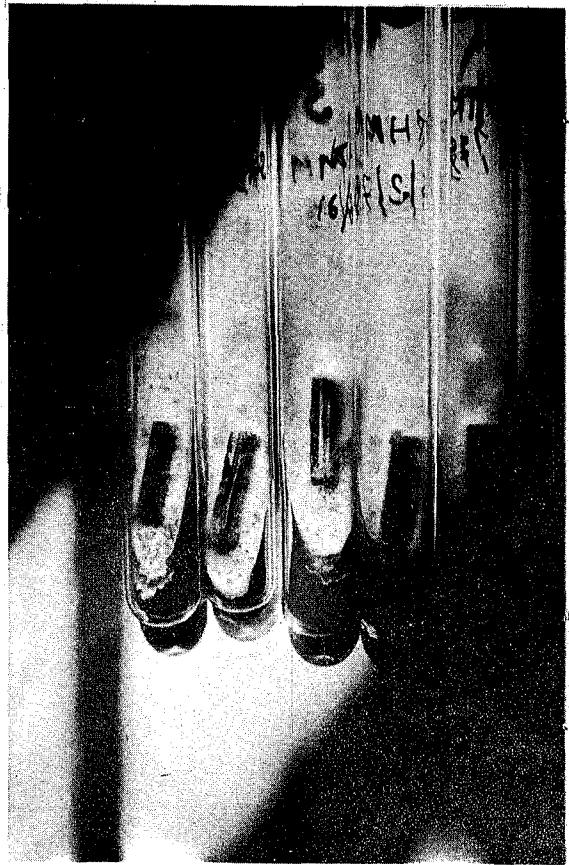
Dès le premier isolement sur tube de P.D.A. le champignon produit des sclérotés bleu noir à la surface du P.D.A. et vers le fond du tube (Planche 18).

PLANCHE 18

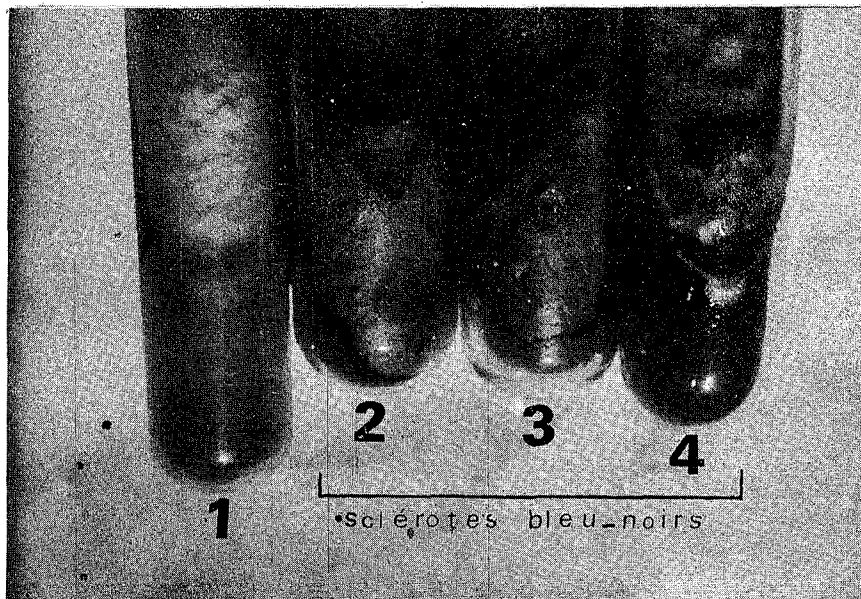
Isolement de Fusarium oxysporum f. sp. albedinis



Sortie du rachis de palmier



Colonisation de tout le tube



1: Aspect colonneux compact.

Ces sclérotas caractériseront les souches que nous appellerons de type "sauvage". Déposés sur milieu gélosé ils germent et redonnent une colonie normale.

Le champignon perd la faculté de les produire dès le 3ème repiquage de même que les macroconidies. Nous pouvons donc caractériser les souches sauvages par leur faculté à produire des macroconidies et des sclérotas ; ces caractères ne se retrouvant plus après le 3ème repiquage.

N'importe quel fragment du thalle peut assurer la régénération d'un organisme complet quand il est placé dans des conditions d'environnement convenable. Des filaments mycéliens isolés, conviennent aussi bien qu'un transfert massif.

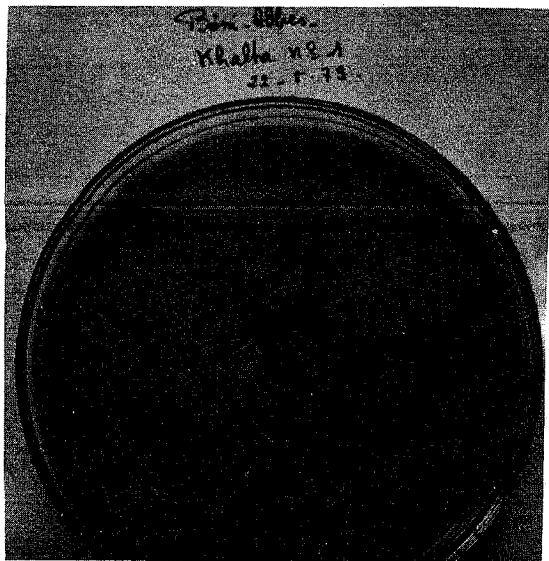
N'importe quel type de spores microconidie, macroconidie ou chlamydospore germeront et redonneront une colonie dans les quelques heures qui suivent leur dépôt sur le milieu.

Cependant les isolements réalisés à l'aide de microconidies issues d'une souche sauvage, pourront donner naissance à des colonies de types morphologiques différents (Planche 19).

Le mycélium pourra être :

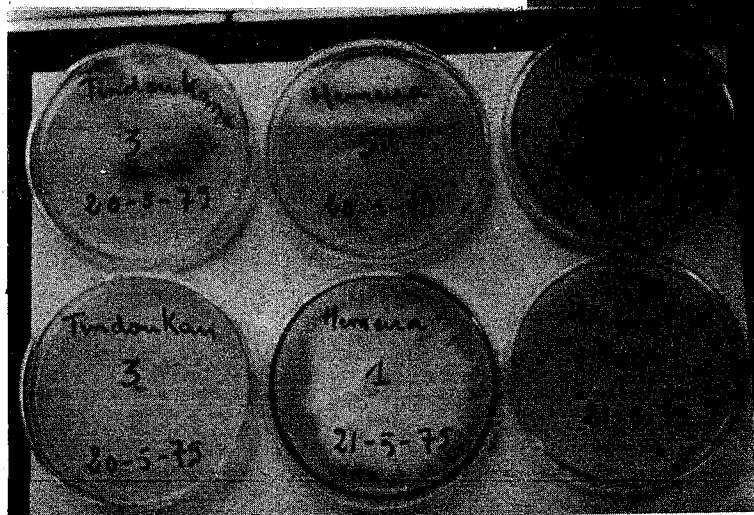
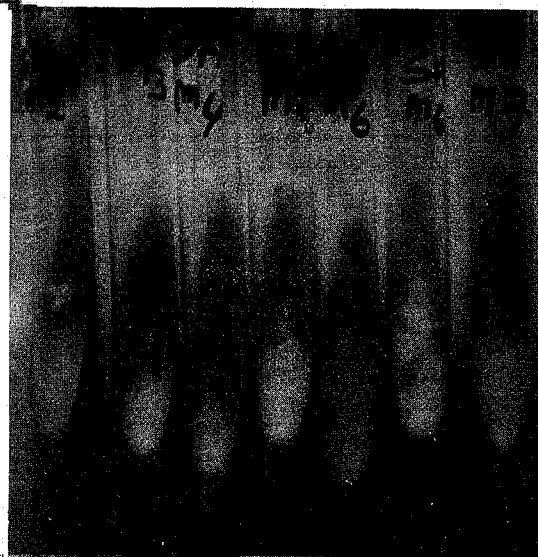
- cotonneux floconneux abondant, ras, pionnotal, visqueux ou cordé suivant les types décrits précédemment.

PLANCHE 19



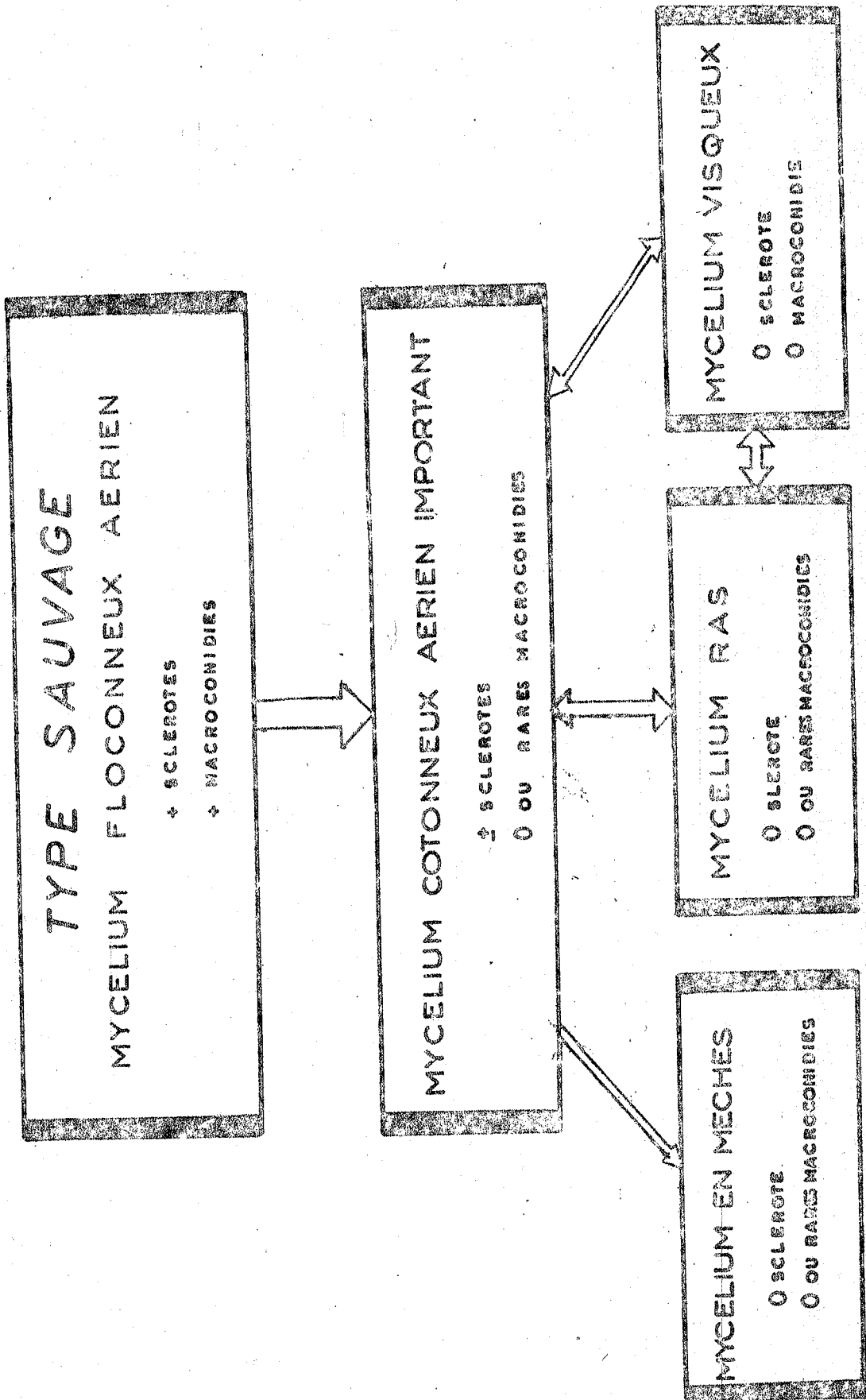
Aspect de Fusarium oxysporum
f.sp. albedinis après repiquage
sur milieu PDA.

Isolements monospores de
la souche GH n° 5



Différentes souches
du parasite sur
milieu PDA.

EVOLUTIONS MORPHOLOGIQUES POSSIBLES RENCONTREES CHEZ F.O. ALBEDINIS



Le type sporodochial décrit par les auteurs pour les autres "*Fusarium oxysporum*" produisant de nombreuses macroconidies n'est que rarement visible, ou seulement sur palmier au 1er isolement.

Contrairement à ce qu'ont affirmé plusieurs auteurs (MESSIAEN et CASSINI 1968) on peut observer des retours à l'une des autres formes (sauf au type sauvage) suivant le schéma ci-contre (Planche 20).

Il n'est pas rare d'observer dans les colonies sur milieu gélosé (P.D.A. ou autres) des "secteurs" où le mycélium n'a pas le même aspect. Ils ont été décrits chez d'autres *Fusarium* et sur de nombreux Ascomycètes (DABOUSSI 1981); les mécanismes de leur production ne sont pas élucidés.

Dans des conditions "d'agression", le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* produit des thallospores, spores intramycéliennes décrites par SABAOU et al. (1981). Elles ont été appelées "chlamydo-spores like body" par NAGAO et HATTORI (1983).

La description morphologique du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* amène un certain nombre de questions qui sont tout autant de problèmes posés par ces *Fusarium*.

Les différentes spores produites : ont-elles les mêmes potentialités ? Ont-elles les mêmes capacités de germination et la même résistance ? Est-ce que les souches issues de ces spores sont semblables physiologiquement ? C'est sous forme de spores que le champignon se maintient dans le sol ou dans la plante.

Les propriétés morphologiques, biologiques et physiologiques des champignons sont rarement le fruit du hasard. Elles apportent des indications aux problèmes rencontrés et aux moyens avec lesquels ils ont été résolus.

II - BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE DU *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *ALBEDINIS*

Bien que la maladie ait été reconnue depuis la fin du siècle dernier, peu de travaux ont été menés sur l'organisme pathogène avant 1968.

MALENCON(1947) après avoir isolé le champignon, étudie ses exigences thermiques, température optimale et température limite.

BULIT et *al.*(1967) affirment, par des tests sur plantules que les souches auraient un pouvoir pathogène différent suivant la partie de l'arbre dont elles proviennent, que le parasite ne semble pas pouvoir subsister dans les zones de drainage fortement salées, et qu'il ne préexiste pas dans les sols désertiques.

DUBOST et *al.*(1970) étudient la production d'enzymes pectinolytiques d'une souche de champignon. SAAIDI et RODET(1974) testent l'efficacité de 2 fongicides sur le *F.o.albedinis in vitro*.

Nous rappelons ici les principaux résultats des travaux que nous avons réalisés sur la biologie et la physiologie du *F.o.albedinis* publiés ou inédits.

1. Germination : (BOUNAGA 1970 , BOUNAGA 1973, et non publié)

Les *F. oxysporum* , en tant que saprophytes vivent dans le sol, mais ils sont aussi capables d'acquiesrir un pouvoir parasitaire qui leur permet de se développer dans les plantes.

Cependant dans le sol, ils sont présents sous formes de spores, organes de dissémination de reproduction et de résistance, et dans certains microsites sous forme de mycélium.

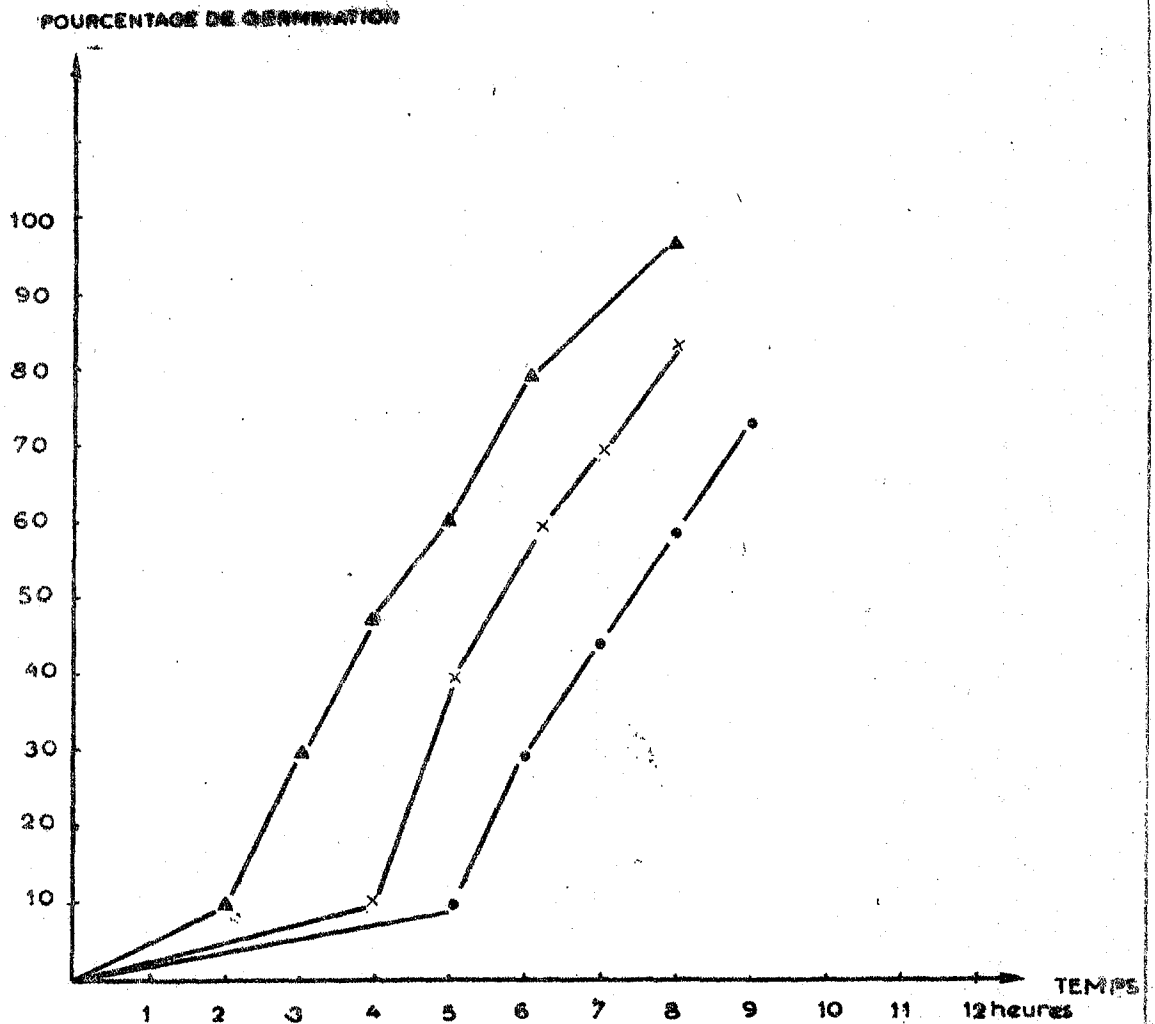
Cette aptitude à former des spores est un des caractères de succès des champignons phytopathogènes.

En culture *in vitro*, en cas de stress, de mauvaises conditions, d'attaque, le champignon sporule abondamment ou se transforme totalement en chlamydospores et en thaliospores (SABAOU et al. 1981, NAGAO et HATTORI 1983).

D'après les recherches effectuées les chlamydospores peuvent résister très longtemps dans les sols (GRIFFIN 1973).

Parmi les traitements préconisés pour désinfecter le sol figure l'injection sous pression de vapeur d'eau ou de substances chimiques diverses. C'est pourquoi, il est important d'étudier les caractéristiques de ces spores, leur germination et également leur résistance à la chaleur, problème que nous avons abordé dans ce travail. Ce n'est d'ailleurs qu'un aspect préliminaire d'une étude qui devra être conduite dans le sol, dans les conditions les plus proches de la réalité.

PLANCHE 21



● POURCENTAGE DE GERMINATION DES MICROCONIDES [.] ,
DES MACROCONIDIES [x] , ET DES CHLAMYDOSPORES [▲]
EN FONCTION DU TEMPS .

1.1- Cinétique de germination des spores

La germination des différents types de spores sur milieu gélosé a été étudiée. Les résultats sont portés sur le graphe de la planche 21. Pour chaque type de spores, on observe une courbe biphasique.

Les chlamydospores germent les premières. Dès la deuxième heure d'incubation, on peut compter jusqu'à 10% de spores germées, et après six heures, plus de 80%.

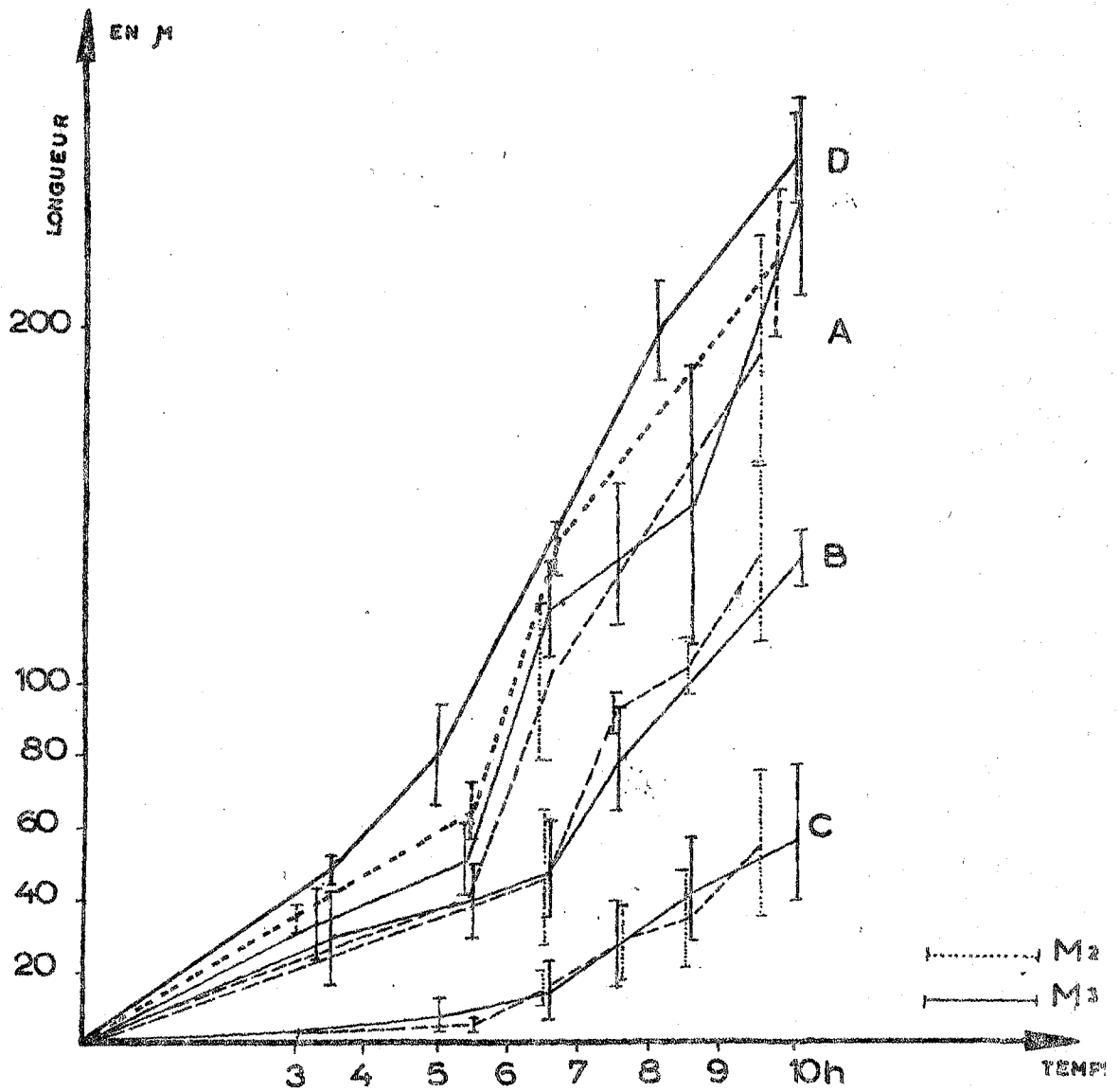
Les macroconidies commencent à germer au bout de trois heures, et la presque totalité a germé après neuf heures. Les microconidies germent les dernières, vers la cinquième heure, et le pourcentage maximum n'est obtenu que vers la dixième heure.

SABAOU et al. (1981) étudiant l'activité d'un actinomycète contre le *Fusarium oxysporum albedinis* montrent que les thallospores germent toutes après cinq heures trente d'incubation, donc encore plus rapidement que les chlamydospores.

Nos résultats sont proches de ceux de WILSON (1960) qui constate que la germination des chlamydospores de *Fusarium oxysporum cubense* est au moins aussi rapide que celle des macroconidies alors que les microconidies ne germent que plus tardivement. GRIFFIN (1981) attribue ce résultat aux conditions opératoires utilisées par WILSON : flacons de Warburg où la concentration en spores est très élevée.

Cependant nos expériences en boîte de Pétri, confirment les résultats de WILSON : quelle que soit la concentration en spores les microconidies germent plus lentement que les autres spores.

PLANCHE 22



CROISSANCE COMPAREE DES TUBES GERMINATIFS
 DES SPORES DE 2 SOUCHES DE FUSARIUM OXYSPORUM
ALBEDINIS. A : Macroconidies ; B : Microconidies bicellulaires
 C : Microconidies unicellulaires ; D : Chlamydospore

GRIFFIN (1981) ajoute qu'il n'y a eu que très peu de travaux sur les microconidies. Ce sont pourtant les spores les plus abondantes chez les *Fusarium oxysporum*.

On peut penser que sur milieu pauvre, ce sont les spores contenant le plus de réserves qui germeront le plus vite. MARCHANT (1966), GRIFFIN (1973), et VAN ECK et SCHIPPERS (1976) montrent que les macroconidies et les chlamydospores de divers *Fusarium* ont une haute teneur en lipides. RAHMANIA (1982) a pu mettre en évidence l'augmentation des réserves lipidiques au cours de la formation des chlamydospores de *Fusarium oxysporum albedinis* et le faible niveau en réserves lipidiques des microconidies.

Différents auteurs ont montré que l'adjonction de sucres (oses et diholosides) augmentent la teneur en lipides des macroconidies et le pourcentage de germination des chlamydospores (GRIFFIN 1981, ALABOUVETTE 1983). Il serait intéressant de vérifier si les variations de concentration en carbone et en azote exogènes favorisent aussi la germination des microconidies.

1.2 - Formation des tubes germinatifs

(BOUNAGA 1975 en annexe)

L'étude précédente a montré qu'à 28°C sur milieu gélosé, les chlamydospores sont les premières spores à germer. Sur le graphique de la planche 22, on peut observer que leurs tubes germinatifs sont plus longs que ceux des autres spores. Les macroconidies ont une croissance proche de celles des chlamydospores. Les microconidies uni et bicellulaires ont des tubes germinatifs plus courts.

[D'après SABAOU et al. (1981) les tubes germinatifs des thallospores ont une croissance égale à celles des macroconidies.]

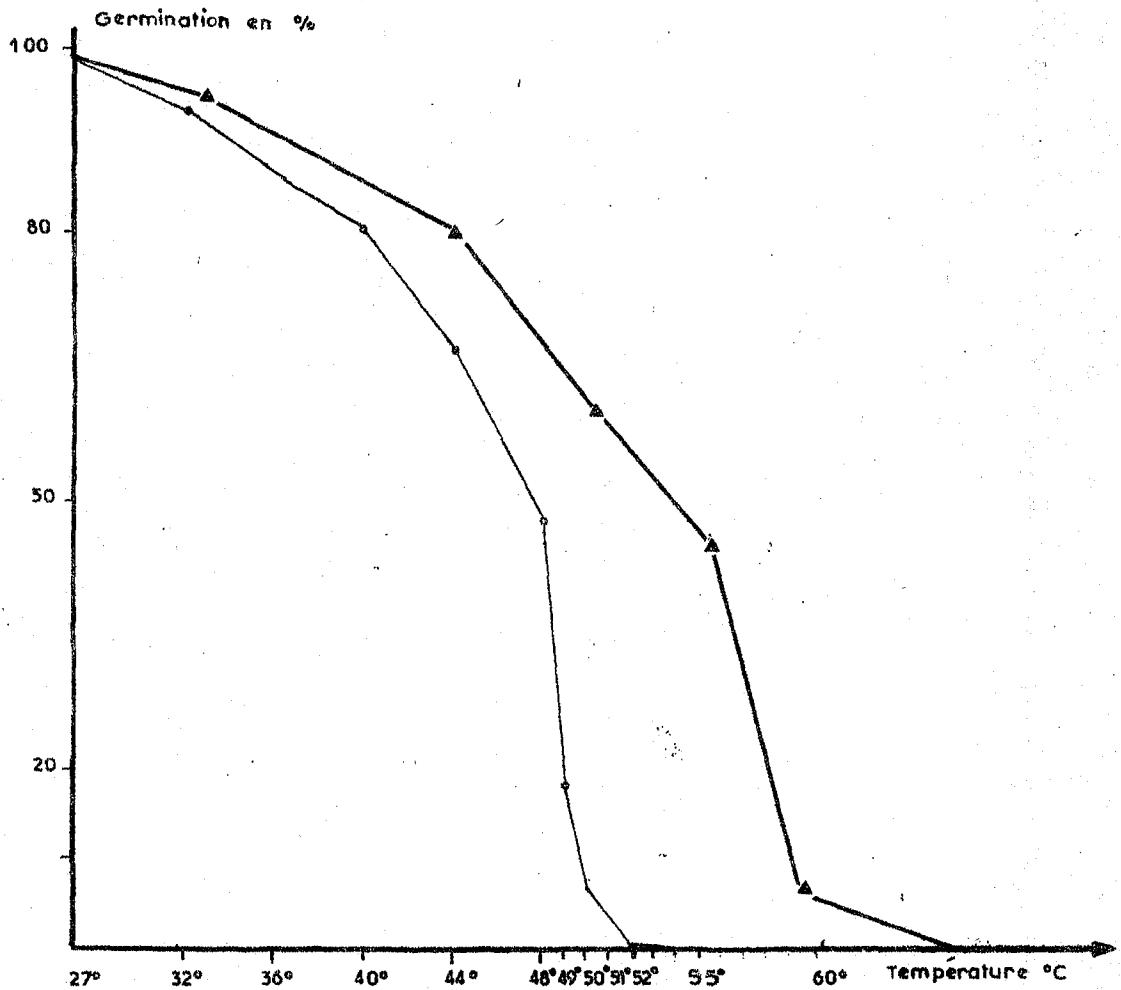
[Toutes les spores présentent une germination en trois phases : une première phase lente, qui dure de 0 à 5 heures, une deuxième phase entre la 5ème et la 10ème heure où l'allongement des tubes germinatifs est important ; une troisième phase après 10 heures marquée par une croissance complexe due à la formation et à la germination d'un nouvel effectif de spores. Tout se passe comme si la longueur des tubes germinatifs était fonction de la quantité de cytoplasme et de réserve des spores. WILSON (1960) trouve les microconidies et avance alors que si ce critère est retenu, les macroconidies sont des spores dormantes. Cependant, si la formation des tubes germinatifs et le temps de germination sont utilisés comme critères pour définir la dormance, nous pouvons avancer que contrairement à l'opinion des auteurs (GRIFFIN 1981) les chlamydo-spores et les macroconidies ne sont pas dormantes comparées aux microconidies.

Ces spores qui sont des organes de résistance peuvent mobiliser dans des délais très courts toutes leurs réserves afin d'initier la formation de tubes germinatifs lorsque les conditions de germination sont réunies.

1.3.- Effets de la température sur la germination des microconidies et des chlamydo-spores

Après incubation des spores dans l'eau distillée pendant une heure aux températures choies, elles

PLANCHE 23



● VARIATION DU POUVOIR GERMINATIF DES MICROCONIDIES [●] ET DES CHLAMYDOSPORES [▲] AYANT PASSE UNE HEURE AUX TEMPERATURES PORTEES EN ABSCISSE (COMPTAGES EFFECTUES 24 HEURES APRES L'ENSEMENCEMENT).

sont ensemencées sur milieu gélosé. Le graphique de la planche 23 montre : le pourcentage de germination des microconidies et de chlamydo-spores mesuré 24 heures après l'ensemencement.

Pour les microconidies nous observons : entre 28°C et 40°C une diminution lente (de 98% à 66%) et entre 44°C et 52°C une chute rapide (à 52°C il n'y a plus que 6% de spores qui germent); à 60°C quelques spores subsistent (1 pour 1000). La lecture, le 2ème jour, ne modifie pas ces valeurs, ce qui montre bien que les spores sont tuées à cette température.

Pour les chlamydo-spores, la courbe à la même forme, mais les valeurs sont décalées ; le pourcentage de germination à 44°C est encore de 80%; il ne descend au dessous de 50% qu'à 55°C; à 60°C, 6% de spores sont encore capables de germer. A 70°C aucune spore ne germe au bout de 24 heures, mais une lecture faite le 2ème jour et le 3ème jour met en évidence que toutes les chlamydo-spores ne sont pas tuées. Après avoir passé une heure à 80°C, quelques spores pourront résister et germer au bout du 6ème jour. L'augmentation de la température affecte à la fois le pourcentage et la durée de la période de latence, ce que montre le tableau 20. HUANG et al. (1983) obtiennent des résultats comparables pour *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*.

Les chlamydo-spores qui sont des spores de résistance, ne sont pas toutes de même taille ; leur enkystement est progressif .

TABLEAU 20

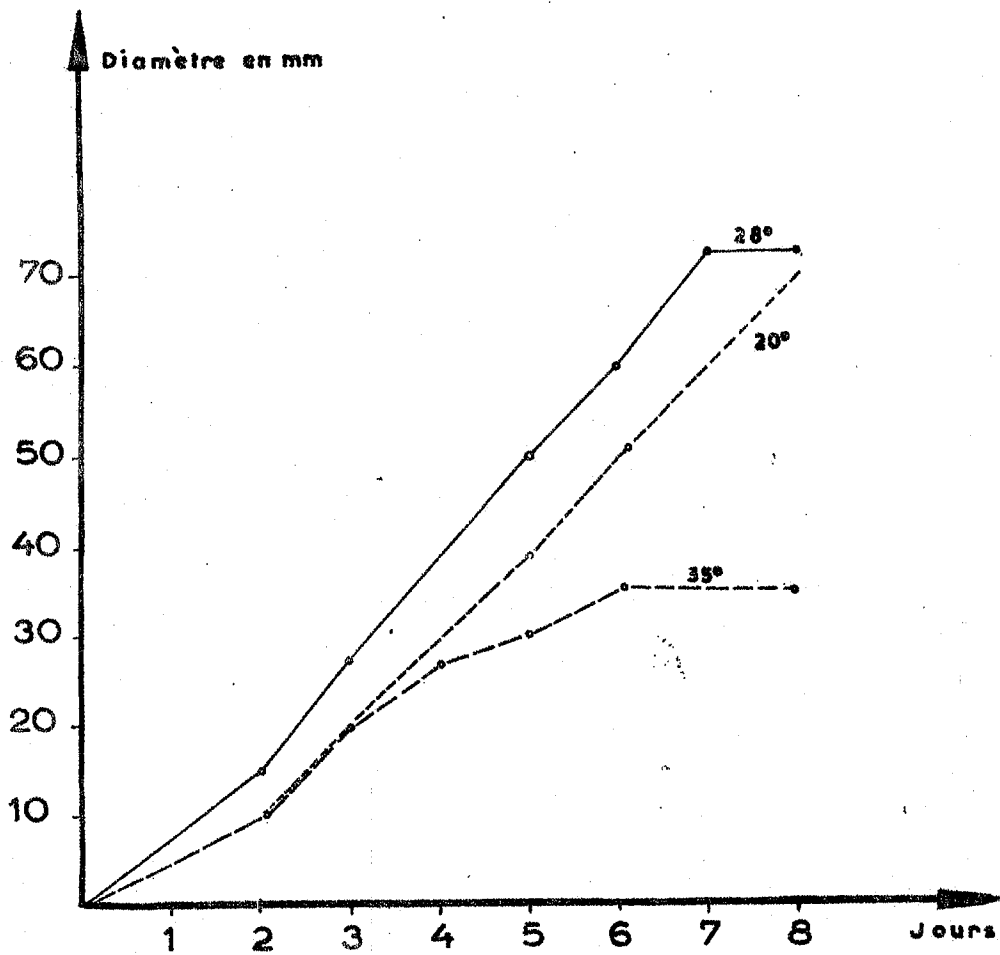
Effet de la température sur la germination des chlamydo-
spores (exprimé en pourcentage, après un passage d'une
heure aux températures choisies)

t_p C° \ lecture	26-28°	30-32°	38-40°	44-46°	54-56°	60-72°	70-72°	80°
2h.	10	8	5	0	0	0	0	0
3h.	30	25	10	7	3	0	0	0
4h.	48	45	18	13	11	0	0	0
5h.	60	55	40	38	23	2	0	0
6h.	85	75	50	45	35	6	0	0
24h.	98	98	95	65	48	6	0	0
48h.				80	-	+	+	0
144h.					-	+	+	+

- non lu

+ quelques spores

PLANCHE 24



CROISSANCE DU F.O. ALBEDINIS, SUR P.D.A., EN FONCTION DU TEMPS : A 20°-28° et 35°

Il est donc normal que leur résistance à différents facteurs varie avec leur degré de maturité, et il semble important de tenir compte de "l'âge" de ces spores pour les expérimentations ultérieures. Cette résistance des chlamydo-spores à la chaleur est un facteur à prendre en considération dans l'optique éventuelle de la désinfection des sols par injection de vapeur d'eau ou par fumigation.

Ces résultats préliminaires obtenus en conditions contrôlées et après incubation dans l'eau, sont à poursuivre en incorporant les chlamydo-spores au sol avant le traitement à la chaleur, et en augmentant la durée du traitement.

III - CROISSANCE DU CHAMPIGNON (BOUNAGA 1970

et BOUNAGA 1975 en annexe)

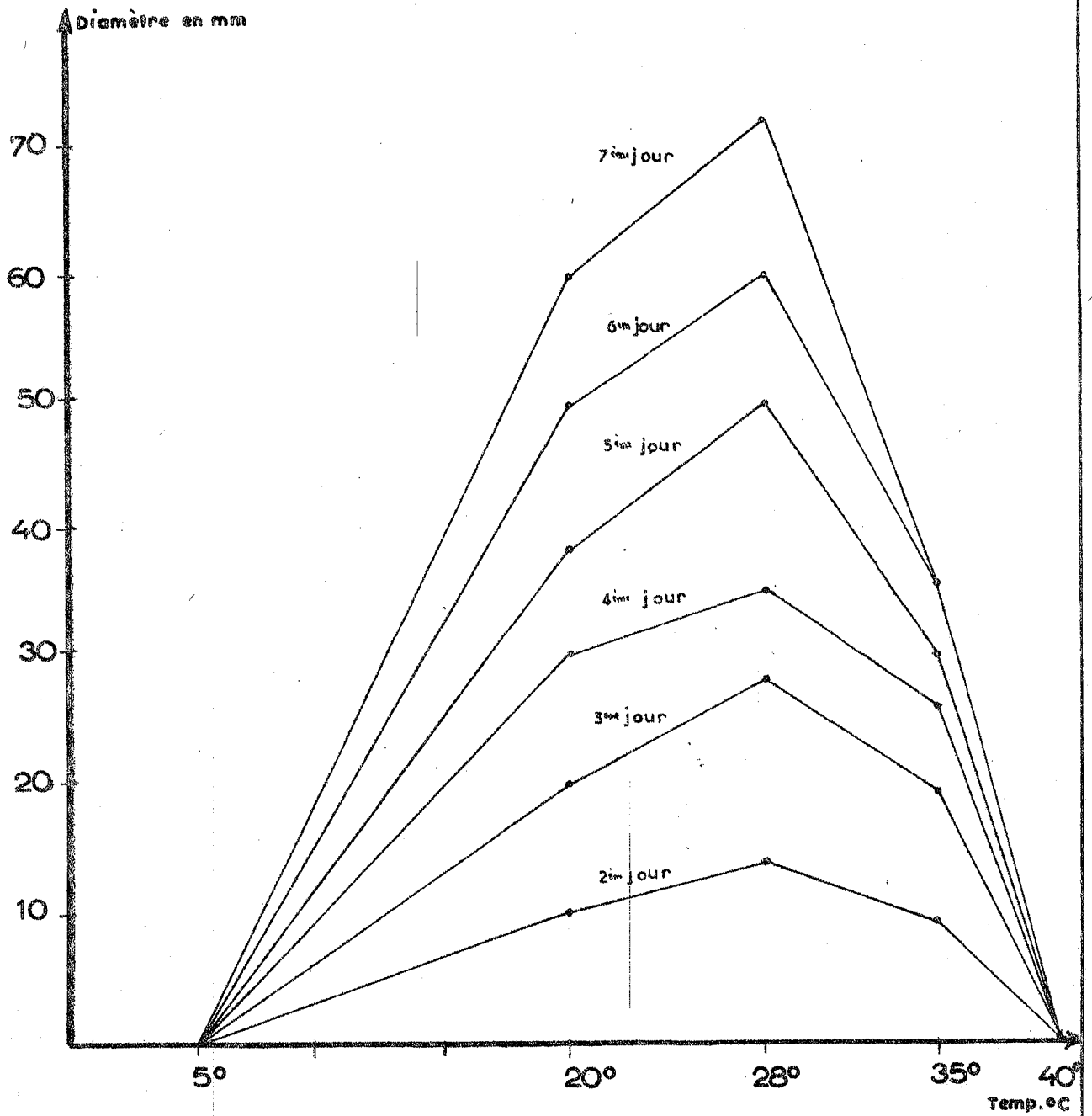
1 - Influence de la température sur la croissance linéaire du champignon

Les planches 24 et 25 montrent la croissance du *Fusarium* sur milieu solide à différentes températures.

Nous constatons que la température optimale pour la croissance se situe entre 27 et 28°C. A 38°C le champignon se développe jusqu'au 6ème jour, puis la croissance semble s'arrêter, le diamètre du mycélium restant constant.

Nos résultats confirment ceux obtenus sur *F. o. albedinis* par MALENCON (1947) et ceux de EL ABIAD et SALEH (1971) sur *F. o. vasinfectum*. C'est aussi entre 21° et 28°C que se situe la croissance optimale de divers *Fusarium oxysporum* des sols (ROSS 1960).

PLANCHE 25



• COURBES DE CROISSANCE DU F.O. ALBEDINIS DE 5° A 40°
A DIFFERENTS JOURS D'INCUBATION -

2 - Le milieu

Dans un des essais préliminaires (BOUNAGA 1970 et 1975) nous avons pu montrer :

- que la modification du milieu liquide, Czapeck Dox (ou saccharose nitrate), en remplaçant le nitrate de sodium par du phosphate d'ammonium, permet d'obtenir une meilleure croissance du *Fusarium*.

- que les vitamines ne semblent pas indispensables à la croissance.

- que le mode de stérilisation des milieux n'influe pas sur la croissance

- que l'agitation des cultures permet une croissance plus rapide, le maximum étant obtenu après 9 jours contre 21 jours en culture stable.

- qu'un rapport C/N de 25 (avec 12g de C par litre, soit 30g de saccharose par litre, et 0,47g d'azote/l, soit 3,25g de $PO_4(NH_4)_2H$) était le plus favorable.

3 - Le pH

Nous avons étudié l'influence du pH sur la croissance de *F.o.albedinis* en utilisant les tampons suivants :

- glycine HCL 50 mM : pH 2,15 - 3 - 3,45
- phosphate de K 50 mM : pH 5,1 - 6,1 - 7 - 7,95
- glycine Na OH 50 mM : pH 8,5 - 8,9 - 9,95 - 10,4

Nous constatons : qu'aux pH extrêmes, 2,15 et 10,4 le champignon peut encore se développer mais très faiblement; qu'en milieu phosphate, l'optimum se situe vers pH 6; et qu'en milieu tamponné renfermant du glyco-collé, la croissance est très forte en particulier dans

la zone des pH acides. Dans ce dernier cas la présence de glycolle peut expliquer ces résultats, car si nous ajoutons du glycolle au milieu tamponné au phosphate la croissance du champignon est sensiblement plus forte. Il est important de signaler qu'en milieu de Czapek Dox normal, donc peu tamponné le développement du *Fusarium* pendant les neuf premiers jours, se fait aussi bien qu'en milieu tamponné au phosphate à pH 6,1.

Les résultats publiés montrent que la zone de pH favorable pour la croissance des *Fusarium* se situe entre pH 5 et 7 (ROSS 1960, TANDON et AGARWALL 1957). Signalons aussi que cette caractéristique a été utilisée par BAKER (1981) pour essayer de limiter le développement du *Fusarium oxysporum cubense* dans le sol en modifiant le pH par chaulage.

4 - La nutrition azotée

L'azote minéral ne permet qu'une faible croissance du champignon, toutefois sous forme ammoniacale (1) permet un meilleur développement que sous forme nitrrique.

L'azote organique assure une croissance pondérale importante surtout quand il se trouve sous forme de molécule complexe, à masse moléculaire élevée comme dans la peptone. Mais pour notre étude de physiologie nous avons utilisé le phosphate d'ammonium, car l'asparagine, la peptone, ou le glycolle, comme nous l'avons démontré précédemment, intervenant aussi comme source de carbone, risquent de faire attribuer à l'azote une action réellement due à un apport de carbone. D'après l'analyse des résultats de différents auteurs, il semble que la

plupart des *Fusarium* pathogènes préfèrent l'azote organique à l'azote minéral (WOLF 1955 , LOPEZ et FERGUS 1965 , BONN et CAPPELLINI 1970).

5 - Action du chlorure de sodium

In vitro, le chlorure de sodium ne peut être un facteur limitant la croissance du *Fusarium oxysporum albedinis* sauf à de fortes concentrations supérieures à 100g/l. Les eaux salées d'irrigation des palmeraies, ne contenant pas plus de 14g/l d'un mélange de sels, ne gênent nullement la croissance du champignon, d'autant plus que selon MONCIERO (1954), ces sels se neutralisent mutuellement. C'est peut-être l'effet du pH du sol qui a été un des facteurs limitant dans l'apparition du *Fusarium oxysporum albedinis* dans les sols de l'Oued Rhir du Sahara algérien.

6 - La nutrition carbonée

La pectine et le mannose se sont révélés en culture stable, les sources les mieux utilisées mais si en milieu solide les deux sources permettent une égale croissance, en milieu liquide la pectine donne un résultat très supérieur à celui du mannose. Le glucose et les autres sources de carbone moins utilisées assurent des croissances diverses comme l'indique le tableau suivant .

TABLEAU 21

Croissance du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*
sur différentes sources de carbone

Sources	Milieu liquide stable	Milieu solide	
	Croissance en % par rapport au glucose après 7 jours	Sources testées	Croissance journalière en Cm
Pectine	500 %	Pectine	0,71
Mannose	147 %	Mannose	0,71
Glucose	100 % (=25 mg)	Glucose	0,67
Tréhalose	98 %	C.M.C.	0,66
Xylose	96 %	Saccharose	0,66
Maltose	89 %	Poudre de cellulose	0,60
Saccharose	89 %	Amidon	0,57
Galactose	73 %	Arabinose	0,51
Raffinose	73 %	Xylose	0,42
Arabinose	72 %		
Ribose	65 %		
Fructose	64 %		
Amidon	42 %		
Lactose	35 %		
Czapack sans sucre	4 %		

C.M.C. = carboxy-méthyl-cellulose

Ces résultats nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

La pectine, polymère d'acides galacturoniques, est la meilleure source de carbone. Son métabolisme libère-rait des composés carboxylés, qui seraient donc mieux assimilés et métabolisés. Les pectines, constituants permanents de la cellule végétale, et substances très hydrophiles, semblent jouer un rôle important dans le métabolisme hydrique du végétal (COURTOIS 1968); et par conséquent leurs destructions, provoquant des perturbations anatomiques et métaboliques, pourraient concourir au phénomène de flétrissement observé dans les maladies vasculaires.

Le galactose (sous forme uronique, il est le principal monomère des pectines) constitue une médiocre source de carbone ; on peut penser que ce sont les groupements carboxyliques de l'acide galacturonique provenant des pectines qui accélèrent le transport à travers les parois du champignon et permettent son métabolisme.

En ce qui concerne le mannose, c'est un sucre bien assimilé par le *Fusarium* donc le champignon semble bien équipé en enzymes mannolytiques. Or nous savons d'une part que le mannose est un des constituants réguliers des spores de champignons, il semble jouer un rôle important dans la morphogénèse de ceux-ci (AURIOL 1973), d'autre part qu'à une période de son cycle biologique, le palmier synthétise des mannanes, principaux constituants de l'albumen de la graine (ROBIC et PERCHERON 1973). L'affinité du *Fusarium oxysporum albedinis* pour le mannose nous amène à penser que les

parois des cellules de palmiers sont, elles aussi, riches en mannose et que le sol dans lequel se trouve les graines et les débris de palmier constitue un milieu très favorable à la conservation du parasite.

Les résultats sur la nutrition carbonée obtenus depuis 1958 par différents auteurs (*in* BOUNAGA 1970) font apparaître : la nature "omnivore" du genre *Fusarium*, les variations physiologiques qu'on enregistre chez la même espèce (exemple *Fusarium oxysporum* REID 1958), mais aussi chez deux souches de la même espèce (LOPEZ et FERGUS 1965). Cet aperçu d'ensemble de nos études et de celles des chercheurs fait ressortir la complexité du comportement physiologique des *Fusarium*. Ceci nous a amené à approfondir l'étude du métabolisme glucidique, clé du comportement du champignon dans le sol et dans la plante, pour essayer d'apporter une contribution à la connaissance des mécanismes phytopathologiques qui sont avant tout un rapport de "nourriture" entre la plante et le champignon.

CHAPITRE CINQUIEMEMETABOLISME DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *ALBEDINIS*
SUR DIFFERENTES SOURCES DE CARBONE : RAPPORTS ENTRE
LEUR STRUCTURE MOLECULAIRE ET LEUR UTILISATION

Il nous a semblé indispensable de compléter nos travaux précédents par l'étude de la croissance du *Fusarium* sur des milieux renfermant une gamme plus importante de sources de carbone; ceci, afin de vérifier s'il existe une relation entre la structure stéréochimique des sucres utilisés et leur taux d'assimilation par le champignon.

Dans l'hôte, le champignon dispose de toute une gamme de composés, allant des oses aux polysaccharides, ainsi que certains dérivés acides et autres composés polymères de la lignine.

De nombreuses enzymes sont concernées dans le métabolisme de ces molécules glucidiques et on sait toute l'importance de la conformation des substrats, vis-à-vis des enzymes.

Nous n'avons pas fait d'étude enzymologique concernant ces problèmes, mais nous avons choisi une autre approche : celle de commencer par vérifier les composés glucidiques qui, effectivement, sont utilisés par le champignon dans toute une gamme de composés possibles. C'est ainsi que nous avons étudié la croissance du *F.o.albedinis* sur des milieux renfermant :

- des oses et des dérivés d'oses,
- des di et triholosides
- ainsi que des polyholosides solubles et insolubles et des constituants de la lignine.

1 - ETUDE DE LA CROISSANCE DU *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP.

ALBEDINIS SUR DIVERS GLUCIDES

1 - Rapport entre la stéréochimie des oses et quelques uns de leurs dérivés et la croissance du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*
(BOUNAGA 1976 en annexe)

Le *F.o.albedinis* (souche F5mol) a été mis en culture en présence de 18 oses et dérivés.

Nous avons montré qu'il peut utiliser à des degrés divers :

- 8 oses (L-arabinose, D-mannose, L-rhamnose, D-xylose, D-glucose, D-fructose, L-sorbose et D-galactose).
- 4 dérivés alcooliques des oses (adonitol, sorbitol, mannitol, dulcitol).
- 1 polyol non glucidique (mésos-inositol), ainsi que l'acide pectique et l'acide glucuronique.

Les résultats montrent que :

- Les dérivés alcooliques des oses sont mieux métabolisés que les oses eux-mêmes, ces résultats sont confirmés par SUIKHO (1983), qui montre cependant que les oses permettent une meilleure fermentation. Le mésos-inositol est une bonne source de carbone, mais le mésos-érythritol et le DL-aldéhyde glycérique ne sont pas utilisés.
- Les oses sont tous métabolisés par le *F.o.albedinis*, mais il assimile plus vite les pentoses.
- L'acide pectique, polymère de l'acide galacturonique est mieux utilisé que l'acide galacturonique. L'acide glucuronique, à faible concentration (C = 6), permet une faible croissance.

Il ressort de ces travaux que les dérivés alcooliques des sucres sont peut-être favorisés par leur structure en chaîne ouverte et pourraient donc permettre une pénétration plus facile. En ce qui concerne les oses, l'encombrement sur le carbone 5 des hexoses (exception faite du mannose) pourrait être responsable de la croissance faible du champignon par rapport aux pentoses (de l'arabinose ou xylose), mieux utilisés, car ayant des substitutions plus simples.

Il est par ailleurs assez surprenant de constater, que le L-arabinose induit la synthèse d'une galactosidase en quantité 4 fois supérieure au L-galactose (COOPER et WOOD 1974). SUKHO (1983) montre que l'arabinose tout en permettant une croissance inférieure au galactose, est plus inducteur de galactosidase que ce dernier.

2 - Rapport entre la structure moléculaire des di et triholosides et leur utilisation par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* *

Huit diholosides et un triholoside sont fournis au champignon, seuls ou en mélange.

Ils sont tous utilisés par le *F.o.albedinis* sauf le lactose qui ne l'est que très faiblement, et ils permettent pour la plupart une croissance du champignon supérieure à celle donnée par les oses. Après trois repiquages successifs sur milieu lactosé, le champignon ne semble pas pouvoir s'adapter au lactose. Dans nos conditions expérimentales le *Fusarium* ne paraît donc pas induire une β galactosidase.

Le tréhalose est le diholoside qui permet la meilleure croissance et cela n'est pas étonnant puisque le tréhalose représente le glucide de réserve par excellence des

champignons. BROWNLEE et JENNING (1981) ont montré par ailleurs que le tréhalose est la forme la plus importante par laquelle les sucres sont transloqués. D'autre part, les diholosides formés du même ose (glucosyl-glucose) sont mieux métabolisés que les diholosides formés d'oses différents. Ceci peut s'expliquer par l'hypothèse suivante : les oses seraient d'abord dimérisés avant d'être transportés et utilisés par le champignon. La vérification de cette hypothèse pourrait être apportée par l'étude *in vitro* de cette dimérisation à partir d'extraits enzymatiques du *Fusarium* ou de concentrat de milieu de culture.

3 - Rapport entre la structure moléculaire des polymères glucidiques et leur utilisation par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*

Les substrats utilisés dans ces expériences sont tous des glucanes, sauf l'inuline qui est un fructane et la pectine qui est un polymère de l'acide galacturonique, dont le groupement carboxylique peut être estérifié par le méthanol.

3.1- Résultats et discussions

3.1.1- Les polymères solubles

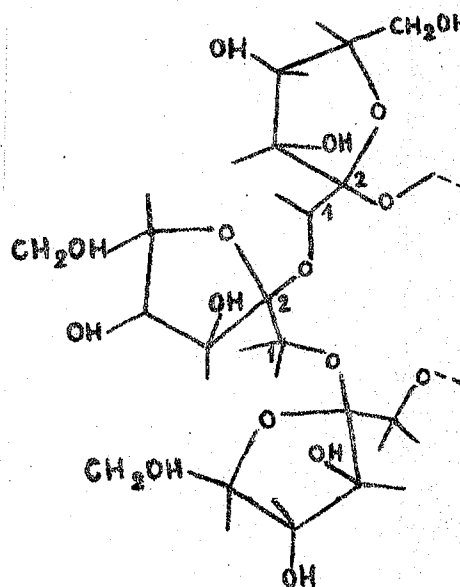
Les polyholosides utilisés en milieu liquide agité sont la pectine (composant régulier des parois végétales) l'inuline, l'amidon, la dextrine blanche et le dextrane. La récolte du champignon s'est faite au 9^e jour. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 22

Croissance sur les polyholosides solubles.

Substrat	% de croissance /glucose.
Inuline	325
Dextrine	147
Pectine	124
Amidon	55
Dextrane	25
Glucose	100
Fructose	100

L'Inuline, polymère de fructose, permet une croissance très supérieure (325 %) à celle que fournit son monomère (100 %) (Tableau 22).

L'inuline est un fructane dont les monomères D-fructofuranoses présentent des liaisons (1-2). Il donne aussi quelques résidus glucoses à l'hydrolyse. C'est une substance soluble dissoute dans les vacuoles du parenchyme médullaire des organes souterrains de nombreuses composées.



Inuline

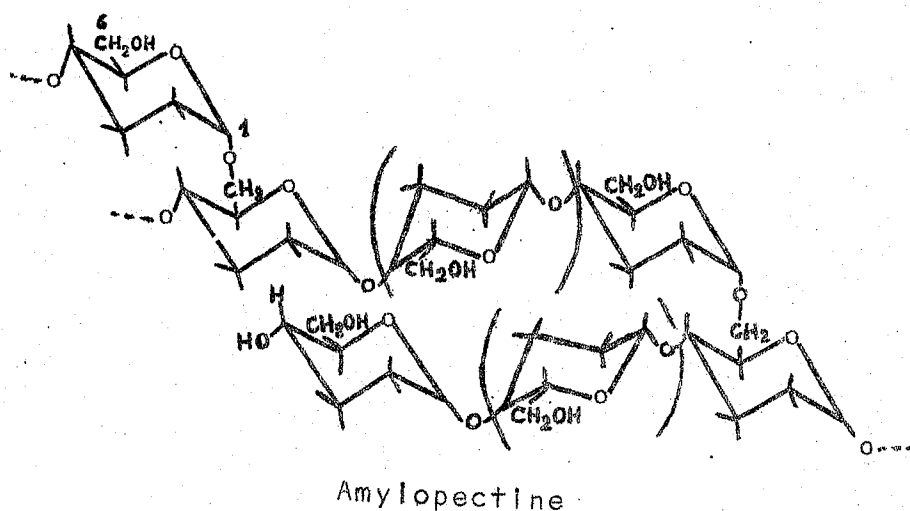
L'inuline est donc le polymère le mieux métabolisé par le *Fusarium oxysporum albedinis*, il permet une croissance deux fois supérieure à celle sur saccharose ou sur turanose, renfermant également du fructose.

L'enzyme impliquée dans la dégradation de l'inuline est l'inullinase, dont une forme doit être produite par

le champignon. Il serait intéressant de poursuivre ces recherches afin de connaître les mécanismes enzymatiques mis en jeu pour l'utilisation de ce substrat.

Les résultats obtenus pour *Fusarium oxysporum albedinis* sont en accord avec ceux obtenus par les auteurs avec d'autres espèces de *Fusarium*. Ainsi, ROSS (1960) et HUSAIN et al. (1967) ont montré que les *Fusarium* utilisent généralement bien l'inuline.

La dextrine, courte chaîne ramifiée d'amidon, est mieux utilisée que le monomère glucose et que l'amidon.



Les dextrines sont des glucanes obtenus par hydrolyse de l'amylopectine. L'amylopectine est la partie de l'amidon soluble à chaud ; elle est formée de chaînes de D-glucopyranoses liés en α -(1-4), ramifiées tous les 25 glucoses environ par des liaisons 1-6. L'amylopectine soumise à l'action de l' α -amylase (endoamylase qui scinde les liaisons α -D (1-4)) donne les dextrines.

Nous avons vu, dans le cas des diholosides, que le maltose est bien transformé par le champignon (298% par rapport au milieu glucosé) alors que les dextri- nes ne donnent qu'une croissance de 147% par rapport au milieu glucosé. Cette différence pourrait être attribuée à une faible production d'amylases et d'enzymes "débran- chantes" hydrolysant les liaisons α - (1-6), du type pul- lulanases. WOLF (1955) obtient les mêmes résultats que les nôtres en cultivant *Fusarium oxysporum nicotianae* sur la dextrine.

La pectine, bien que permettant une croissance pondérale supérieure à celle obtenue sur glucose, ne donne pas un développement aussi important qu'en culture stable (BOUNAGA 1970).

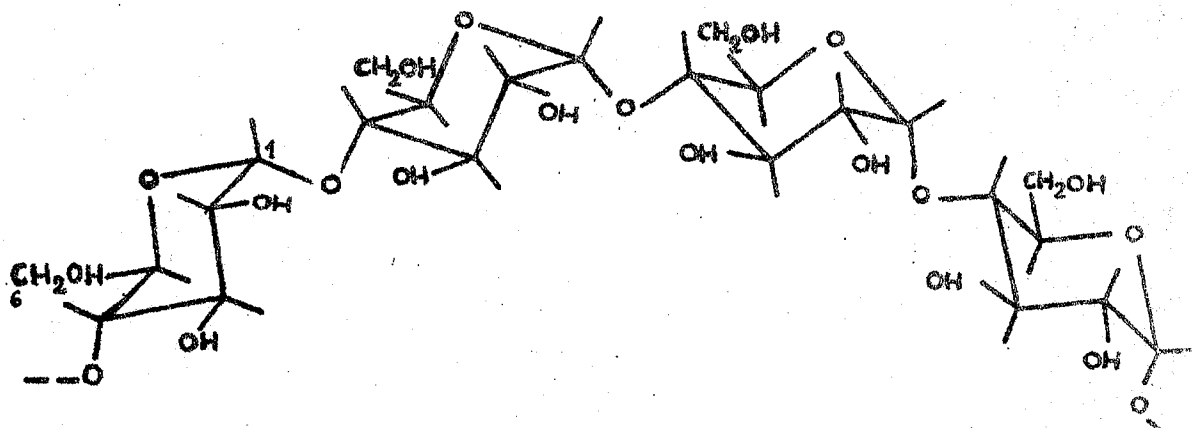
La pectine est un polymère d'acide D-galacturonique relié par des liaisons (1-4) dont 75% des groupes carboxyliques sont estérifiés par du méthanol. Le poids moléculaire peut varier entre 50.000 et 200.000. Les pec- tines sont étroitement associées aux galactanes et arabanes dans les parois végétales.

Nos résultats montrent que le *Fusarium oxyspo- rum albedinis* est capable de métaboliser ce substrat, et peut synthétiser une pectinase; ceci confirme les résultats de DUBOST et al. (1970). Cette enzyme pourrait également jouer un rôle lors de l'infection de la plante, en aidant à la dissolution des parois végétales; ceci permettrait la pénétration du champignon et la libération dans la sève de sucres simples qui accélèrent la croissance du champignon.

Cependant nous rappelons qu'*in vitro* aucune croissance du champignon n'est observée lorsque l'acide galacturonique est utilisé comme seule source carbonée ; ceci est peut être dû au pH très acide du milieu utilisé.

De nombreux auteurs ont signalé la production d'enzymes pectiques par divers *Fusarium oxysporum* *in vitro* et *in vivo* (GOTHOSKAR et SCHEFFER 1955, WAGGONER et DIMOND 1954, DEESE et STAHMANN 1962, COOPER et *al.* 1975, 1978, 1981, PIPLANI et *al.* 1981, SCALA et *al.* 1981). Elle a été reliée d'une part à la virulence des souches, d'autre part au mécanisme du flétrissement observé dans les Fusarioses (PEGG 1981).

L'amidon, polymère du glucose, ne permet pas une croissance importante du *Fusarium oxysporum albedinis*. L'amidon est formé d'amylose et d'amylopectine. Nous avons défini plus haut l'amylopectine. L'amylose est formé de chaînes linéaires de glucopyranoses α -D (1-4) sans aucune ramification.



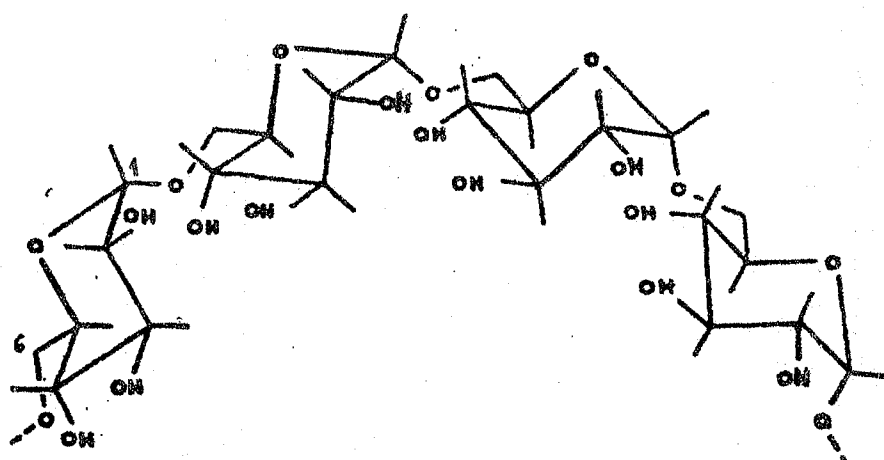
Amylose

L'utilisation de l'amidon par d'autres *Fusarium* a été maintes fois signalée. WOLF (1955), obtient avec *Fusarium oxysporum nicotianae* des résultats comparables aux nôtres. Pour d'autres espèces de *Fusarium* les résultats varient avec les auteurs et suivant les espèces de *Fusarium* (ROSS 1960, NAIM et al. 1964, LOPEZ et FERGUS 1965, ZENTENO ZEVADA 1966, HUSAIN et al. 1967, BATHNAGAR et PRASAD 1968, CHIARI 1968). D'autre part, SMIRNOF et al. (1972) montrent que plusieurs espèces de *Fusarium* ne produisent que des quantités insignifiantes d'enzymes amylolytiques, ce qui pourrait être le cas du *Fusarium oxysporum albedinis*.

Il est important de noter que le maltose, diholoside obtenu après hydrolyse par les amylases, est mieux utilisé que le polyholoside, et d'après nos travaux, plus la chaîne glucidique est courte, plus la croissance est grande : amidon (50% de croissance), dextrines (147%) et maltose (297%).

Nos résultats permettent de penser que des enzymes de type amylases sont produites par le champignon, mais à des taux faibles. Le fait que les dextrines soient mieux utilisées que l'amidon lui-même, pourrait être dû à la structure des dextrines qui sont des molécules déjà "prédigérées", et seraient donc assimilées plus facilement par le champignon. Il serait intéressant de vérifier si le *Fusarium oxysporum albedinis* est capable de synthétiser des enzymes débranchantes hydrolysant les liaisons α -(1-6).

Le dextrane, qui lui aussi est un glucane, est peu dégradé par le *Fusarium*. C'est aussi un glucopyranose produit par la bactérie *Leuconostoc* poussant sur du saccharose. Il est formé de courtes chaînes d'environ 20 résidus d' α -D(1-6) glucos, avec quelques ramifications α -(1-2), α -(1-3) et α -(1-4).



Dextrane

Il est le polyholoside glucopyranosique le moins métabolisé (25 % par rapport au milieu glucosé). Ceci pourrait s'expliquer par l'abondance des liaisons α -(1-6); il est probable que le champignon ne puisse pas produire de dextranase spécifique de ces liaisons. N'oublions pas que les dextranses sont des polyholosides bactériens et n'ont pas été signalés à notre connaissance dans la composition des parois végétales.

3.1.2- Les polyholosides insolubles

a) Problèmes posés par la croissance sur les polyholosides insolubles.

Les polyholosides mis en expérience sont des glucanes, la cellulose (poudre de cellulose Wathman) et la laminarine ou callose. Ces substances ne sont pas solubles dans le milieu de culture, et il n'est pas possible de les séparer

du mycélium lors de la filtration ; nous avons donc été obligée d'utiliser d'autres méthodes pour apprécier la croissance du champignon.

La croissance peut être évaluée indirectement par l'activité métabolique de l'organisme en culture. La différence entre le pH initial et le pH final du milieu peut donc donner une indication sur la croissance du champignon. D'autre part la différence entre le poids initial et le poids final de la substance peut nous renseigner sur la consommation de cette substance par le champignon.

Le dosage de la glucosamine, produit de l'hydrolyse de la chitine, permet une estimation plus précise de la croissance.

En effet, les *Fusarium* font partie des champignons dont les parois contiennent de la chitine (BARTNICKI-GARCIA 1968, 1970). Ce composé spécifique est donc souvent utilisé pour les mettre en évidence sur milieux insolubles ou dans les plantes qu'ils parasitent (RIDE et DRYSDALE 1971, ADJOUJ 1977, BOULILA 1978).

Il a été montré qu'il existait un rapport étroit entre l'âge de la colonie, les conditions de culture et le contenu en chitine des parois du champignon (BARTNICKI-GARCIA et NICKERSON 1962, MAHADEVAN et TATUM 1965, RIDE et DRYSDALE 1971).

Nous avons tout d'abord réalisé des cultures sur milieu glucosé et à la pectine pour vérifier la teneur en glucosamine du mycélium du champignon en fonction de l'âge et de la composition du milieu de culture. Les résultats sont exprimés dans les tableaux suivants:

TABLEAU 23

Croissance sur glucose et contenu en glucosamine d'un mycélium sec de *Fusarium oxysporum albedinis*

jours	pH final	Poids sec mg	Glucosamine ug/mg p.sec	% glucosamine
3	4,5	93	30	3
5	3,2	135	46	4,6
7	2,9	200	60	6
10	2,5	250	60	6
12	2,3	265	60	6

(Les valeurs données sont les moyennes de 3 mesures).

(pH Initial:6,8.).

TABLEAU 24

Croissance sur pectine et contenu en glucosamine

durée jours	pH ini.	pH final	Poids sec	Glucosamine ug/mg p. sec
10	4,9	2	320	60

Le tableau 23 montre qu'il existe une variation du taux de glucosamine durant la croissance du champignon. Le mycélium d'une jeune colonie en croissance n'a pas une quantité fixe de chitine jusqu'au 7ème jour. Ces résultats confirment ceux de MAHADEVAN et TATUM (1965). Lorsque le champignon commence à se développer, tous les hyphes sont jeunes, or d'après TRINCI (1978) et FARKAS (1979), les extrémités apicales des hyphes, siège de la croissance, possèderaient une paroi plus fine que le mycélium âgé, donc pas encore ou moins chitinisé.

Sur pectine après 10 jours, la quantité de glucosamine contenue dans le mycélium est la même que sur glucose c'est-à-dire 60 μg par mg de mycélium sec. Il n'y a donc pas de modification au niveau de la glucosamine en présence de pectine. RIDE et DRYSDALE (1971), travaillant sur *Fusarium oxysporum lycopersici* ont trouvé un contenu en glucosamine variant de 25 à 121 μg par mg de champignon sec, suivant la composition des milieux et suivant les conditions de culture. En culture stable sur pectine, dans un milieu jus de tomate, ils obtiennent 80 μg par mg de champignon. La différence dans la composition du milieu et dans les conditions de croissance, peuvent sans doute expliquer ces données.

Dans le cas de la cellulose et de la laminarine, le poids de mycélium est calculé suivant les données obtenues à partir du taux optimal en glucosamine du mycélium cultivé sur glucose, et qui représente 6% du poids sec du champignon.

b) Résultats de la croissance du *Fusarium oxysporum albedinis* sur les polyholosides insolubles

Les résultats obtenus avec la cellulose et la laminarine sont consignés dans le tableau 25. Nous avons calculé le poids du mycélium à partir du dosage de la glucosamine en prenant la croissance sur milieu glucosé comme référence. Nous constatons que les 2 polyholosides sont métabolisés par le champignon, mais avec une préférence pour la laminarine.

La laminarine est un polyglucosane formé de βD -glucopyranose (1-3) que l'on rencontre dans les parois de certaines algues, particulièrement les *Laminaria*. On en rencontre également dans les parois de quelques champignons (AINSWORTH 1965, BARTNICKI-GARCIA 1968, PILET 1971) et chez

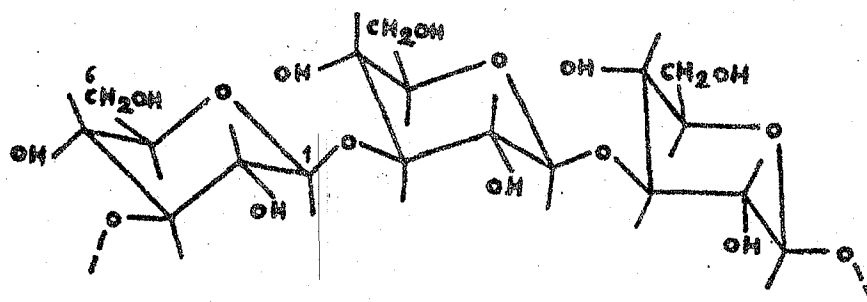
TABLEAU 26

Croissance du champignon sur les polyholosides insolubles (10 jours)
 et milieu glucosé utilisé comme référence

Substrat	pH ini	pH fin	4pH	Poids final mg	glucosamine %mg substrat + champignon	glucosamine corrigée µg/mg	poids champignon mg	% par rapport au glucose
milieu témoin TC cellulose non ensemencée	6,8	6,8	-	1345	5	-	-	-
Cellulose *	6,8	2,8	3	1295	15	10	215	86
milieu témoin TL laminarine non ensemencée	6,8	6,8	-	1350	4	-	-	-
Laminarine *	6,8	3	3,8	1266	25	21	443	177
Glucose	6,8	2,5	4,3	250	-	60	250	100

* Moyenne de 8 essais

les végétaux supérieurs, où elle constitue le cal bouchant les cribles du phloème à la mauvaise saison, de plus BECKMAN et al. (1982), ont montré qu'il y avait dépôt de callose au niveau de la tomate en réponse à l'attaque fusarienne.



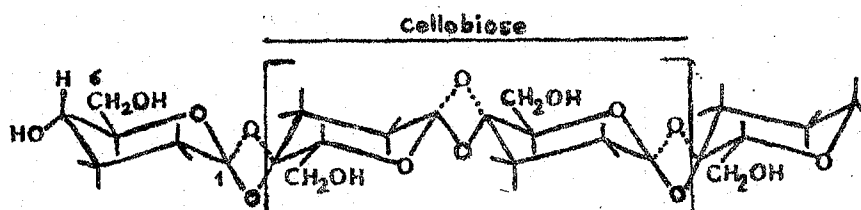
Laminarine

Cette substance est assez bien métabolisée par *Fusarium oxysporum albedinis*, le champignon doit posséder des enzymes du type laminarinase pouvant scinder les liaisons β -(1-3).

Il eut été intéressant, là encore, de comparer les effets de ce polyholoside sur la croissance du champignon avec ceux obtenus avec des di- ou triholosides renfermant ce type de liaison, mais ces substances ne sont pas courantes et donc pas commercialisées.

Peu de travaux font état de la croissance des champignons sur laminarine.

La cellulose, polymère de β -D-glucopyranose(1-4), est, elle aussi, transformée. Cependant, son unité structurale, le cellobiose, permet une croissance supérieure (301% de croissance par rapport au glucose).



Tout ceci permet de penser que le champignon utilise directement les di-glucoses plutôt que le monomère ou le polymère.

Pour utiliser la cellulose le *Fusarium oxysporum albedinis* doit donc produire l'équipement enzymatique correspondant, les cellulases; nous pouvons mettre en rapport l'activité cellulolytique avec la pénétration du champignon dans la plante hôte. Le fait que le cellobiose soit mieux utilisé peut provenir de la structure compacte de la cellulose rendant l'accès des enzymes difficiles. C'est d'ailleurs un frein à la production de glucose par voie enzymatique à partir de la cellulose, en biotechnologie.

Qu'un champignon phytopathogène métabolise la cellulose n'a rien de surprenant, toutes les parois végétales en contiennent et de nombreux auteurs ont mis en évidence la présence d'enzymes cellulolytiques chez les *Fusarium* (WAGGONER et DIMOND 1954, HUSAIN et DIMOND 1960, DEESE et STAHMANN 1962, GHANI 1964, MEYER 1964, HORST 1965, FISCHER 1965, PEGG 1981.) qui sont probablement importantes lors de la pénétration dans l'hôte.

3.2- Conclusions

Le tableau 25 rappelle les différents holosides utilisés, le nombre de résidus osidiques qui les composent, le pourcentage de croissance qu'ils déterminent et la liaison qui les caractérise.

Dénomination des enzymes susceptibles d'être élaborées par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.

Noms systématiques	Noms communs
(1-1) α D-glucane glucanohydrolases	- tréhalose, α 1-1 glucanase
(1-3) α D- " "	
(1-3) β D- " "	- laminarinase, β (1-3)glucanase
(1-4) α D- " "	- maltase, α amylase β amylase
(1-4) β D- " "	- cellobiase, cellulase
(1-6) α D- " "	- amylo (1-6) - glucosidase enzyme R.: dextranase
α 1,4 galacturonide-glucanohydrolase	- Pectinase
β 1,2 fructane-fructanohydrolase	- Inulinase

Les glucanes-glucanohydrolases (1-1) α D, (1-4) α D et β D glucanohydrolases sont très efficaces quand le substrat est formé de diglucoses mais l'activité de ce type d'enzymes est nettement ralentie avec les polymères à longues chaînes. Les hydrolases (1-3) β D réagissent moins dans les mêmes conditions expérimentales et nous remarquons que les hydrolases (1-6) α D sont peu efficaces.

Tous les dimères cités ci-dessus déterminent des croissances pratiquement égales, particulièrement le cellobiose et le maltose, unités structurales de la cellulose et de l'amidon. Ce qui indique que, dans ce cas là, l'anomérisation du glucose ne freine pas l'action des enzymes, particulièrement les (1-4) D glucane-hydrolases.

On se demande si ces enzymes sont de deux types, α hydrolases et β hydrolases, ou si elles appartiennent à un seul type, glucose-hydrolases pouvant indifféremment former

un complexe enzymes-cellobiose et enzymes-maltose. Les liaisons $\beta(1-4)$ du cellobiose ne présentant pas d'encombrement stérique confèrent au cellobiose une bonne stabilité et une libre rotation autour de la liaison glucose-glucose.

Mais la liaison (1-4) est difficile à concevoir avec la conformation chaise de glucose. FRENDBERG et CRAMER (1950) et REESE (1954) proposent pour l'amylose une conformation du glucose telle que les hydroxyles des carbones 1 et 4 deviennent équatoriaux, donnant une plus grande liberté de rotation autour de la liaison glucose-glucose, facilitant peut être la formation du complexe enzyme-di-glucoses.

Il semble que cette libre rotation autour de la liaison glucose-glucose se maintienne dans la cellulose mais qu'elle soit limitée dans l'amidon d'où l'hydrolyse plus rapide de la cellulose.

Nous mentionnons le rôle que certains auteurs attribuent actuellement à l'invertase qui a été signalée dans la paroi cellulaire des végétaux supérieurs (ARNOLD 1966 a, b, c) GLASZIOU (1969) pense que cette invertase contrôle la migration de certains sucres simples à travers la paroi des parenchymes. MARUYAMA (1979) a mis en évidence différentes invertases sur la paroi du mycélium et des spores de *Fusarium oxysporum*, de même que GUPTA et al. (1981) ont montré que deux types d'enzymes étaient synthétisées par les *Fusarium oxysporum*; une invertase qui peut hydrolyser le saccharose et le raffinose en fructose et mélobiose et une fructosyl-transférase.

L'idée que le monomère de ces glucopyranoses est moins bien utilisé que les dimères et moins bien même que certains polymères nous amène à penser que le champignon élabore des exo-enzymes hydrolysant les polymères jusqu'aux résidus dimères. Ces derniers traversent la paroi du champignon, soit sous forme de complexe enzyme - dimère, soit par échange d'ions. On peut invoquer la capacité du champignon à synthétiser les dimères hydrolases qui forment des complexes enzymes-glucoses facilement transportables à travers la paroi.

La rapidité de la transformation du substrat dépend du nombre de réactions enzymatiques mises en jeu : un polymère à longue chaîne, faisant intervenir de nombreux types d'enzymes, est transformé plus lentement qu'un dimère.

Le champignon est peu habile à utiliser le monomère, habituellement dégradé dans la cellule par des lyases. Il est probable que le champignon prépare le monomère pour l'assimiler en faisant intervenir des exoenzymes comme des ligases qui font la synthèse du dimère pour former des complexes facilement transportables à travers la paroi. STEIN signalait en 1962 que les oses pour pénétrer dans les globules doivent être associés par deux, grâce à la présence de "dimériseurs". BROWNLE et JENNING (1981) ont d'ailleurs pu montrer que les sucres sont transportés sous forme de tréhalose dans les cellules des champignons.

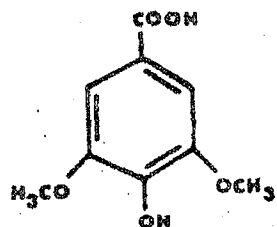
II - ETUDE DE LA CROISSANCE DU *FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP.
ALBEDINIS SUR DES COMPOSANTS DE LA LIGNINE

Les champignons pathogènes sont en contact dans la plante hôte avec tous les composants de la paroi; oses, polyholosides et lignine. Contrairement aux produits étudiés précédemment, la lignine n'est pas un polyholoside, c'est un polymère aromatique d'unités galacyle et syringyle (MEIER 1964, WOOD 1967, HELLER 1969).

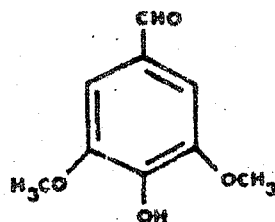
Mais si l'on sait que les Basidiomycètes sont en général des organismes décomposant la lignine (WOOD 1967), peu de résultats sont fournis quant au comportement des champignons "inférieurs" vis-à-vis de celle-ci. Pourtant les études en microscopie électronique montrent que lors des trachéomycoses, le complexe lignifiant est modifié (CZANINSKI et al. 1971, RAHMANIA 1982, HAMMERSCHMIDT et KUC 1982).

La lignine pure n'étant pas commercialisée, un composant de la lignine, le syringyle (sous deux formes: acide syringique et aldéhyde syringique) a été étudié.

Sous forme d'aldéhyde syringique, il constitue 13% du bois dur des Angiospermes (STEGEL, 1962).



acide syringique



aldéhyde syringique

Les deux substances sont ajoutées dans le milieu de culture en quantité suffisante pour avoir 12 g par litre de carbone (C =12). A cette concentration, elles sont toutes deux insolubles. Nous avons donc apprécié la croissance du *Fusarium* par l'observation microscopique et par la variation du pH du milieu. Les résultats obtenus sont les suivants :

1) L'acide syringique floccule dès l'instant où il est ajouté au milieu, la tyndallisation ou la stérilisation ne change pas son état.

Le pH de départ est de 4,8, le pH final est de 4,75 ; la variation est donc négligeable. L'observation macroscopique et microscopique montre que le champignon a poussé faiblement formant un voile entourant les particules de l'acide syringique, phénomène déjà observé chez d'autres champignons (PERLMAN 1965).

2) L'aldéhyde syringique se dissout à chaud mais il recristallise à froid. Le pH initial est de 6,7, le pH final est identique. L'aldéhyde syringique n'a donc déterminé aucune croissance, ce qui est confirmé par l'observation microscopique.

Les résultats obtenus ci-dessus pourraient nous amener à penser que la lignine ou plutôt les composants de la lignine, ne sont pas ou peu utilisés par le *Fusarium oxysporum albedinis*. Cependant la durée de l'expérience a été courte, 9 jours. Or NORD et MULL (1945) donnant des résultats pour 13 espèces de *Fusarium* montrent que la lignine (sous forme de lignosulfonate) est décomposée à 12% mais après 20 à 40 jours de culture.

ROSS en 1960 prouve que les *Fusarium* sont aptes à utiliser complètement l'acide férulique et l'acide vanillique (autres dérivés de la lignine) après 28 jours de culture, mais la concentration des produits est différente de celle que nous avons utilisée.

La concentration de l'aldéhyde syringique et de l'acide syringique, a été calculée pour apporter au *Fusarium* la même quantité de carbone que celle des autres glucides et dérivés étudiés. Mais d'après les travaux de HENDERSON et FARMER (*in* ROSS 1960) et de MOLOT (1969) il semble que les concentrations trop fortes de composés phénoliques (en particulier l'acide syringique) inhibent la croissance des *Fusarium*. Aussi une deuxième expérience a-t-elle été faite avec des concentrations décroissantes d'acide syringique après 9 jours de culture (Tableau 27).

TABLEAU 27

Croissance du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* sur milieu contenant de l'acide syringique à différentes concentrations.

Substrat	[C] C	pH ini.	pH final	pH	poids pesés en mg
Glucose	12	6,7	3	3,7	121
	6	6,7	3,2	3,5	107
	0,6	6,7	6,5	0,2	14
Acide syringique					poids appré- cié en mg
insoluble	12	4,5	4,45	0,05	5
insoluble	6	4,5	4,45	0,05	5
soluble	0,6	6,5	6,4	0,1	5

Nous remarquons que, pour le glucose, la croissance diminue quand la concentration diminue phénomène commun à des nombreux *Fusarium* (NAIM et SHAROU-BEEM 1964, HUSAIN et al. 1967); mais pour l'acide syringique on n'observe aucune variation même à une concentration faible ; ce composé semble donc être un inhibiteur de la croissance du champignon.

Ces expériences ne nous ont pas donné de résultats concluants, mais nous espérons les reprendre en utilisant d'autres méthodes et d'autres données. D'après MOLOT (1969) la teneur en phénols des plantes est en relation avec la sensibilité ou la résistance aux Fusarioses.

RAHMANIA (1982), montre par des études histologiques du palmier qu'il y a, d'une part augmentation des composés phénoliques en réaction à la présence de *F. o. albedinis*, d'autre part augmentation de la lignification

Puisque le *Fusarium* semble inhibé par certains dérivés de la lignine ne serait-il pas possible de relier les mécanismes de lignification à un facteur de résistance ? Cette lignification intense des tissus pourrait empêcher le développement du parasite par un phénomène mécanique et par un phénomène chimique. Il faudrait pouvoir tester d'autres composés de la même famille, ou après isolement, les lignines du palmier dattier.

CHAPITRE SIXIEME

ESSAIS IN VITRO DE RECHERCHES DE MOYENS DE LUTTE CONTRE FUSARIUM OXYSPORUM F.SP. ALBEDINIS

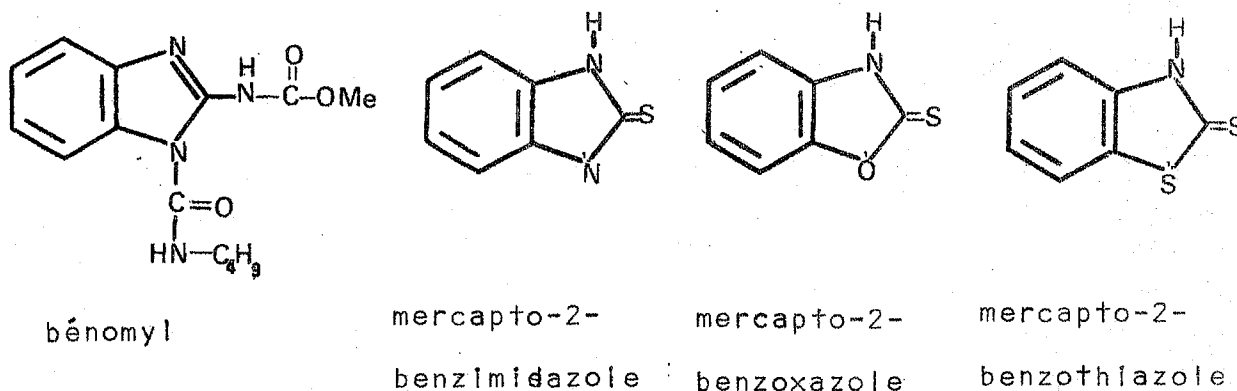
I - LUTTE CHIMIQUE : EFFET DE MERCAPTO-2-AZOLESGLYCOSYLES SUR LA CROISSANCE DE FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. ALBEDINIS

Le contrôle chimique d'une maladie de plante peut viser deux objectifs : le premier, étant d'assurer un contrôle préventif, par la destruction de l'inoculum dans le sol, le second, un contrôle thérapeutique par traitement de la maladie et suppression du pathogène, après que l'infection se soit installée (ERWIN 1981). Ces deux objectifs peuvent être atteints expérimentalement mais les produits nécessaires, fumigants et fongicides systémiques, manquent de sélectivité et se révèlent très néfastes pour l'écologie des populations du sol. Un certain nombre de produits sont actuellement disponibles et parmi les fongicides systémiques, les benzimidazoles. Cependant malgré leur efficacité, leurs effets toxiques sont de plus en plus souvent signalés. Ces effets peuvent être directs sur le pathogène, entraînant mutations (DAVIDSE 1977, VANACHTER 1979, VAN WAMBEKE 1979), perte de chromosomes (DELGADO DELGADO et CONDE ZURITA 1984), favorisant l'apparition de souches résistantes (SOZZI et GESSLER 1980, BOUHOT 1981), mais aussi sur les plantes (WOLF 1977) et le sol (ERWIN 1981).

Il est donc nécessaire de chercher des produits moins toxiques. S'inspirant d'une part, des travaux de CHAVIS et IMBACH (1977) sur les effets de la glycosylation, d'autre part de nos travaux sur la croissance du champignon en présence de sucres (BOUNAGA 1975, 1976, 1977), MESLI et ses collaborateurs (LOUKIL 1978, BENACHENHOU 1979), ont synthétisé des nucléosides à noyau benzimidazole. Les effets de ces produits ont été testés sur la croissance du parasite.

1 - Action de quelques mercapto-2-azoles ribosylés sur la croissance *in vitro* de *F.o. albedinis* (BOUNAGA 1980 en annexe)

Parmi les 5 mercapto-2-azoles étudiés, le mercapto-2-benzoxazole à 1,5 mM et le mercapto-2-benzothiazole à 0,4 mM inhibent totalement la croissance du champignon. Le mercapto-2-benzimidazole à 2 mM n'est inhibiteur qu'à 50 %, alors que le bénomyl (benlate) qui possède, lui aussi, le noyau benzimidazole inhibe totalement la croissance du *F.o. albedinis* à des concentrations de 0,01 mM pour SURICO (1976) et de 0,0017 mM pour BOUNAGA (non publié). Si le noyau benzimidazole est la partie active du bénomyl (KAARS SIJPESTEIJN 1977), la substitution du méthyl-carbamate par un atome de soufre pourrait être la cause de la perte d'activité du mercapto-2-benzimidazole.



L'introduction d'un oxygène en position 1 sur le mercapto-2-benzimidazole conduit au mercapto-2-benzoxazole qui a un effet inhibiteur total à 1,5 mM.

La substitution de l'oxygène par le soufre pour donner le mercapto-2-benzothiazole confère à celui-ci une activité environ quatre fois supérieure à celle du mercapto-2-benzoxazole.

La ribosylation fait perdre aux benzoazoles leurs effets inhibiteurs. Les dérivés du mercapto-2-benzoxazole et du mercapto-2-benzothiazole conservent une faible activité inhibitrice à très forte concentration. Les dérivés ribosylés acétylés sont plus actifs, à concentration égale, que les produits ribosylés seulement. D'après CHAVIS et IMBACH (1977), l'acétylation des glycosyls d'une molécule augmente son degré de "lipophilicité" et par conséquent sa cytotoxicité. Pour les autres azoles, le ribose a donc agité en tant qu'agent détoxifiant des produits actifs et de l'alcool. Or les fongicides de la série des benzimidazoles sont des agents antimétaboliques (DAVIDSE 1977), Inhi-

bant la synthèse du D.N.A. et de certains R.N.A. (EGYAZI 1976); le ribose constituant naturel des acides nucléiques, semble les protéger contre l'effet inhibiteur des benzoazoles auxquels il est couplé. Ce mécanisme d'action est à rapprocher de l'effet antagoniste des acides gras vis-à-vis de fongicides qui inhibent la synthèse des stéroïdes (LEROUX et GRETT 1978).

2 - Action de quelques mercapto-2-benzothiazole glycosylés (xylose et arabinose) sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. (BENACHENHOU, GOSSELIN, BOUNAGA et MESLI soumis pour publication).

La série glycosylée du mercapto-2-benzothiazole est présentée dans le tableau 29. Nous avons testé deux xylopyrannonucléosides (2 et 3), deux arabinonucléopyranosides (4 et 5) et deux arabinofuranonucléosides (6 et 7).

Ils ont été incorporés dans les milieux de cultures de façon à obtenir les concentrations finales de 0,5 mM, 1mM et 1,5 mM, après avoir été dissout à chaud dans du méthanol (0,5 ; 1 et 1,5 %) suivant les méthodes décrites par BOUNAGA (1980).

Le mercapto-2-benzothiazole (1) est aussi testé dans les mêmes conditions à différentes concentrations.

Le tableau 30 montre l'activité du mercapto-2-benzothiazole sur la croissance du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*.

TABLEAU 29

Description des mercapto-2-benzothiazoles glycosylés

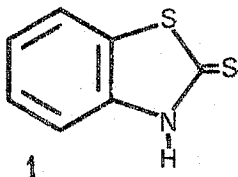
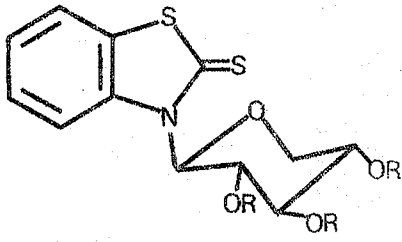
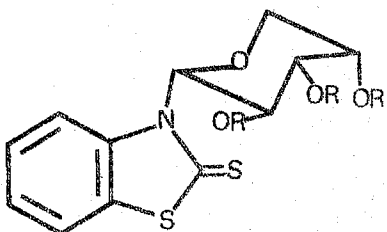
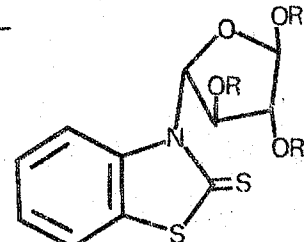
Ref.	Nom chimique	Structure
(1)	mercapto-2-benzothiazole	
(2)	mercapto-2 (tri-o-acétyl-2',3',4' β-D-xylopyrannosyl)-3 benzo- thiazole	
(3)	mercapto-2 β-D-xylopyrannosyl- 3 benzothiazole	2(R=ac.) et 3(R=H)
(4)	mercapto-2-(tri-o-acétyl-2',3', 4'-α-D-arabinopyrannosyl)-3 ben- zothiazole	
(5)	mercapto-2 α-D-arabinopyrannosyl- 3-benzothiazole	4(R=ac.) et 5(R=H)
(6)	mercapto-2(tri-o-acétyl-2',3',5'-α- D-arabinofurannosyl)-3 benzothia- zole	
(7)	mercapto-2α-D-arabinofurannosyl- 3 benzothiazole	6(R=ac.) et 7(R=H)

TABLEAU 30

Activité du mercapto-2-benzothiazole sur la croissance du *Fusarium* f.sp. *albedinis*.

Concentration	250 μ M	300 μ M	350 μ M	400 μ M
Pourcentage d'inhibition	8%	50%	90%	100%

Tous les produits glycosylés (2,3,4,5,6 et 7) se révèlent totalement inefficaces aux concentrations utilisées. Ils permettent tous une croissance du champignon au moins égale à celles obtenue sur les milieux témoins en présence des différentes concentrations en méthanol.

Le faible effet inhibiteur mis en évidence dans les tests effectués avec le β -D-ribofuranosyl-3 mercapto-2-benzothiazole (BOUNAGA 1980) ne s'observe plus.

La nature du sucre : xylose (2 et 3) ou arabinose (4,5,6 et 7) ne semble avoir aucune incidence de même que la forme de l'arabinose, furane (6 et 7) ou pyranne (4 et 5).

L'acétylation (2,4,6) ne modifie aucunement les effets *in vitro* contrairement à ce que nous avons montré précédemment (BOUNAGA 1980).

Il aurait été intéressant de pouvoir doser les produits dans les milieux de culture pour vérifier leur devenir après la croissance du champignon.

Les mercapto-2-azoles glycosylés bien qu'inactifs *in vitro* pourraient être actifs *in vivo*.

Ce phénomène a été rapporté pour de nombreux hétérocycles (WAIN et CARTER 1977, RYLEY et al 1981).

Pourtant les essais *in vitro* à effectuer poseraient plusieurs problèmes :

- la quantité de produit à utiliser pour des essais sur plantules, et donc en serre,
- le prix de revient,
- la durée de l'expérimentation,
- l'effet du produit sur la plante à traiter et sur les autres plantes,
- sa pénétration dans le sol,
- sa migration éventuelle dans les nappes souterraines,

Nous pouvons rappeler le cas du bénomyl (très actif pourtant *in vitro* contre *F.o albedinis*): bien qu'il ait eu une très haute activité *in vitro* et en serre contre le *Verticillium* causant le flétrissement ("Wilt") du coton, il s'est révélé totalement inactif en champs (SBRAGIA 1975). De plus BARTSCHI (1979) montre qu'il entraîne la disparition totale des mycorhizes de divers plantes.

C'est pourquoi les fongicides doivent être considérés en fonction d'une échelle de risques et de bénéfices, et n'être utilisés que si le bénéfice obtenu dépasse les risques encourus. (SBRAGIA 1975).

L'espoir est peut-être dans la recherche de composés qui stimulent les réactions de défense de la plante, ("biosystémiques"), ainsi que ceci vient d'être montré pour le

"phosétyl Al" (éthylphosphite d'aluminium) qui bien qu'inactif *in vitro*, se révèle très actif *in vivo* (Anonyme 1983). Ce mode d'action excluerait l'apparition de souches de champignons résistants.

II - LUTTE BIOLOGIQUE : ACTIONS ANTIBIOTIQUE, MYCOLYTIQUE
ET PARASITAIRE DE DEUX ACTINOMYCETES ENVERS *FUSARIUM*
OXYSPORUM F. SP. *ALBEDINIS* ET AUTRES FORMAE SPECIALES
 (SABAOU, BOUNAGA et BOUNAGA 1983 en annexe)

Parallèlement aux travaux effectués sur l'effet *in vitro* de fongicides sur la croissance du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, et dans le but d'essayer de mettre au point une lutte biologique, notre laboratoire a lancé des recherches sur le sol de palmeraies (ALI HAIMOUD et al. 1979) (CHAMI et BOUNAGA, 1979) et plus particulièrement sur la recherche de micro-organismes antagonistes.

Dans un premier travail, SABAOU (1979) a montré les effets antagonistes de champignons du genre *Aspergillus* (SABAOU 1979). Puis SABAOU (1980) et AMIR (1981) ont testé plusieurs actinomycètes. 271 actinomycètes ont été isolés dont 50 % se sont révélés avoir, *in vitro*, une action antibiotique contre le champignon (SABAOU et al. 1980). Deux de ces actinomycètes ont été testés dans le sol (AMIR et SABAOU 1983). AMIR (1981) présente en outre des résultats sur les relations antagonistes intragénériques ; se basant sur les travaux de MAS et MOLOT (1974) et de ROUXEL (1979) il met en présence des *F. o. albedinis*, des *F. solani*, et des *F. oxysporum* des sols.

SABAOU et al. (1981) montrent aussi qu'un actinomycète peut présenter une activité parasitaire contre *F. o. albedinis*.

Dans le travail présenté en annexe (SABAOU et al. 1983) nous avons testé l'activité antibiotique mycolytique et parasitaire de deux actinomycètes sur différentes souches de quelques formes spéciales de *F. oxysporum*. Ils ont été identifiés par SABAOU (1980) comme étant *Streptomyces* sp. et *Nocardioopsis dassonvilli*.

On peut noter que leurs activités sont variables suivant les formes spéciales, mais

elles sont semblables, chez toutes les souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, sauf pour l'activité parasitaire qui est plus faible chez les deux souches présentant le type morphologique "ras" à mycellum aérien peu fourni. Cependant, en réponse à ces attaques *in vitro*, les *Fusarium* testés forment des spores intra-mycéliennes appelées thalospores, et des chlamydospores. Ces deux types de spores, ont des vitesses de germination et une croissance plus rapide que celle des autres spores. Ces résultats *in vitro* nous donnent des indications sur les possibilités d'éliminer le *F.o.albedinis*, mais ils nécessitent encore un grand travail sur le terrain pour vérifier si le phénomène existe dans la nature et pour pouvoir en tirer parti sur le plan de la lutte biologique.

Il est pourtant intéressant de noter la différence de réponse à l'action antibiotique et parasitaire des différentes formes spéciales.

Nous pouvons peut être suggérer d'ajouter des tests de ce type dans la recherche de caractères permettant de reconnaître les *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.

CONCLUSIONS GENERALES

La Fusariose du Palmier dattier constitue une grave menace pour l'Algérie.

Dans le cadre de ce travail, nous avons essayé d'apporter notre contribution à la résolution de ce problème par l'étude de l'agent pathogène : *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.

Nous rapportons les principales conclusions de nos recherches.

Un rappel historique des principaux travaux effectués montre en effet le faible niveau des connaissances sur ce champignon.

Le 1er problème réside dans la difficulté à déterminer la forme spéciale *albedinis* de ce *Fusarium oxysporum* qui parasite le Palmier. En utilisant l'électrophorèse des protéines enzymatiques nous avons essayé d'apporter d'autres critères pour sa caractérisation. Bien que notre étude, en raison des effectifs réduits, ait souvent été conduite de façon intuitive et descriptive, nous avons analysé 10 locus codant des enzymes, et nous avons pu montrer que :

- que les souches de *Fusarium oxysporum albedinis* sont toutes semblables entre elles,

- que les conditions de culture *in vitro* ne changent pas les motifs électrophorétiques de ces souches,
- les souches sauvages et les souches issues de leurs monospores, même si elles diffèrent morphologiquement, sont semblables entre elles,
- quand plusieurs souches de la même forme spéciale ont été étudiées, on constate qu'elles sont semblables entre elles quelque soit leur origine géographique.

Nos résultats semblent confirmer les données concernant l'épidémiologie du Bayoud (chapitre 1), sur un foyer unique à l'origine, à partir duquel il y aurait eu dispersion de la maladie ; ce qui signifierait qu'il y a moins de risques de voir la maladie apparaître spontanément dans les palmeraies éloignées et rigoureusement protégées contre l'introduction de matériel "bayoudé". Il serait donc très intéressant de comparer un grand nombre de souches de la région d'origine (Maroc).

Ce manque de variabilité nous a conduit à comparer le *Fusarium oxysporum albedinis* à d'autres formes spéciales parasitant d'autres plantes. Ainsi, à l'intérieur de l'espèce *oxysporum*, nous avons pu mettre en évidence une faible variabilité et montrer qu'il est peut être possible de reconnaître les différentes formes spéciales par des études électrophorétiques. Les variations observées touchent plus particulièrement

des systèmes enzymatiques impliqués dans les mutations morphologiques (MISHRA et TATUM 1970).

Vu le petit nombre d'échantillons, nous ne pouvons pas apporter de conclusions définitives, mais il serait intéressant de pouvoir approfondir l'étude des formes spéciales des *Fusarium oxysporum*, de vérifier si elles sont strictement inféodées à un hôte précis, et si il existe des relations entre leur éloignement et l'éloignement systématique des hôtes qu'elles parasitent (ainsi que ceci a été montré pour d'autres parasitoses).

Nous avons ensuite comparé l'"espèce" *oxysporum* avec d'autres espèces du genre *Fusarium*. Les différentes espèces, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. roseum*, *F. solani*, sont bien séparées par l'électrophorèse, et le découpage obtenu pour chacune d'entre elle confirme les difficultés de la classification des *Fusarium*.

Il ressort des résultats de l'électrophorèse que les malates déshydrogénases, et les glutamate-oxalo-transaminases semblent spécifiques de chaque espèce. Ne pourrait-on pas envisager, après étude d'un plus grand nombre de souches par espèce, de les considérer comme "gènes diagnostics"?

Il n'était pas dans notre intention au départ de travailler sur la systématique des *Fusarium*, mais les résultats obtenus montrent l'intérêt que présente l'électrophorèse, pour la systématique des *Fusarium* et de leurs formes parfaites : *Gibberella*, *Nectria*, *Calonectria*.

Les variations morphologiques, en culture, du *Fusarium oxysporum albedinis* ont été décrites. Le champignon produit trois types de spores et l'étude de leur germination a montré que ce sont les chlamydospores, (spores de résistance) qui germent le plus vite, suivies par les macroconidies, leurs tubes germinatifs sont aussi les plus longs. Les chlamydospores ne sont donc pas des spores dormantes.

Le pouvoir germinatif des microconidies et des chlamydospores décroît quand la température augmente, mais si les microconidies sont presque toutes tuées par un passage d'une heure à 60°C., les chlamydospores peuvent encore germer à près 70°C. Ce facteur est à prendre en considération lors des traitements du sol par injection de vapeur d'eau, d'autant plus que le champignon se trouve encore protégé dans les débris de palmier (où il se trouve à l'état de chlamydospores).

La température optimale de croissance du champignon se situe entre 27° et 28°C. Les températures inférieures à 5°C et supérieures à 40°C l'inhibent. Les sols de palmeraies, dont les températures varient en moyenne entre 4°C. et 30°C, constituent un bon milieu pour l'entretien et la conservation du champignon.

L'étude *in vitro* de la physiologie du *Fusarium oxysporum albedinis* montre que :

- les vitamines ne semblent pas indispensables à sa croissance,
- Le rapport carbone sur azote est important pour la rapidité de croissance,
- La zone des pH auxquels il peut croître est très large : de 2,15 à 10 ; la croissance optimum en milieu phosphaté se situe à pH 6; mais en présence de glycine il peut pousser très bien jusqu'à pH 2,15.
- Il pousse mieux en présence d'azote organique que d'azote minéral et l'azote ammoniacal lui est plus favorable que l'azote nitrique.
- Le chlorure de sodium ne constitue pas un facteur limitant la croissance du champignon, sauf concentrations supérieures à 100 g/l. Les eaux salées d'irrigation dans les palmeraies contiennent environ 14 g/l de sels divers (sulfate et chlorure de calcium, de sodium et de magnésium) (MONCIERO, 1954).

Cependant la présence de ces sels fait que ces sols sont surtout basiques et ce facteur pourrait donc, dans une certaine mesure, limiter le développement du champignon. Le chaulage a été d'ailleurs utilisé comme moyen de lutte contre les *Fusarium oxysporum* (BAKER, 1981).

- Parmi quinze sources de carbone offertes au parasite, celui-ci utilise mieux, en culture stable, le mannose et la pectine. Ces résultats mis en rapport avec la "vie" du *Fusarium* dans la plante et dans le sol sont approfondis dans le chapitre V.

En étudiant trente huit composés carbonés nous avons pu montrer que :

- Les hexoses sont moins bien métabolisés que les pentoses; les dérivés alcooliques et carboxyliques des oses sont mieux utilisés que ces derniers.
- Les diholosides, à l'exception du lactose, autorisent une croissance supérieure à celle permise par les sucres simples.
- Les polyosides sont tous utilisés par le champignon mais de façon très diverses. L'inuline, polymère du fructose permet une croissance supérieure aux autres polysaccharides. La laminarine, la pectine, la cellulose sont aussi dégradées par le *Fusarium* de même que l'amidon et les dextrines. Les dérivés de la lignine semblent par contre inhiber sa croissance.

Le champignon possède donc un équipement enzymatique qui lui permet d'hydrolyser les polymères jusqu'aux résidus dimères puis aux monomères. Ces derniers pourraient traverser les parois soit par osmose en quantité faible mais un contrôle sélectif pourrait intervenir ensuite grâce à des transporteurs spécifiques. La possibilité de l'existence de dimériseurs pouvant prendre en charge deux sucres simples est aussi envisagée. D'après BROWNLEE et JENNING (1981) les sucres sont souvent transportés sous forme de diholosides chez les champignons.

Ces résultats nous permettent de formuler quelques hypothèses sur le mode de pénétration et d'action du parasite dans la plante.

Le *Fusarium* peut trouver à proximité des racines et dans la plante toutes sortes de composés qu'il est apte à dégrader. BENNACEUR (1981) a montré que les exsudats racinaires de palmiers dattiers sensibles favorisent la croissance du champignon, alors que ceux des palmiers résistants l'inhibent. Les études que nous avons mené avec nos élèves ont montré que nous pouvons trouver dans les rachis de palmier un grand nombre de sucres solubles : glucose, fructose, saccharose.

Il semblerait donc que le *Fusarium*, bien que parasite vasculaire, utilise aussi bien les sucres solubles du cytoplasme et de la sève, que les sucres produits par une éventuelle lyse des parois.

Celle-ci ralentit sans doute son expansion dans l'organe attaqué, ce qui explique les tâches brunes bien localisées dans les tissus.

L'obstacle relatif que constitue la paroi amène le champignon à utiliser les vaisseaux dans lesquels il sporule. Les spores sont transportées par la sève montante.

Les résultats que nous avons obtenus relatifs à la structure des vaisseaux (BOUNAGA et BOUNAGA 1973) nous ont amené à formuler l'hypothèse selon laquelle le transport est rapide dans les racines, assez rapide dans les tiges et très lent dans les feuilles.

Cette variation de vitesse est en relation avec le diamètre des vaisseaux et surtout la densité des cloisons vasculaires, l'attaque est d'autant plus grande que le cheminement est rapide. A la lumière des résultats présents nous pouvons avancer que plus le cheminement des spores est lent, plus l'attaque est importante car le champignon ayant détruit un territoire tissulaire, émet des filaments vers les vaisseaux où il sporule. Les spores, après avoir été entraînées sur une courte distance sont plus ou moins arrêtées par les cloisons scalariformes ; elles germent ; le mycélium traverse les ponctuations de la paroi du vaisseau et vont végéter dans les tissus voisins, les spores parcourant une nouvelle distance vont répéter le même phénomène. Ainsi les cloisons très rapprochées accélèrent la sporulation et

déterminent une forte densité des territoires parasités.

De nombreux auteurs (DIMOND 1970 ; BECKMAN et al., 1972) avaient attribué aux thylloses, aux gommoses qui obstruent les vaisseaux et à la callose qui bouche les ponctuations, un rôle important dans les fusarioses : le champignon semble induire dans la plante parasitée la formation de ces corps (RAHMANIA 1982). Nous avons montré que la thyllose ne peut être imputée au *Fusarium* seulement (BOUNAGA et BOUNAGA 1973) et qu'elle ne semble déterminer aucune manifestation pathogène. Les gommoses, formation dont la constitution n'est pas totalement connue mais dont on connaît certains constituants (PILET 1971) : les arabanes, les rhamnanes, les galactanes etc...pourraient aussi ne pas gêner le *Fusarium* puisque ce champignon métabolise bien leurs monomères. Par contre les tannins, les composés phénoliques, l'augmentation de la lignification dans les tissus infectés, peuvent ralentir le développement du parasite et être des facteurs liés à la résistance.

Ces résultats tirés d'expérience *in vitro* n'ont qu'une valeur indicative pour la compréhension des phénomènes qui se déroulent chez l'hôte parasité. En possession de ces informations nous abordons les problèmes de lutte contre le Bayoud.

L'approche chimique, bien que présentant des dangers,

pourrait être possible en utilisant des produits moins toxiques. Tenant compte des résultats obtenus sur l'utilisation des sucres par le *Fusarium*, MESLI et son équipe ont synthétisé des produits glycosylés dans le but de faciliter leur passage à travers la membrane et de diminuer leur toxicité : dans la dernière partie nous avons étudié les effets de 5-mercapto-2-azoles sur la croissance du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Le mercapto-2-benzoxazole à 1,5 mM et le mercapto-2-benzothiazole à 0,4 mM inhibent totalement la croissance.

Le nombre d'atomes différent dans l'hétérocycle et la nature de l'élément occupant la position 1 semblent déterminants pour l'activité des mercapto-2-azoles. Leur ribosylation, loin d'augmenter leur efficacité les rend totalement inactifs.

Si l'on modifie le sucre vecteur, la glycosylation du mercapto-2-benzothiazole avec du xylose, sous forme pyranosique, ou de l'arabinose sous forme pyranosique et furanosique, le rend totalement inefficace. Les sucres agiraient comme agents détoxifiants.

Si les dérivés glycosylés ne sont pas actifs *in vitro* contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, il est possible que leur activité *in vivo* soit totalement différente. La recherche de produits qui stimulent les défenses naturelles des plantes, serait une voie de recherche plus prometteuse.

L'approche biologique de lutte contre l'agent du Bayoud peut être faite par la recherche de microorganismes du sol antagoniste du pathogène. Sur 271 actinomycètes isolés du sol, 50 % se sont révélés actifs *in vitro* contre le *Fusarium*. Deux d'entre eux exercent des actions antibiotiques, mycolytique et parasitaire. Ils ont été plus spécialement étudiés. Des différences d'activité sont relevées selon l'antagoniste et selon la forme spéciale contre laquelle ils ont été testés.

Au terme de cette étude, nous n'avons sûrement pas répondu à toutes les interrogations posées, nous espérons cependant avoir apporté une contribution à la résolution de ce grave problème qu'est le Bayoud.

Toute recherche impliquant un choix, nous avons orienté nos recherches et intégré nos résultats, dans l'ensemble des travaux portant sur la Fusariose.

D'autres voies restent cependant ouvertes; nous sommes consciente que ces résultats peuvent être valorisés sur un plan biotechnologique aussi bien pour la production d'alcool, d'enzymes, et d'autres stéroïdes... par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* qui de "néfaste" deviendrait "utile".

Ces travaux font l'objet de recherches au sein de notre laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

- ADJOUND D., 1977.- Mise en évidence et dosage de la chitine chez le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) atteint de Fusariose. D.E.S. - U.S.T.H.B. Alger.
- AINSWORTH G.C., 1965.- Historical introduction to mycology. In : The fungi . Edit by . AINSWORTH G.C. et SUSSMAN A.S. Academic Press, New-York.
- ALABOUVETTE C., 1983.- La réceptivité des sols aux Fusarioses vasculaires. Rôle de la compétition nutritive entre microorganismes. Thèse Doct. d'Etat. Université Nancy I.
- ALABOUVETTE C., COUTEAUDIER Y. et LOUVET J., 1984.- Recherches sur la résistance des sols aux maladies.X.- Comparaison de la mycoflore colonisant les racines de melons cultivés dans un sol résistant ou dans un sol sensible aux Fusarioses vasculaires. *Agronomie*, 4, 8, 735-740.
- ALI-HAIMOUD A., CHAMI M., DJELLALI N. et BOUNAGA D. 1979.- Activité microbiologique de la rhizosphère de quelques variétés de Palmier dattier. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 68, 3-35.

- AMIR H., 1981.- Antagonismes de divers microorganismes vis à vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (KILLIAN et MAIRE) GORDON, Agent du Bayoud. Thèse magister, U.S.T.H.B.Alger.
- AMIR H. et SABAOU N., 1983.- Le Palmier dattier et la Fusariose. XII. Antagonisme dans le sol de deux actinomycètes vis à vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, responsable du Bayoud. I er Colloque de Biologie 1981, Alger. Mémoire N.S. 13. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 47-59.
- AMIR H., BENNACEUR M., LAOUFI Z. et AMIR A.- 1985.- Le palmier dattier et la Fusariose. XII.- Contribution à l'étude de l'écologie microbienne du sol de deux palmeraies sahariennes atteintes de Bayoud. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, sous press.
- AMMAR S. et BENBADIS A. 1977.- Multiplication végétative du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par la culture de tissus de jeunes plantes Issues de semis. *C.R.Acad. Sc. Paris*, 284, 1789-1792.
- ARAI K. et YAMAMOTO A., 1977.- New *Fusarium* wilt of *Phoenix canariensis*. *Bull. Fac. Agric. Kagoshima Uni.*, 27, 33-37.
- ARMSTRONG G.M. et ARMSTRONG J.K., 1952.- Physiologic races of the *Fusaria* causing wilts of the Cruciferae. *Phytopathology*, 42, 255-257.
- ARMSTRONG G.M. et ARMSTRONG J.K., 1968.- Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing a tracheomycosis in the syndrome of disease. *Phytopathology*, 58, 1242-1246.

- ARMSTRONG G.M. et ARMSTRONG J.K., 1975.- Reflections on the wilt *Fusaria*. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 13, 95-103.
- ARMSTRONG G.M. et ARMSTRONG J.K., 1981.- Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In *Fusarium: Diseases, Biology and taxonomy*. Edit by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and COOK J. The Penn. State Univ. Press. Univ. Park and London.
- ARNOLD W.N., 1966.^a β -fructosidase from grape berries. II. solubilization of a bound fraction. *Biochem. Biophys. Acta, Pays-Bas*, 128, 1, 124-129.
- ARNOLD W.N., 1966.^b β -fructosidase from grape berries. III. The identity of the soluble and bound fraction. *Biochem. Biophys. Acta. Pays-Bas*, 128, 196-198.
- ARNOLD W.N., 1966.^c- A column method for enzymatic characterization of coarse cellular fractions: Application to insoluble β -Fructofuranosidase from grape. *Arch. Biochem. Biophys.*, USA., 113, 2, 451-456.
- AURIOL P., 1973.- Recherches sur le mécanisme d'infection de *Colletotrichum lagenarium*. Action sur les polyosides des parois cellulaires d'un hôte sensible. Thèse Doct. d'Etat - Toulouse.
- BAKER R., 1968.- Mechanism of biological control of soil born pathogene. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 6, 263-294.
- BAKER K.F., 1981?.- Biological control. in fungal diseases of plants. Edit. by MACE M.E., BELL A.A. and BECKMANN C.H. Academic Press. New-York.
- BAKER K.F. et COOK R.J., 1974.- Biological control of plant pathogens. FREEMAN Ed. 433 p. San Francisco.

- BALACHOWSKY A., 1925.- Les maladies du dattier dans la sud oranais. *Revue agricole de l'Afrique du Nord*, 23, 117-123.
- BALACHOWSKY A., 1926.- La maladie du dattier dite Ba-loudh. *Revue agricole de l'Afrique du Nord*, 24, 549-554.
- BARTNICKI-GARCIA S., 1968.- Cell wall chemistry, morphogenesis and taxonomy of fungi. *Ann. Rev. Microbiol.*, 22, 87-108.
- BARTNICKI-GARCIA S., 1970.- Cell wall composition and other biochemical markers in fungal phylogeny . In J.B. HARBONE. *Phytochemical phylogeny*. Academic Press. Inc., New-York and London.
- BARTNICKI-GARCIA S. et NICKERSON W.J., 1962.- *J. Biochim. Biophys. Acta*, 58, 102-119.
- BARTSCHI H., 1979.- Influence des *Endogonaceae* endomycorhiziennes sur la nutrition, la croissance , le développement et la résistance des plantes aux maladies . Thèse Doct. 3ème cycle . Lyon I.
- BATHNAGAR G. et PRASAD N., 1968.- Utilization of carbon compounds by *Fusarium solani* f. sp. *auranti foliae* . *Proc. Indian. Acad.Sci. B.*, 68, 3 163-168.

- BECKMANN C.H., ELGERSMA D.M. et MAC-HARDY W.E., 1972.-
The localization of fusarial infection in the
vascular tissue of single dominant gene resis-
tant tomatoses. *Phytopathology*, 62, 11, 1256-
1260.
- BECKMANN C.H. et TALBOYS P.W., 1981.- Anatomy of resis-
tance. *in* fungal wilt diseases of plants. Edit.
by MACE A., BELL A.A. and BECKMANN C.H. Acade-
mic Press. New-York.
- BECKMANN C.H., MUELLER W.C., TESSIER B.J. et HARRISSON N.A.,
1982.- Recognition and callose deposition in
reponse to vascular infection in *Fusarium* wilt
resistant or susceptible tomato plants. *Physio-
logical Plant Pathology*, 20,1-10.
- BENACHENHOU F., 1979.- Quelques réactions de glycosylation du
mercapto-2-benzothiazole, Thèse de Magister. Univ.
d'Oran.
- BENNACEUR M., 1981.- Sur la fusariose du Palmier dattier.
Effets des exsudats racinaires sur le *Fusarium*
oxysporum f. sp. *albedinis* (KILLIAN et MAIRE)
GORDON. Thèse 3ème cycle, U.S.T.L. Montpellier.
- BENZAZA H.B., BROCHARD P., DUBOST D. et HETHENER P., 1970.-
Progression du Bayoud en Algérie et résultats
des prospections entreprises. Travaux sur le
Bayoud, 1969-1970. Congrès d'agronomie saharien-
ne de Zagora, 14p. Polycopié.

- BILAI V.I., 1955.- The *Fusaria* (Biology and systematics)
Kiev Akad. Nauk. Ukr.
- BILAI V.I., 1970.- Experimental morphogenesis in the fungi
of the genus *Fusarium* and their taxonomy.
Am. Acad. Sci. Fenn. A. IV Biologica, 168,
7-18.
- BONHOMME F., 1984.- Approche moléculaire de l'évolution
d'un complexe d'espèces: Variabilité génétique
et polymorphisme des gènes de structure
et des ADN satellites et mitochondriaux
chez *Mus musculus* et apparentés. Thèse Doct.
d'Etat, U.S.T.L Montpellier.
- BONN W.G. et CAPPELLINI R.A., 1970.- Sporulation de *Gibberella*
zeae. III. Carbon and nitrogen nutrition
on growth and macroconidium production.
Can. J. Bot., 48, (7) 1335-1337.
- BOOTH C., 1971.- The Genus *Fusarium*, Kew-England : Commonwealth
Mycol. Inst. 237p.
- BOOTH C., 1975.- The present status of *Fusarium* taxonomy.
Ann. Rev. Phytopat., 13, 83-84.
- BOOTH C., 1981.- Perfect states (teleomorphs) of *Fusarium*
species. In: *Fusarium : Diseases, Biology and Taxonomy*.
Edit. by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and
COOK R.J. The Penn. State Univ. Press. Univ. Park
and London.

- BOUGUEDOURA N. , 1979.- Contribution à la connaissance du Palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. Etude des productions axillaires. Thèse Doct. 3ème cycle. U.S.T.H.B. Alger.
- BOUGUEDOURA N., 1980.- Morphologie et Ontogénèse des Productions axillaires du Palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L. *C.R.Acad.Sc. Paris.*, 291, 10, 857-860.
- BOUGUEDOURA N., 1983.- Développement and distribution of axillary buds *Phoenix dactylifera* L. Proceedings of the first symposium on the date palm King Faiçal, University Al Hassa, Arabie Saoudite.
- BOUHOT D., 1972.- Une technique de production des macroconidies des *Fusarium oxysporum*. *Ann. Phytopathol.*, 4, 2, 183-186.
- BOUHOT D., 1981.- Some aspect of the pathogenic potential *in formae speciales* and races of *Fusarium oxysporum* on cucurbitaceae. In: *Fusarium : Diseases, Biology, and Taxonomy*. Edit. by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and COOK R.J. The Penn. State Univ. Press. Univ. Park and London
- BOULILA A., 1978.- Etude de la chitine chez une souche de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (KILLIAN et MAIRE, GORDON). DES. U.S.T.A 23 p.
- BOUNAGA N., 1970.- Quelques aspects de la physiologie d'une souche de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent de la maladie du Bayoud. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 137-183.
- BOUNAGA D. et BOUNAGA N., 1973.- Le Palmier dattier et la Fusariose. I. Les vaisseaux. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 64, 3-4, 1-23.

- BOUNAGA N., 1975.- Le Palmier dattier et la Fusariose. V.- Etude comparative de la germination des microconidies et macroconidies du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (KILLIAN et MAIRE) GORDON. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 66, 3-4, 39-44.
- BOUNAGA N., 1976.- Le Palmier dattier et la Fusariose. II. Rapport entre la stéréochimie des oses et quelques uns de leurs dérivés et la croissance du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (KILLIAN et MAIRE) GORDON. *Can. J. Bot.*, 22, 5, 636-644.
- BOUNAGA N., 1977.- Le Palmier dattier et la Fusariose. III. Rapport entre la structure moléculaire des di et triholosides et leur utilisation par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (KILLIAN et MAIRE) GORDON. *Ann. Phytopathol.*, 9, (2), 211-218.
- BOUNAGA N., 1980.- Le Palmier dattier et la Fusariose. VII. Action de quelques mercapto-2-ribosylés sur la croissance *in vitro* du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (KILLIAN et MAIRE) GORDON. *Phytopathol. Z.*, 98, 210-217.
- BOUNAGA N., HASSANI L. et SALMI A., 1980.- Première enquêtes sur les variétés de Palmier à Béni-Abbès. Recherche de variétés résistantes. Rapport C.N.R.Z.A.
- BOUNAGA N., AMIR H., AGOUDJIL S., MAIZA F., SAHNOUN M. et TOUTAIN G., 1981.- Enquêtes sur la palmeraie de Béni-Abbès. Rapport C.N.R.Z.A.
- BROCHARD P. et DUBOST D., 1970.- Progression du Bayoud dans la palmeraie d'In-Salah. *El Awamia*, 35, 143-153.

- BROCHARD P., 1974.- La sélection génétique du Palmier dattier. *Bul. Agr. Sahar.*, 1,2, 1-20.
- BROWNLEE C. et JENNING D.H., 1981.- Further observations on tear or drop formation by mycelium of *Serpula lacrimans*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 77, 615-619.
- BRUEHL G.W., 1976.- Management of food resources by fungal colonists of cultivated soils. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 14, 247-264.
- BUFFON G., 1753.- De la manière de traiter et d'étudier l'Histoire Naturelle.
- BULIT J., LOUVET J., BOUHOT D. et TOUTAIN G., 1967.- Recherches sur les *Fusarium* I. Travaux sur le Bayoud, Fusariose du Palmier dattier en Afrique du Nord. *Ann. Epiphyties*, 18, (2).
- BURGESS L.W., 1981.- General ecology of the *Fusaria*. In : *Fusarium: disease biology and taxonomy*. Edit. by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and COOK R.J. The Penn. State Univ. Press. Univ. Park and London.
- BYRDE R.J.W., 1982.- Fungal pectinases : From ribosome to plant cell wall. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 79, 1-14.
- BUXTON E.W., 1958.- A change of pathogenic race in *Fusarium oxysporum* f. *pisi*. Induced by root exudate from a resistant host. *Nature*, 181, 1222-1224.
- BUXTON G.X. et WARD V., 1962.- Genetic relationships between pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* and an isolate of *Neetria haematococca*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 45, 2, 261-273.

- CHABROLIN C., 1930.- Les maladies du dattier. *Rev. Bot. Appl. et Agr. Trop.*, 10, 107, 557-566.
- CHAMI M. et BOUNAGA D., 1979.- Amylolyse dans la rhizosphère du Palmier dattier. Etude préliminaire. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, 16, 1, 17-21.
- CHANG L.O., SRB A.M. et STEWARD F.C., 1962.- Electrophoretic separations of the soluble proteins of *Neurospora*. *Nature, Lond.*, 193, 756-759.
- CHAVIS C. et IMBACH J.L., 1977.- Sur une méthode de pharmacomodulation : l'utilisation du vecteur sucre. *Actualités Chim. Therapeut.*, 5ème Sér., 3-28.
- CHESSON A., MORGAN J.J. et CODNER R.C., 1978.- Comparative électrophoretic study of protein of *Acremonium* like hyphomycetes. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 70, 3, 345-361.
- CHETTAB H., DUBOST D. et KADA A., 1978.- Remarques sur l'identification du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (KILLIAN et MAIRE) MALENCON, agent de la Fusariose vasculaire du Palmier dattier (Bayoud). *Bull. Agr. Sahar.*, 1, 4, 53-61.
- CHIARI D., 1968.- Studien zur ernährungs physiologie der gattung *Fusarium*. *Osterr. Bot. Z.*, 115, 2, 105-112.

- CLARE B.G., 1963.- Starch gel electrophoresis of proteins as an aid in identifying fungi. *Nature*, 23, 803-804.
- CLARE B.G., FLENTJE N.T. et ATKINSON M.R., 1968.- Electrophoretic patterns of oxydoreductases and other proteins as criteria in fungal taxonomy. *Aust. J. Biol. Sci.*, 21, 275-295.
- COCHRANE V.W. et COCHRANE J.C., 1966.- Spore germination and carbon metabolism in *F. solani*. *Plant. Physiol.*, 41, 810-814.
- COCHRANE V.W. et COCHRANE J.C., 1971.- Chlamydospore induction in pure culture in *Fusarium solani*. *Mycologia*, 63, 3, 462-463.
- COOPER R.M. et WOOD R.K.S., 1973.- Induction of synthesis of extracellular cell-wall degrading enzymes in vascular wilt fungi. *Nature*, 246, 309-311.
- COOPER R.M. et WOOD R.K.S., 1974.- Regulation of synthesis of cell-wall-degrading enzymes by *Verticillium albo-atrum* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Physiol. Plant Pathol.* 5, 135-156.
- COOPER R.M., RAKIN B. et WOOD R.K.S., 1978.- Cell wall-degrading enzymes of vascular wilt fungi. II. Properties and modes of action of polysaccharid. of *Verticillium albo-atrum* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Physiol. Plant. Pathology*, 1: 101-134.

- COOPER R.M., WARDMAN P.A. et SKELTON J.E.M., 1981.- The influence of cell walls from host and non-host plants on the production and activity of polygalacturonide - degrading enzymes from fungal pathogens. *Physiol. Plant Pathology*, 18, 239-255.
- CORDA E.C.J., 1838.- *Icon. Fungi*, 2, 3,
- CORTE A., 1972.- La tracheomycosis da *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* della *Phoenix canariensis*. *Congres de la Societa Italiana di Fitoiatria*; San Remo, 1972.
- CORTE A., 1973.- In noviziano sulle malattie della piante. *Societa Italiano di Fitoiatria* (1974), 88-89, (111, Série Num. 14-15), 107-117.
- COURTOIS J., 1968.- Quelques aspects du métabolisme du galactose chez les végétaux supérieurs. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 115, 309-344.
- CRUICKSHANK R.H. et WADE G.C., 1980.- Detection of pectic enzymes in pectic acrylamide gel. *Analytical Biochemistry*, 107, 177-181.
- CRUICKSHANK R.H., 1983.- Distinction between *Sclerotinia* sp. species by their pectic zymograms. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 80, 1, 117-119.
- CUVIER G., 1816.- Le règne animal. 1ère encyclopédie.
- CZANINSKI Y., PERESSE M., CATESSON A.M et MOREAU M., 1971.- Modifications ultrastructurales du xylème de l'oeillet infecté par le *Phialophora cinerescens*. *Wr. Van. Beyma. C.R. Acad. Sci. Paris*, 273, 18, 1576-1579.

- DABOUSSI - BAREYRE M.J. et PARISOT D., 1981.- Nucleo-cytoplasmic interactions Implicated in differentiation in *Nectria haematococca*. In: *Fusarium : Diseases, Biology and taxonomy*. Edit by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and COOK R.J., Penn. State Univ. Press. Univ. Park and London 306-317.
- DASSENOY B. et MEYER J.A., 1973.- Mutagenic effect of Benomyl on *Fusarium oxysporum*. *Mut. Res.*, 21, 119-120.
- DAVIDSE L.C., 1977.- Mode of action , selectivity and mutagenicity of benzimidazole compounds. *Netherl. J. Plant. Path.*, 83, 135-144.
- DAVIS J., 1978.- Du génotype au phénotype. *La Recherche* 89, 482-483.
- DE CANDOLLE A., PYRAME, 1813.- Théorie élémentaire de la Botanique.
- DEESE D.C. et STAHMANN M.A., 1962.- Pectic enzymes and cellulases formation by *F. oxysporum f. cubense* on stem tissues from resistant and susceptible bananas plants. *Phytopathology*, 52, 244-255.
- DELGADO DELGADO M.A. et CONDE ZURITA J., 1984.- Benomy as tool for the parasexual genetic analysis of brewing yeast - *Industrie Agro alimentaire*, 2, 4.
- DEKKER J., 1977.- Resistance. In : R.W. MARSH, *Systemics fongicides*, 2 nd ed. Longman, London and New-york.

- DIARRA B., 1980.- Synthèse et activité antifongique de composés benzothiphoniques diversement substitués. Thèse 3ème cycle, Université de Rouen. France.
- DIMOND A.E., 1970.- Biophysics and biochemistry of the wilt syndrom. *Ann. Rev. Phytopathol.*, , 8, 301-322.
- DRYSDALE R.B. et BRATT P.M., 1971.- Electrophoretic patterns of enzymes from isolates of *Fusarium graminearum*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 57, 172-175.
- DUBOST D. et KADA A., 1974.- Etude expérimentale de l'inoculation de jeunes plantules de Palmier dattier par *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* (KILL. et MAIRE) MALENCON. *Bull. Agr. Sahar.*, 2, 21-38.
- DUBOST D., KECHACHA L., et RETHER B., 1970.- Etude des enzymes pectinolytiques et cellulosiques d'une souche monospore de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (KILL. et MAIRE) MALENCON. *El'Awamia*, Rabat., 35, 195-211.
- EL ABYAD M.S. et SALEH Y.E., 1971.- Studies with *Fusarium oxysporum* f.sp.*vasinfectum* the cause of cotton wilt in Egypt, germination sporulation and growth. *Trans. brit. mycol. Soc.*, 57, 3 427-437.
- ERWIN D.C., 1981.- Chemical control in fungal wilt diseases of plants. Edit.by MACE M.E., BELL A.A. and BECKMANN C.H. Academic Press. New York. London. Toronto
- FARKAŠ V., 1979.- Biosynthesis of cell walls of fungi. *Microbiological review.*, 43, 117-144.

- FERGUSON A.B., 1980.- Biochemical systemics and Evolutions. Ed. Blackie-Glasgow and London 194 p.
- FINCHAM J.R.S., DAY P.R. et RADFORD A., 1979.- Fungal genetics. Botanical monographs - 4ème Edition Blackwell scientific publication. Oxford.
- FINKLE B., ULRICH J. et TISSERAT B., 1979.- Regeneration of date palm trees from callus stored at - 196°C. *Cryobiology*, 16, 550-556.
- FISHBEIN L., FLAMM W.G., et FALK H.L., 1972.- Chemical mutagens. Academic Press. New-York. 141 p.
- FISHER K.D., 1965.- Hydrolytic enzyme and toxine production by sweet potato *Fusaria* & *Phytopathology*, 5, 396-398.
- FOEX E. et VAYSSIERE P., 1919.- Les maladies du dattier au Maroc. *Journ. Agric. Trop.*, 162, 336-339.
- FRENCH R.E. et NIELSEN L.M., 1966.- Production of macroconidies of *Fusarium oxysporum* f.sp *bata* and their conversion to chlamydo-spores. *Phytopathology*, 56, 1322-1323.
- FREUDENBERG K. et CRAMER F., 1950.- in ELIEL. et al. 1966.- Conformation analysis. Interscience publishers. John Willey and sons, Inc., New-York.
- GARRET S.D., 1956.- Biology of root infecting fungi Cambridge Univ. Press. 293 p.

- GAUMANN E., 1959.- The mechanism of fusaric acid injury. *Phytopathology*, 48, 671-686.
- GENERMONT J., 1980.- Trois conceptions modernes en taxinomie : Taxinomie cladistique, taxinomie évolutive, taxinomie phénétique . *Ann. Biol.*, 4^{ème} série, 19, 19-40.
- GERLACH, 1970.- Suggestions to an acceptable modern *Fusarium* taxonomy system. *Ann. Acad. Sci. Fenn. A. IV. Biologica*, 168, 37-49.
- GERLACH W., 1977.- *Fusarium* species inciting plant diseases in the tropics . In: The diseases pests and weeds in tropical crops. Edit. by J. KRANZ, H. SCHUMUTTERER et W. KOCH. Verlag. Paul PAREY. Berlin.
- GERLACH W., 1981.- The present concept of *Fusarium* classification. In: *Fusarium : Diseases biology, and Taxonomy*. Edit. by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and COOK R.J. The Penn. State Univ. Press. Univ. Park and London .
- GHANI Y., 1964.- Studies on *Fusarium* wilt of cotton. Production of pectinases, cellulases and growth promoting substances. *Phytopathol. Medit.*, 111, 2, 71-72
- GIBSON W.S., MARSHALL (De) C.T.F. et GODFREY D.G., 1980.- Numerical analysis of enzyme polymorphism : a new approach to the epidemiology and taxonomy of trypanozoon . *Advances in Parasitology*, 18, 176-246.
- GLASZIOU , 1969.- In PILET P.E., 1969.- Les parois cellulaires. DOUIN, Paris, 173 p.

- GLYNN H.N. et REID J., 1969.- Electrophoretic pattern of soluble fungal. Proteins and their possible use as taxonomic criteria in the genus *Fusarium*. *Can. J. Bot.*, 47, 1823-1831.
- GODFREY D.G., 1979.- The zymodezymes of trypanosomes. *Symp. Br. Soc. Parasit.*, 77, 31-53.
- GOOS R.D. et SOMMERS D.F., 1964.- Use of fluorescent antibody techniques in studies on the morphogenesis of fungi. *Mycologia*, 56, 701-707.
- GORDON W.L., 1952.- The occurrence of *Fusarium* species in Canada .II. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seed. *Can. J. Bot.*, 30, 209-251.
- GORDON W.L., 1960.- The taxonomy and habitats of *Fusarium* species from tropical and temperate regions. *Can. J. Bot.*, 38, 643-658.
- GORDON, W. L., 1965.- Pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Can. J. Bot.*, 43.
- GOSSELIN G., LOUKIL H.F., MATHIEU A. et MESLI A., 1978.- Sur la ribosylation de divers mercapto-2-benzoazoles. *J. Heterocyclic chem.*, 15, 657-664.
- GOTHOSKAR S.S. et SHEFFER R.P., 1965.- Pectic enzymes in the physiology of *Fusarium wilt* of tomato. *Phytopathology.*, 43, 472.
- GRIFFIN G.J., 1973.- Modification of the exogenous carbon and nitrogen requirements for chlamydospore germination of *Fusarium solani* by contact with soil. *Can. J. Microbiol.*, 19, 999-1005.

- GRIFFIN G.J., 1984.- Physiology of conidium and chlamydospore germination in *Fusarium*. In : *Fusarium* : Disease, biology and taxonomy. Edit. by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and COOK R.J. The Penn. State Univ. Press. Univ. Park and London.
- GUEZLANE A., 1976.- Essais de caractérisation enzymatique des *Fusarium* par électrophorèse. Catabolisme auxinique et virulence chez deux isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Prill. Del.) Thèse 3ème cycle, Université d'Aix - Marseille II.
- GUILLEMAT J. et MONTEGUT J., 1956.- Contribution à l'étude de la microflore fongique des sols cultivés. *Ann. Epiphyties*, 471-540.
- GUILLEMAT J. et MONTEGUT J., 1958.- Troisième contribution à l'étude de la microflore fongique des sols cultivés. *Ann. Epiphyties*, 9, 27-54.
- GUPTA A.K. et BHATIA I.S., 1980.- Glucofructosan biosynthesis in *Fusarium oxysporum*. *Phytochemistry*, 19, 2557-2563.
- HALL R., 1967.- Proteins and catalase isoenzymes from *Fusarium solani* and their taxonomic significance. *Aust. J. Biol. Sci.*, 20, 419-428.
- HAMMERSCHMIDT R. et KUC J., 1982.- Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. *Physiol. Plant Pathol.*, 20, 61-71.
- HELLER R., 1969.- Précis de biologie végétale. Tome III. Nutrition et métabolisme. Masson et Cie. 578 p.

- HORNOK L., 1978.- On inadequacy of the double diffusion test in *Fusarium* serotaxonomy. *Acta phytopath. Academ. Sci. Hung.*, 13, 3-4, 357-363.
- HORST R.K., 1965.- Pathogenic and enzymatic variation in *F. oxysporum* f. sp. *callistephi*. *Phytopathology*, 55, 848-856.
- HUANG J.M., SUNS K. et KO W.H., 1983.- A medium for chlamydospore formation in *Fusarium*. *Annales of the Phytopathological Soc. Japan*, 49, 5, 704-708.
- HUSAIN A. et DIMOND A.E., 1960.- Rôle of cellulolytic enzymes in pathogenesis by *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology*, 50, 331-339.
- HUSAIN S.S., HASAN S.A. et ZAMIR K., 1967.- Effect of various carbon and nitrogen sources and concentrations on the growth of *Fusarium dimerum* Penzig. *Pakist. J. Sci. Indust. Res.*, 10, 2, 127-132.
- ISKANDAR D., 1984.- Evolution génétique de la superfamille des Muroïdés révélée par électrophorèse classique et électrophorèse séquentielle. Thèse de Doct. d'Etat. U.S.T.L. Montpellier.
- ISKANDAR D. et BONHOMME F., 1984.- Variabilité électrophorétique totale à onze locus structuraux chez les rongeurs muridés (*Muridae*, *Rodentia*). soumis à publication à *Canadian Journal of Cytology and Genetics*.
- IUPAC. IUB., 1974.- Nomenclature of multiple forms of enzymes. *Pure Appl. Chem.* 40, 311-314.
- JACCARD P., 1908.- Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.*, 44, 223-270.

- JOFFE A.Z., 1974.- A modern system of *Fusarium* Taxonomy. *Mycopathol. Mycol. Appl.*, 53, 201-228.
- KAARS SIJPESTEIN A.K., 1977.- Effects on fungal pathogens. In : Systemic fungicides. MARSH R.W., 2nd ed., 131-159. Longman, London and New-York.
- KADA A. et DUBOST D., 1975.- Le Bayoud à Ghardaïa-
Bull. Agr. Sah., 1, 1-27.
- KELLOU R. et DUBOST D., 1974.- Organisation de la recherche et la lutte contre le Bayoud en Algérie. *Bull. Agr. Sahar.* 1, 5-13.
- KIDD G.H. et WOLF F.T., 1973.- Dimorphism in a pathologic *Fusarium*. *Mycologia*, 65, (6), 1371-1375.
- KILLIAN C. et MAIRE R., 1930.- La Bayoud, maladie du dattier. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 21 89-101.
- LANOTTE G., RIOUX J.A., MAAZOUN R., PASTEUR N., PRATLONG F. et LEPART J., 1981.- Application de la méthode numérique à la taxonomie du genre *Leishmania* ROSS, 1903. A propos de 146 souches originaires de l'ancien monde. Utilisation des allozymes; corollaires épidémiologiques et phylétiques. *Annales de parasitologie* (Paris), 56, 6, 575-592.
- LAVILLE E., 1977.- Diseases pests and weeds in tropical Crops. Edit. by KRANZ J., SCHMUTTERER H. and KOCH W., Verlag Paul PAREY. Berlin. Hamburg.
- LAVILLE E. et LOSSOIS P., 1963.- Méthode de Van der plank et mode de propagation du Bayoud. *Fruits*, 18, 249-253.

- LEROUX P. et GRETT M., 1978.- Etude de l'action antagoniste d'acides gras, de stéroïdes, et de divers dérivés isopréniques vis à vis de quelques fongicides. *Phytopath.Z.* 91, 177-181.
- LEWONTIN R.C., 1974.- The genetic basis of evolutionary change. Columbia University Press, New-York.
- LILLY V.G., 1965.- The chemical environment for fungal growth. In : The Fungi. Edit by AINSWORTH G.C. et SUSSMAN A.S. Academic Press. New-York.
- LINK H.F., 1809.- Observationes in ordinibus plantarum naturalibus. *Mag. Ges. Naturforsch. Freunde Berlin*, 3, 10.
- LOISELEUR J., 1963.- Techniques de laboratoire. T.I. fasc. 2, Masson et Cie., Paris, 1355 p.
- LOPEZ M.E. et FERGUS G.L., 1965.- The carbon and nitrogen nutrition of *Fusarium roseum*. *Mycologia*, 57, 897-903.
- LOUKIL H.F., 1977.- Sur la ribosylation de quelques mercapto-2-benzozoles à visées antifongiques. Thèse 3ème cycle, Chimie org. Univ. Oran.
- LOUVET J., 1974.- Les recherches sur le Bayoud au Maroc. *Bull. Agr. Sahar.*, 1, 15-24.
- LOUVET J., 1977.- Observation sur la localisation des chlamydospores de *Fusarium oxysporum* dans les tissus des plantes parasitées. Travaux dédiés à VIENNOT-BOURGIN *Soc. Franç. Phytopathol.*, 193-197.

- LOUVET J. et BULIT J., 1970.- Le Bayoud, Fusariose vasculaire du Palmier dattier. Symptômes et nature de la maladie. Moyens de lutte. *El-Awamia*, 35, 161-182.
- LOUVET J. et TOUTAIN G., 1973.- Recherches sur les Fusarioses. VIII. Nouvelles observations sur La Fusariose du Palmier dattier et précisions concernant la lutte. *Ann. Phytopathol.*, 5, (1), 35-52.
- LOUVET J., BULIT J., TOUTAIN G. et RIEUF P., 1970.- Le Bayoud, Fusariose vasculaire du Palmier dattier. Symptômes et nature de la maladie, moyens de lutte. *Al Awamia*, 35, 161-181.
- MAAZOUN R., LANOTTE G., PASTEUR N., RIOUX J.A., KENNOU M.F. et PRATLONG F., 1981.^a- Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 6. Contribution à l'analyse chimiotaxonomique des parasites de la leishmaniose viscérale méditerranéenne. *Annales de parasitologie*, 56, 2, 131-146.
- MAAZOUN R., LANOTTE G., RIOUX J.A., PASTEUR N., KILLICK-KENDRICK R. et PRATLONG F., 1981.^b- Signification du polymorphisme enzymatique chez les Leishmanies. *Ann. de Parasit.*, 56, 5, 467-475.
- MAAZOUN R., 1982.- Identification des Leshmanies dans l'ancien monde. Doct. 3ème cycle. USTL. Montpellier.
- MACE M.E., BELL A.A. et BECKMANN C.H., 1981.- Fungal wilt diseases of plants. Academic Press. New-York.
- MADHOSHING C., 1964.- A serological comparaison of three *Fusarium* species. *Can. J. Bot.*, 42, 1143-1146.

- MADHOSINGH C., 1980.- Isoenzymes in isolates of *Fusarium oxysporum* causing spinach diseases. *Phytopath. Z.*, 97, 56-67.
- MAHADEVAN P.R. et TATUM P.R., 1964.- Relationship of the major constituents of the *Neurospora crassa*. Cell wall to wild type and colonial morphology. *J. of. Bacteriology*, 90, 4, 1073-1081.
- MAIRE R., 1933.- La défense des palmeraies contre le Bayoud et le Belaât. *Journées du dattier*, Nov. 1933, 1-8.
- MAIRE R., MALENÇON G. et FOEX E., 1933.- Sur l'étiologie du Bayoud, maladie du Palmier dattier. *C.R.Acad. Sci. Paris*, 196, 1349-1350.
- MALENCON G., 1934 B.- La question du Bayoud au Maroc. *Ann. Crypt. Exot.* (2) 1-41.
- MALENCON G., 1934 A.- Nouvelles observations concernant l'étiologie du Bayoud. *C.R.Acad. Sci. Paris*, 198, 1259.
- MALENCON G., 1936.- Données nouvelles sur le Bayoud. *Revue de mycologie*, 1, 192-206.
- MALENCON G., 1946.- L'infection florale du dattier par le *Fusarium albedinis*. *C.R.Acad.Sci.Paris*, 223, 923-925.
- MALENCON G., 1947.- Mission d'étude dans les oasis du territoire d'Ain-Sefra et de l'annexe du Tidikelt concernant une maladie du Palmier dattier. *Ann. Agri. Alg.*, 2, 139-158.

- MALENCON G., 1949 A.- Expériences marocaines de lutte contre les maladies fusariennes. *C.R. Journ. Agr. Afr. N.*, 2, 13-24.
- MALENCON G., 1949 B.- Le Bayoud et la reproduction expérimentale des lésions chez le Palmier dattier. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. N.*, hors série, 2, 217-228.
- MALENCON G., 1950 A.- La Bayoud, maladie fusarienne du Palmier dattier en Afrique du Nord. *Fruits*, 5, 279-289.
- MALENCON G., 1950 B.- La diffusion et l'épidémiologie de la maladie du Palmier dattier en Afrique du Nord. *Rev. Mycol.*, 15, 45-60.
- MANLEY R.S.J., 1964.- Fine structure of nature cellulose microfibrils. *Nature, G.B.*, 204, (4964), 1155-1157.
- MARCHANT R., 1966.- Fine structure and spore germination *Fusarium culmorum*. *Ann. Bot.*, 30, 441-445.
- MARUYAMA Y., ONDERA K., SETO H. et FUNAHASHI S., 1979.- Surface localization of enzymes in mycelia and microconidia of *Fusarium oxysporum*. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 25, 307-313.
- MAS P. et MOLOT P.M., 1974.- Atténuation de la sensibilité du melon (*Cucumis melo*) au *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* SN. et HANS. I. Rôle des filtrats de milieux de germination de spores. *Ann. Phytopathol.*, 6, (3), 237-244.

- MATSUYAMA N. et WAKIMOTO S., 1977.- A comparison of the Esterase and catalase zymograms of *Fusarium* species with special reference to the classification of a causal fungus of *Fusarium* leaf spot of rice. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.*, 43 : 462-470.
- MAYR E., 1942.- Systematics and the origin of species. Columbia University Press, New-York.
- MC MULLEN M.P., et STACK R.W., 1983.- Effect of isolation techniques and media on the differential isolation of *Fusarium* species. *Phytopathology*, 73, 458-462.
- MEIER H., 1964.- General chemistry of cell walls and distribution of the chemical constituents across the walls. *In* : The formation of wood in forest trees. Edit. by ZIMMERMANN M.H. Academic Press. New-York.
- MERCIER D. et LOUVET J., 1973.- Recherches sur les fusarioses. Une fusariose vasculaire du palmier des Canaries (*Phoenix canariensis*). *Ann. phytopathol.*, 5, 2, 203-211.
- MESSIAEN C.M., 1959.- La systématique du genre *Fusarium* selon SNYDER et HANSEN. *Rev. Path. Vég. et Ent. Ag.*, 4, 38, 253-266.
- MESSIAEN C.M. et MAS P., 1969.- Recherches sur les fusarioses. VI. Mise au point sur l'activité parasitaire du *Fusarium oxysporum* et sur les divers facteurs rendant les plantes plus ou moins sensibles aux fusarioses. *Ann. Phytopathol.*, 1, 401-426.
- MESSIAEN C.M. et CASSINI 1968.- Recherches sur les Fusarioses. IV. La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyt.*, 19, 387-454.

- MESSIAEN C.M. et CASSINI R., 1981.- Taxonomy of *Fusarium*. In : *Fusarium* : Diseases, Biology and taxonomy. Edit. by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and COOK R.J. The Penn. State Univ. Press Univ. Park and London .
- MEYER J.A. 1964.- The production of pectinolytic and cellulolytic enzymes by formae of *Fusarium oxysporum*. *Med. Landbouwhogesch. Gent.*, 29, 875-884.
- MEYER J.A., GARBER F.D. et SHAEFFER S.G., 1964.- Genetics of phytopathogenic fungi XII.- Détection of esterases and phosphatases in filtrates of *Fusarium oxysporum* and *F. xylarioides* by starch-gel zone electrophoresis. *Bot. Gaz.*, 125, 4, 289-300.
- MILLER P., G., 1955.- V 8 juice agar as general purpose medium for and bacteria. *Phytopathology*, 45, 461-462.
- MISHRA N.C. et TATUM E.L., 1971.- Phosphoglucomutase mutant of *Neurospora sitophila* and their relation to morphology. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 66, 3, 638-645.
- MOLOT P.M., 1969.^a Recherches sur la résistance du maïs à l'helminthosporiose et aux fusarioses II. Facteurs de résistance. *Ann. Phytopathol.*, 353-366.
- MOLOT P.M., 1969.^b Recherches sur la résistance du maïs à l'helminthosporiose et aux fusarioses. III. mode d'action des composés phénoliques. *Ann. Phytopathol.*, 1, 3, 367-383.

- MONCIERO A., 1954.- Notes sur le Palmier dattier. *Ann. Inst. Agri. Alg.*, 8, 4, 29-48.
- MORETTI J., BROUSSIER G. et JAYLE M.F., 1957.- Réalisation technique et premières applications de l'électrophorèse sur gel d'amidon. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 39, 593-605.
- MUNIER P., 1973.- Le Palmier dattier. Maisonneuve et Larose, Paris 221 p.
- NAGAO H. et HATTORI T., 1983.- Chlamydo-spores formation in hyphae of *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 29, 187-193.
- NAIM M.S. et SHAROUBEEM H.H., 1964.- Carbon and nitrogen requirements of *Fusarium oxysporum* causing cotton wilt. *Mycopathologia*, 22, 1, 59-64.
- NEI M., 1972.- Genetic distance between populations. *Amer. naturalist.*, 106, 283-292.
- NELSON K.H. et GARBER E.D., 1967.- An electrophoretic survey of esterases, phosphatases, and leucine aminopeptidases in mycelial extracts of species of *Aspergillus*. *Mycologia*, 59, 330-336.
- NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. et COOK R.J., 1981.- *Fusarium*: Diseases, biology and taxonomy. The Pennsylvania state University Press. University Park and London.

- NEVO E., KIM Y.J., SHAW C.R. et THAELER C.S., 1974.-
Genetic variation, selection and speciation
in *Thomomys talpoides* pocket gophers. *Evolution*, 28, 1, 1, 24.
- NIRENBERG H., 1976.- Untersuchungen über die morphologische und biologische differenzierung in der *Fusarium*. Sektion Liseola. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft. Berlin. Heft 169.
- NIXON R.W., 1950.- Observation on the disease of date palm in Morocco. *Plant. Dis. Rept.*, 34, 3.
- NIXON R.W., 1962.- A review of the date investigations at the U.S. date field station. Indio, California. *Agr. Res. Serv. U.S.D.A.*, 34-38.
- NORD F.F. et MULL R.P., 1945.- Recent progress in the biochemistry of *Fusaria*. *Advances in enzymology*. U.S.A., 5, 165-205.
- PALTI J., 1978.- Toxigenic *Fusaria*. Their distribution and significance as causes of disease in animal and man. Edit. P. Parey, Berlin.
- PARKINSON V., 1980.- Thèse de Doct. 3ème cycle. Université Paris Sud Orsay.
- PASTEUR G., 1974.- Génétique biochimique et populations, ou : Pourquoi sommes-nous multipolymorphes? ou : Le polymorphisme dans le règne animal. *Mém. Soc. Zool. France*, 37, 473-531.

- PASTEUR N., RIOUX J.A., GUILVARD E., PECH-PERIERES M.J.
et BERDIER J.M., 1975.- Existence chez
Aedes (Ochlerotatus) detritus (Holiday,
833) (*Diptera culicidae*) de Camargue de deux
formes sympatriques et sexuellement isolées
(espèces jumelles) *Ann. Paras. Hum. Comp.*,
52, 325-337.
- PASTEUR G. et PASTEUR N., 1980.- Les critères biochimiques
et l'espèce animale. In , les problèmes de
l'espèce dans le règne animal, Tome III.
Mémoires de la Société Zoologique de France,
40, 99-150.
- PEGG G.F., 1981 .- Biochemistry and physiology of patho-
genesis. In: fungal wilt diseases of plants. Edt
by MACE M.E., BELL A.A. and BECKMANN C.H.
Academic Press. New-York.
- PERLMAN 1965.- The chemical environment for fungal growth.
2. Carbon sources. In: The Fungi. Edt. by
AINSWORTH G.C. et SUSSMAN A.S. Academic Press.
New-York.
- PERREAU-LEROY P., 1954.- Recherche sur la Fusariose du
Palmier dattier. *Ann. Inst. Fr. Agric.
Colon.*, 8, 1-27.
- PERREAU-LEROY P., 1957.- Recherches d'un test de sensibi-
lité des variétés de Palmiers dattiers à la
Fusariose. *Fruits* , 12, 2, 53-56.

- PERREAU-LEROY, 1958.- Le Palmier dattier au Maroc. Institut français de recherches fruitières. Outre-Mer . (I.F.A.C.). 142 p.
- PERRIOT J., 1980.- La fusariose de l'ananas au Brésil. II. Pathologie et caractéristiques de diverses races et formes spéciales au sein de l'espèce *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. *Fruits*, 35, 6, 335-354.
- PILET P.E., 1971 .- Les parois cellulaires. Doin. Paris 173 p.
- PUHALLA E.J., 1981.- Genetic considerations of the genus *Fusarium*. In *Fusarium : Diseases, Biology, and taxonomy*. Edit. by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and COOK R.J. The Penn. Univer. Press. Univer. Park and London.
- PINOY P.E., 1925.- Sur la maladie du Bayoud des Palmiers de Figuig. *C.R.Soc.Biol.* 92, 137-138.
- RAHMANIA F., 1982.- Contribution à la connaissance du Palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L. et de l'agent du Bayoud, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (KILLIAN et MAIRE) GORDON. Aspects ultrastructuraux des relations hôte-parasite. Thèse 3ème cycle , U.S.T.H.B. , Alger.
- RAILLO A., 1935.- Diagnostic estimation of morphological and cultural character in the genus *Fusarium*. *Bull. Plant. Prot.* II. 'Lenin-grad. (Phytopathol).

- RAMADE F., 1974.- Eléments d'écologie appliquée. Ediscience. Mc. Graw Hill. Paris.
- RAMADE F., 1976.- La pollution par les composés organohalogènes. *La Recherche*, 69, 7, 628-637.
- REBELL G., 1981.- *Fusarium* infections in human and veterinary Medicine. In : *Fusarium*. Diseases, Biology and taxonomy. Edit. by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. and COOK R.J. The Penn. State Univ. Press. Univ. Park and London.
- REDDY M.N. et STAHMANN M.A., 1972.- Isozyme patterns of *Fusarium* species and their significance in taxonomy. *Phytopath.*, 74, 115-125.
- REESE R.E., 1954.- In conformational analyses, 966. Interscience Publishers, John Wiley and sons. Inc. New-York.
- REID J., 1958.- Studies on the *Fusaria* which cause wilt on melon. II. The effect of light, nutrition and various chemical on the sporulation of certain fusarial isolates and preliminary investigations. *Can. J. Bot.* 36, 507-537.
- RHINESMITH H.S. et GIOFFI L.A., 1968.- Macromolecules of living systems. Structure and chemistry. Reinhold book corporation, Ed et U.S.A. 164p.
- RHISS A., POULAIN C. et BEAUCHESNE G., 1979.- La culture *in vitro* appliquée à la multiplication végétative du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Fruits*, 34, 9, 551-554.
- RIDE J.P et DRYSDALE R.B., 1971.- A chemical method for estimating *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in infected tomato plants. *Physiol. Pl. Path.*, 1, 409-420.

- ROBIC D. et PERCHERON F., 1973.- Structure de la mannanase du palmier *Erythea Edulis*. *Phytochemistry, G.B.*, 12, 6, 1369-1372.
- ROSS D., 1960.- Physiological studies of some common fungi from the grass land soils. *New-Zealand Jour.Sci.*, 3, 219-257.
- ROUXEL F., 1978.- Etude de la résistance microbiologique des sols aux fusarioses vasculaires. Application aux sols de la basse vallée de la durance. Thèse doctorat d'Etat. Univ. Dijon 151p.
- RYLEY J.F., WILSON R.G., GRAVESTOCK M.B. et POYSER J.P., 1981.- Experimental approaches to antifungal chemotherapy. *Advances in Pharmacology and Chemotherapy*, 18, 50-155.
- SAADI M. et RODET J.R., 1974.- Lutte contre le Bayoud. II Efficacité de 2 fongicides sur *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, agent du Bayoud "In vitro". *EL AWAMIA*.53, 123-132.
- SAADI M., 1979.- Contribution a la lutte contre le Bayoud, Fusariose vasculaire du Palmier dattier. Thèse de Docteur d'Université. Dijon.
- SAADI M., TOUTAIN G., BANNEROT N. et LOUVET J., 1981.- La sélection du Palmier dattier, *Phoenix dactylifera*, pour la résistance au Bayoud. *Fruits*, 35, 4, 241-249.
- SABAOU N., 1979.- Le Palmier dattier et la fusariose. IV. Antagonisme d'*Aspergillus flavus* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis*. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 68, 37-44.

- SABAOU N., AMIR H. et BOUNAGA D., 1980.- Le Palmier dattier et la Fusariose. X. Dénombrement des actinomycètes de la rhizosphère ; leur antagonisme vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Ann. Phytopathol.* 12, 253-257.
- SABAOU N., BENNACEUR M. et BOUNAGA D., 1981.- Le Palmier dattier et la Fusariose. VII. Action parasitaire d'un actinomycète envers *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Ann. Microbiol. Paris*, 132 A, 319-329.
- SABAOU N., BOUNAGA N. et BOUNAGA D., 1983.- Actions antibiotique, mycolytique et parasitaire de deux actinomycètes envers *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et autres formae speciales. *Can. J. Microbiol.*, 29, 194-199.
- SBRAGIA R.J., 1975.- Chemical control of plant diseases : an exiting future. *Ann. Rev. Phytopathol.* , 13 257-269.
- SCALA F., SCRISTINZIO G., MARZIANO F. et NOVIELLO C., 1981.- Endopolygalacturonase zymograms of *Fusarium* species *Trans. Br. Mycol. Soc.* 77, 3, 587-591.
- SCANDALIOS J.G., 1979.- Control of gene expression and enzymes differentiation. Academic Press. New-York.
- SEELIGER H.P.R., 1960.- Advances in the serology of fungi *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 43, 543-555.

- SELANDER R.K., YANG S.Y. et HUNT W.G., 1969.- Polymorphism in esterases and hemoglobin in 3 wild populations of the house mouse (*Mus musculus*) in : Studies in Genetics y. University of Texas Publication n° 6918, 271 p.
- SELANDER R.K., SMITH M.H., YANG S.V., JOHNSON W.E. et GENTRY J.B., 1971.- Studies in Genetics. IV., *Univ. Texas. Publi.*, 7103, 49-90.
- SELVARAJ J.C., 1978.- Systemic fungicides in the control of Bayoud disease of date palm. *World Crops*, May-june, 116-119.
- SEQUEIRA L., 1962.- Influence of organic amendments on survival of *Fusarium oxysporum* f. *cubense* in the soil. *Phytopathology*, 52, 976-982.
- SERGEANT E. et BEGUET M. 1921.- Sur la nature mycosique d'une nouvelle maladie des dattiers menaçant les oasis marocaines. *C.R.Acad.Sci. Paris*, 172, 1624-1627.
- SHAW G.G., 1970.- Taxonomic concepts as applied to the fungi. *Phytopathology*, 55, 819-821.
- SIEGEL S.M., 1962.- The plant cell Wall. Pergamon Press. London. 123 P.
- SMIRNOF V.I., KOSTIK V.E., TODIRASH L.N. et MOGILENKO V.E., 1972.- In Biol. Abstract 56, 1973, Réf. 5 57078.

- SNYDER W.C. et HANSEN H.N., 1940.- The species concept
in Fusarium. *Am. J. Bot.*, 27, 64-67.
- SNYDER W.C. et HANSEN H.N., 1941.- The species concept
in Fusarium with reference to section
martiella. *Am. J. Bot.*, 32, 657-666.
- SNYDER W.C. et HANSEN H.N., 1945.- The species concept
in Fusarium with reference to discolor
and other sections. *Am. J. Bot.*, 32, 657-
666.
- SNYDER W.C. et TOUSSOUN T.A., 1965.- Current status of
taxonomy *in Fusarium* species and their
perfect stages. *Phytopathology*, 55, 833-
837.
- SNYDER W.C. et NASH-SMITH S., 1981.- Current status *in*
fungal wilt diseases of plants. *Academic*
Press.
- SNYDER W.C. et WATSON A., 1975.- Conclusions of Bayoud
seminar, Algiers, October 1972. *Bull.*
Agr. Sahar., 1, 25-30.
- SNYDER W.C., HANSEN H.N. et OSWALD J.W., 1957.- Cultivars
of the fungus *Fusarium*. *J. Madras*
Univ., 27, 187-192.
- SNYDER W.C., GEORGOPOULOS S.G., WEBSTER R.K. and NASH.
SMITH S., 1975.- Sexuality and genetic
behavior in the fungus *Hypomyces (Fusarium*
solani f. sp. *cucurbitae*) *Hilgardia*, 43
6, 161-185.

- SOZZI D. et GESSLER G., 1980.- Fungicide (M.B.C.) resistant mutants of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lyco persici* and *Botrytis cinerea*. Pathogenicity and fitness. *Phytopath. Z.*, 97, 19-24.
- STEIN W.D., 1962.- Spontaneous and enzyme induced dimer formation and its rôle in membrane permeability. *Biochim. Biophys. Acta.*, 59, 66-77.
- STOVER R.H., 1962.- Fusarial Wilt (panama diseases) of bananas and other *Musa* species. *Phytopathol. Pap. C.M.I.*, 4, 117P.
- SUIKHO M.L., 1983.- The fermentation of different carbon sources by *Fusarium oxysporum*. *Biotechnology Letters*, 5, 11, 721-724.
- SURICO G., 1976.- Sul possibile uso del benomy nella lotta contro il "Bayoud" della Palma da dattero. I. Assorbimento e distribuzione del benomyl un giovani piante. *Phytopathol. Medit.*, 15, 129-132.
- SZECSI A, SZENTKIRALYI F. et KOVES-PECHY CH. 197 - Comparison of esterase patterns of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum*. *Acta Phyto. Acad. Scient. Hung.*, 11, 3-4, 183-203.
- TANDON R.N. et AGARWALL G.P., 1957.- Nitrogen requirement of two strains of *Fusarium coeruleum*. *Proc. Nat. Acad. Sci. India.*, 27, 1-2.
- TELLO MARQUINA J.C., ALABOUVETTE C. et LOUVET J., 1980.- Aptitude à la conservation des microconidies de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Ann. Phytopathol.*, 12, 3, 227-233.

- TELLO MARQUINA J.C. et ALABOUVETTE C., 1984.- Observations sur la persistance dans le sol des microconidies de *Fusarium oxysporum*. *Agronomie*, 4, 9, 885-890.
- THOM C. et RAPER K.B., 1968.- Manuel of the *Penicillia*. Hafner publishing company. New-York, 875 p.
- TIBAYRENC M. , CARIOU M.L. et SOLIGNAC M. 1981.- Interprétation génétique des zymogrammes de flagellés des genres *Trypanosoma* et *Leishmania* . *C.R. Acad. Sci.*, 292, 623-625.
- TISSERAT B., ULRICH J. et FINKLE J., 1981.- Cryogenic preservation and regeneration of date palm tissue. *Hort. Science*. 16, 47-48.
- TISSERAT B., 1979.- Tissue culture of date palm. *The Journal of heredity*, 70, 221-222.
- TISSERAT B., 1980.- Propagation of date palm *Phoenix dactylifera* *in vitro*. *J. exp. Bot.*, 30, 1275-1283.
- TOUSSOUN A. et NELSON P.E., 1968.- A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species. The pennsylvania state University Park and London. 51 p.
- TOUSSOUN A. et NELSON P.E. 1975.- A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species according to the taxonomic system of Snyder and Hansen. Second edition. Pennsylvania state Univ. Press., University Park and London, 44 p.

- TOUTAIN G., 1965.- Note sur l'épidémiologie du Bayoud en Afrique du Nord. *Al Awamia, Rabat*, 15, 37-45.
- TOUTAIN G., BACHIR A., CHARI BENTERRAK, 1970.- Cartographie variétale sur la palmeraie marocaine. Rapport photocopié.
- TRACEY M.V., 1955.- Chitin. Modern method of plant analysis, Edit. PAECH et TRACEY, Springer Verlag.
- TRINCI A.P.J., 1978.- Wall and hyphal growth. *Sci. Prog. London*, 65, 75-99.
- VANACHTER A., 1979.- Fumigation against fungi. In soil disinfection, 1979, Edit. by MULDER D. Elsevier scientific publishing company. Amsterdam, Oxford, New-York.
- VAN ECK W.H. et SCHIPPERS B., 1976.- Ultrastructure of developing chlamydospores of *Fusarium solani* f. *cucurbitae* in vitro. *Soil Biol. Biochem.*, 8, 1-6.
- VAN WAMBEKÉ E., 1979.- The fate of organic fungicides in soil. In soil disinfection. Edit. by MULDER D., Elsevier Scientific publishing company. Amsterdam, Oxford, New-York.
- WAGGONER P.E. et DIMOND A.E., 1954.- Pectic enzymes produced by *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* in infected plants. *Phytopathology*, 44, 509.

- WAIN R.L. et CARTER G.A., 1977.- Historical aspect. In: R.W.MARSH, Systemic fungicides, 2 nd ed., 6- 31, Longmon, London et New-York.
- WAITE B.M. et STOVER R.H., 1960.- Studies on *Fusarium* wilt of bananas . VI. Variability and the cultivar concept in *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Can. J. Bot.*, 38, 985-994.
- WILHELM S., 1981.- Sources and genetics of host resistance in field and fruit crops. In: Fungal wilt diseases of plants. by MACE M.E., BELL A.A. and BECKMANN C.H. Academic Press. New-York
- WILLIAMS C.A. et TATUM E.L., 1966.- Immunoelectrophoretic analysis of cytoplasmic proteins of *Neurospora crassa*. *J. Gen. Microbiol.*, 44, 59-68.
- WILSON E.M., 1960.- Physiology of an isolate of *Fusarium oxysporum* f. *cubense*. *Phytopathology*, 50, 607-612.
- WOLF F., 1955.- Nutrition and metabolism of the tobacco wilt *Fusarium*. *Bull. Torr. Bot. Cl.*, 82, (5), 313-351.
- WOLF T.F., 1977.- Effects of chemical agents in inhibition of chlorophyll synthesis and chloroplast development in higher plants. *Bot. Rev.*, 43, 395-425.

WOLLENWEBER H.W., et REINKING O.A. , 1935.- Die *Fusarien*
Ihre beschreibung. Schadwirkung und bakamp-
fung. Berlin. Paul Parey, 355 p.

WOOD R.K.S., 1967.- Physiological plant pathology. Black-
well scientific publications. Oxford and Edim-
burg, 570 p.

ZENTENO ZEVADA M., 1966.- Estudios sobre hongos parasi-
tos de gramíneas de la republica mexicana.
Y. efecto de distintas fuentes de carbono
en *Fusarium monóliforme* Sheld. *Ann. Inst.*
Biol. Mex., 37, 71-74.

ANNEXE 1.

TRAITEMENTS des DONNEES à l'ORDINATEUR

UTILISATEUR

JOSETTE

Disquette G 21

FUSA / POP 13 Lij. 1 col
 FUSA / LOC 10 Lij. 2 col
 FUSA / DON 13 Lij. 39 col

DATE 12:12/12/84

NOM DES FICHIERS FUSA

POP 1	POP 2	LOC	JXY	JX2	JY2	I	D
FO ALBEDINIS#FO CANARIENSIS# 10 # 9						.9	.105361
FO ALBEDINIS#FO ELEIDIS# 10 # 8						.8	.223143
FO ALBEDINIS#FO LYCOPERSICI# 10 # 8						.8	.223143
FO ALBEDINIS#FO CONGLUTINENS# 10 # 7						.7	.356675
FO ALBEDINIS#F MONILIFORME# 9 # 3						.333333	1.09861
FO ALBEDINIS#F ACUMINATUM# 9 # 0						0	1000
FO ALBEDINIS#F EQUISETI# 9 # 1						.111111	2.19722
FO ALBEDINIS#F EQUISETI 2# 9 # 0						0	1000
FO ALBEDINIS#F EQUISETI 3# 10 # 0						0	1000
FO ALBEDINIS#F ACUMINATUM 2# 10 # 0						0	1000
FO ALBEDINIS#F SOLANI 1# 10 # 0						0	1000
FO ALBEDINIS#F SOLANI ?2# 10 # 0						0	1000
FO CANARIENSIS#FO ELEIDIS# 10 # 9						.9	.105361
FO CANARIENSIS#FO LYCOPERSICI# 10 # 7						.7	.356675
FO CANARIENSIS#FO CONGLUTINENS# 10 # 8						.8	.223143
FO CANARIENSIS#F MONILIFORME# 9 # 3						.333333	1.09861
FO CANARIENSIS#F ACUMINATUM# 9 # 0						0	1000
FO CANARIENSIS#F EQUISETI# 9 # 1						.111111	2.19722
FO CANARIENSIS#F EQUISETI 2# 9 # 0						0	1000
FO CANARIENSIS#F EQUISETI 3# 10 # 0						0	1000
FO CANARIENSIS#F ACUMINATUM 2# 10 # 0						0	1000
FO CANARIENSIS#F SOLANI 1# 10 # 0						0	1000
FO CANARIENSIS#F SOLANI ?2# 10 # 0						0	1000
FO Eleidiz # F.O. lycopersici# 10 # 8						.8	.223143

FO ELEIDIS	FO CONGLUTINENS	10	7	10	.7	.356675
FO ELEIDIS	F MONILIFORME	9	2	9	.222222	1.50408
FO ELEIDIS	F ACUMINATUM	9	0	9	0	1000
FO ELEIDIS	F EQUISETI	9	1	9	.111111	2.19722
FO ELEIDIS	F EQUISETI	2	9	9	0	1000
FO ELEIDIS	F EQUISETI	3	10	10	0	1000
FO ELEIDIS	F ACUMINATUM	2	10	10	0	1000
FO ELEIDIS	F SOLANI	1	10	10	0	1000
FO ELEIDIS	F SOLANI	2	10	10	0	1000
FO LYCOPERSICI	FO CONGLUTINENS	10	5	10	.5	.693147
FO LYCOPERSICI	F MONILIFORME	9	1	9	.111111	2.19722
FO LYCOPERSICI	F ACUMINATUM	9	0	9	0	1000
FO LYCOPERSICI	F EQUISETI	9	2	9	.222222	1.50408
FO LYCOPERSICI	F EQUISETI	2	9	9	0	1000
FO LYCOPERSICI	F EQUISETI	3	10	10	0	1000
FO LYCOPERSICI	F ACUMINATUM	2	10	10	.1	2.30259
FO LYCOPERSICI	F SOLANI	1	10	10	.1	2.30259
FO LYCOPERSICI	F SOLANI	2	10	10	.1	2.30259
FO CONGLUTINENS	F MONILIFORME	9	3	9	.333333	1.09861
FO CONGLUTINENS	F ACUMINATUM	9	0	9	0	1000
FO CONGLUTINENS	F EQUISETI	9	1	9	.111111	2.19722
FO CONGLUTINENS	F EQUISETI	2	9	9	0	1000
FO CONGLUTINENS	F EQUISETI	3	10	10	0	1000
FO CONGLUTINENS	F ACUMINATUM	2	10	10	0	1000
FO CONGLUTINENS	F SOLANI	1	10	10	0	1000
FO CONGLUTINENS	F SOLANI	2	10	10	0	1000
F MONILIFORME	F ACUMINATUM	9	2	9	.222222	1.50408
F MONILIFORME	F EQUISETI	9	0	9	0	1000
F MONILIFORME	F EQUISETI	2	9	9	.111111	2.19722
F MONILIFORME	F EQUISETI	3	9	10	.105409	2.2499
F MONILIFORME	F ACUMINATUM	2	9	10	.105409	2.2499

#	F MONILIFORME#F SOLANI	1#	9	#	0	#	9	#	9	#	0	#	1000
#	F MONILIFORME#F SOLANI	?2#	9	#	1	#	9	#	9	#	.111111	#	2.19722
#	F ACUMINATUM#F EQUISETI	#	9	#	6	#	9	#	9	#	.666667	#	.405465
#	F ACUMINATUM#F EQUISETI	2#	9	#	8	#	9	#	9	#	.888889	#	.117783
#	F ACUMINATUM#F EQUISETI	3#	9	#	7	#	9	#	9	#	.777778	#	.251314
#	F ACUMINATUM#F ACUMINATUM	2#	9	#	6	#	9	#	9	#	.666667	#	.405465
#	F ACUMINATUM#F SOLANI	1#	9	#	1	#	9	#	9	#	.111111	#	2.19722
#	F ACUMINATUM#F SOLANI	?2#	9	#	2	#	9	#	9	#	.222222	#	1.50408
#	F EQUISETI # F EQUISETI	2#	9	#	7	#	9	#	9	#	.777778	#	.251314
#	F EQUISETI # F EQUISETI	3#	9	#	6	#	9	#	9	#	.666667	#	.405465
#	F EQUISETI # F ACUMINATUM	2#	9	#	6	#	9	#	9	#	.666667	#	.405465
#	F EQUISETI # F SOLANI	1#	9	#	2	#	9	#	9	#	.222222	#	1.50408
#	F EQUISETI # F SOLANI	?2#	9	#	2	#	9	#	9	#	.222222	#	1.50408
#	F EQUISETI 2#F EQUISETI	3#	9	#	8	#	9	#	9	#	.888889	#	.117783
#	F EQUISETI 2#F ACUMINATUM	2#	9	#	5	#	9	#	9	#	.555556	#	.587787
#	F EQUISETI 2#F SOLANI	1#	9	#	1	#	9	#	9	#	.111111	#	2.19722
#	F EQUISETI 2#F SOLANI	?2#	9	#	2	#	9	#	9	#	.222222	#	1.50408
#	F EQUISETI 3#F ACUMINATUM	2#	10	#	5	#	10	#	10	#	.5	#	.693147
#	F EQUISETI 3#F SOLANI	1#	10	#	1	#	10	#	10	#	.1	#	2.30259
#	F EQUISETI 3#F SOLANI	?2#	10	#	2	#	10	#	10	#	.2	#	1.60944
#	F ACUMINATUM 2#F SOLANI	1#	10	#	2	#	10	#	10	#	.2	#	1.60944
#	F ACUMINATUM 2#F SOLANI	?2#	10	#	1	#	10	#	10	#	.1	#	2.30259
#	F SOLANI 1 # F SOLANI	?2#	10	#	9	#	10	#	10	#	.9	#	.105361

- FO ALBEDINIS H= 0 1
- FO CAARIENSIS H= 0 2
- FO ELEIDIS H= 0 3
- FO LYCOPERSICI H= 0 4
- FO CONGLUTINENS H= 0 5

ANNEXE 1.

F MONILIFORME	H= 0	6
F ACUMINATUM	H= 0	7
F EUISETI	H= 0	8
F EUISETI 2	H= 0	9
F EUISETI 3	H= 0	10
F ACUMINATUM 2	H= 0	11
F SOLANI 1	H= 0	12
F SOLANI 2	H= 0	13

FUSA

PARAMÈTRE DE L'AGGLOMÉRATION

VALEUR DE ALPHA ?? .5
 VALEUR DE BETA ?? 0
 VALEUR DE GAMMA ?? 0

FUSA/ARB:1

NUM.	OBJETS	REGROUPE	DISTANCE	
1	1	2	2	.105361
2	2	3	3	.105361
3	12	13	13	.105361
4	7	9	9	.117783
5	9	10	10	.117783
6	3	4	4	.223143
7	8	10	10	.32839
8	4	5	5	.693147
9	10	11	11	.693147
10	5	6	6	1.09861
11	11	13	13	1.95602
12	6	13	13	376.368

0,0008

FUSA/ARB:1

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 8
- 7
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13

ANNEXE 1.

TANDY modèle 3 - TRS 80 -

FUSA

PARAMÈTRE DE L'AGGLOMÉRATION

VALEUR DE ALPHA ?? .5
VALEUR DE BETA ?? 0
VALEUR DE GAMMA ?? 0

FUSA/DIS:1

NUM.	OBJETS	REGROUPE	DISTANCE	
1	1	2	2	.1
2	2	3	3	.1
3	12	13	13	.1
4	7	9	9	.111111
5	9	10	10	.111111
6	3	4	4	.2
7	8	10	10	.277778
8	4	5	5	.5
9	10	11	11	.5
10	5	6	6	.666667
11	11	13	13	.85
12	6	13	13	.928865

FUSA/DIS:1

1-I

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 8
- 7
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13

$$D = -\log(I)$$

ANNEXE II

Lexique

allozyme : enzymes catalysant la même réaction codées par des allèles différents d'un même locus.

électromorphes : tâches ou bandes révélées par une même coloration qui sont donc des Isozymes.

électrophorégramme : profil de l'électrophorèse après localisation de macromolécules analysées dans une solution colloïdale ou une suspension de micelles.

isozyme : Isoenzyme - les différentes formes moléculaires d'une enzyme (codée par + de 1 locus) qui catalysent la même réaction sont appelées Isozymes.

zymodème : ensemble de souches présentant les mêmes électromorphes pour l'ensemble des systèmes enzymatiques étudiés.

zymogramme = profil Isozymique : électrophorégramme particulier dans lequel seules les enzymes isofonctionnelles sont révélées - Image obtenue après chaque électrophorèse et révélation d'un système enzymatique unique et ceci quelque soit l'origine des extraits protéiniques analysés.

LISTE DES PLANCHES

- Planche 1 : Palmiers sains en production. (page 1).
- Planche 2 : Symptômes de la Fusariose. (page 7).
- Planche 3 : Stades ultimes de la Fusariose. (page 8).
- Planche 4 : Symptômes internes de la maladie. (page 9).
- Planche 5 : Carte des foyers de Bayoud en Afrique du Nord. (page 10).
- Planche 6 : Répartition géographique des Palmiers dattiers dans l'ancien monde. (page 11).
- Planche 7 : Plantule de Palmier dattier. (page 12).
- Planche 8 : Isolement du parasite *Fusarium oxysporum albedinis* à partir de fragments de rachis de palmier atteint de Bayoud. (page 20).
- Planche 8bis : -Aspect de quelques souches de *Fusarium* citées dans les tableaux 1 et 2. (page 21).
- Planche 9 : Place des systèmes enzymatiques étudiés dans le cycle énergétique. (page 32).
- Planche 10 : Dispositif d'électrophorèse sur gel d'amidon. (page 36).

- Planche 11: Révélation de six enzymes chez quelques formes spéciales de *Fusarium oxysporum* par découpe d'un même gel, et en présence d'une souche de *Fusarium equiseti*. (page 68).
- Planche 12: Représentation schématique des zymogrammes de sept formes spéciales de *Fusarium oxysporum* (page 69).
- Planche 13: Aspect des zymogrammes de quelques enzymes pour différentes souches de *Fusarium* (page 70)
- Planche 14: Représentation schématique des zymogrammes de cinq espèces de *Fusarium*. (page 72).
- Planche 15: Dendogramme établi à partir de l'indice de similarité (page 76).
- Planche 16: Dendogramme établi à partir des distances de Nei (page 77).
- Planche 17: Différents types de spores chez *Fusarium oxysporum albedinis* (page 84).
- Planche 18: Isolement de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (page 86).
- Planche 19: Aspect de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* après repiquage sur milieu P.D.A. (page 87).
- Planche 20: Evolutions morphologiques possibles rencontrées chez *Fusarium oxysporum albedinis* (page 88).
- Planche 21: Pourcentage de germination des microconidies, des macroconidies, et des chlamydospores en fonction du temps (page 91).

Planche 22 : Croissance comparée des tubes de germination des spores de 2 souches de *Fusarium albedinis*:

- A: Macroconidies ; B: Microconidies bicellulaires; C: Microconidies unicellulaires ; D: Chlamydospores. (page 92)

Planche 23 : Variation du pouvoir germinatif des microconidies et des chlamydospores ayant passé une heure aux températures portées en abscisse (comptages effectués 24 heures après l'ensemencement). (page 94)

Planche 24 : Croissance du *Fusarium oxysporum albedinis*, sur P.D.A., en fonction du temps : à 20° - 28° et 35°C .(page 96)

Planche 25 : Courbes de croissance du *Fusarium oxysporum albedinis* de 5° à 40° C à différents jours d'incubation.(page 97)