

EFFET DE LA FRACTION OLIGOSACCHARIDIQUE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* SUR LA PROTECTION DU COTONNIER (*Gossypium hirsutum* L.) CONTRE LA FUSARIOSE

EFFECT OF OLIGOSACCHARIDE FRACTION OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* ON COTTON PROTECTION (*Gossypium hirsutum* L.) AGAINST FUSARIUM WILT

**R. A. N'GORAN épse BLA^{1,2}, H. T. KOUAKOU², F. K. Y. KONAN², B. CAMARA¹,
N. K. KOUASSI³ et D. KONE¹**

¹Laboratoire de Physiologie Végétale, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny,
22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales,
UFR des Sciences de la Nature, Université Nangui Abrogoua,
02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

³Laboratoire Central de Biotechnologie, Centre National de Recherche Agronomique (CNRA),
BP 1740 Abidjan 01, Côte d'Ivoire
Email auteur correspondant : rndebla@gmail.com

RÉSUMÉ

La fusariose, causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (FOV), provoque plus de dégâts dans les cotonneraies. La recherche de méthodes alternatives est donc nécessaire. Le but de cette étude est de montrer l'effet de la fraction oligosaccharidique de FOV en tant qu'éliciteur des défenses naturelles du cotonnier. Le traitement des plants par la FOS a permis une meilleure protection contre FOV. Le gain de résistance obtenu démontre que la FOS peut être utilisée dans la lutte contre la fusariose.

Mots clés : *Gossypium hirsutum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, défense naturelle, éliciteur oligosaccharidique

ABSTRACT

Fusarium wilt, caused by Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum (FOV), causes on cotton crop most damage. So the research of alternative methods is necessary. The aim of this study is to show the effect of oligosaccharide fraction of FOV as elicitor of natural defense of cotton. The treated plant with oligosaccharide fraction (OSF) was permitted a best protection against FOV. The benefice obtained demonstrates that the OSF can be used in the struggle against fusarium wilt.

Key words: *Gossypium hirsutum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, natural defense, elicitor oligosaccharide

INTRODUCTION

Gossypium hirsutum L. est la principale espèce de cotonnier actuellement cultivée dans le monde (Kouadio *et al.*, 2004). Le cotonnier est cultivé pour ses fibres qui constituent la principale matière première en industrie textile et ses graines utilisées en alimentation humaine et animale (Sément, 1986). Les Etats-Unis, la Chine, l'Inde, l'Ouzbékistan et le Pakistan sont les plus grands producteurs, avec plus de 80% de la production mondiale. Les pays africains contribuent pour 8% à cette production et la Côte d'Ivoire, avec près de 400 000 tonnes de coton-graines, est le cinquième producteur africain au sud du Sahara après le Burkina Faso, le Mali, le Bénin et le Cameroun (Coulibaly, 2014). Le coton est donc une importante source de revenu pour la Côte d'Ivoire où il représente le quatrième produit d'exportation après le cacao, l'hévéa et la noix de cajou (Coulibaly, 2014). Cependant, la production et la qualité des fibres et des graines du cotonnier sont affectées par les attaques des parasites et des maladies diverses (Vaissayre, 1994). En Afrique de l'Ouest et notamment en Côte d'Ivoire, les maladies du cotonnier représentent, l'une des principales causes de pertes de production, évaluées entre 15 et 25 %. Au cours des années défavorables, un parasitisme non ou mal contrôlé peut entraîner des pertes de production supérieures à 50 % et parfois entraîner la destruction quasi-totale du potentiel de production (Sayegh, 2009). La fusariose causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* est la maladie qui provoque le plus de dégâts dans les cultures cotonnières. De plus, la plupart des variétés de cotonniers cultivées en Côte d'Ivoire comme ISA, MaCNair, R405, X449, W766, Ka, M124, Bulk-SR, N'TA, Y764AG3 sont très sensibles à la fusariose. L'incidence du parasitisme sur la culture cotonnière en climat tropical est telle que la lutte chimique représente la stratégie de lutte dominante. Malheureusement, les pesticides sont de plus en plus indexés pour des questions de toxicité, de pollution de l'environnement, de santé et même de destruction de la biodiversité (Faurie *et al.*, 2009). Dans ce contexte, il apparaît nécessaire de rechercher des alternatives plus efficaces pour le développement d'une agriculture durable. L'une d'entre elles consiste à donner aux plantes les moyens de se défendre elles-mêmes, ou de renforcer leurs propres moyens de défense, plutôt que de combattre directement l'agresseur (Amari, 2012 ; Konan *et al.*, 2014).

De nombreux travaux ont montré que l'application d'éliciteur sur une plante active les réactions de défense et conduit aussi à l'augmentation de sa résistance aux pathogènes (Belhadj, 2005 ; Ahuja

et al., 2012). Les éliciteurs sont généralement des molécules sécrétées par les microorganismes, des dérivés de la paroi cellulaire du champignon, de la bactérie et/ou de la plante hôte (Korsangruang *et al.*, 2010). Les propriétés élicitrices pourraient être attribuées à quelques composés tels que l'acide salicylique, l'éthylène et le méthyle jasmonate (Faurie *et al.*, 2009). D'autres molécules classées comme des éliciteurs sont aussi capables d'initier une réaction de défense chez la plante hôte. Ces molécules sont pour la plupart des oligosaccharides libérés par le pathogène ou les cellules de la plante (Li *et al.*, 2003). Les travaux de Fanizza *et al.* (1995) ont montré qu'une activité élicitrice peut être due à la présence dans le filtrat de culture de polysaccharides extracellulaires tels que les glucanes et les rhamno-galacto-mannanes. Des études ont montré dans le cas de l'interaction plante/champignon, l'action des oligosaccharides. Ils sont issus de la dégradation des polysaccharides de la paroi fongique ou sont sécrétés par le champignon et reconnus en surface par des récepteurs qui activent les systèmes de défense de la plante (Verhagen *et al.*, 2010 ; Thakur et Sohal, 2013). Yamaner *et al.* (2013) et N'goran *et al.* (2014) ont montré que la fraction oligosaccharidique d'origine fongique riche en sucres réducteurs était capable d'induire des réactions de défense.

L'objectif de ce travail est de stimuler les défenses naturelles du cotonnier en vue d'augmenter la résistance naturelle à *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (FOV), responsable de la fusariose. De façon spécifique, il s'agit de caractériser l'effet du filtrat de culture de FOV en tant qu'éliciteur oligosaccharidique des défenses naturelles du cotonnier.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL VEGETAL

Le matériel végétal est constitué de plants de cotonniers obtenus à partir des graines de cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.), cultivar Y764AG3. Les graines, originaires de la Côte d'Ivoire ont été fournies par le Centre National de Recherche Agronomique (CNRA). Cette variété est très sensible à la fusariose.

MATERIEL FONGIQUE

Le matériel fongique est le champignon *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (FOV). Les souches de FOV ont été fournies par le Laboratoire de Phytopathologie de l'Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny (INPHB) de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire). Les souches ont été caractérisées et mises en collection au Centraal-bureau voor Schimmelcultures (CBS), au Pays-Bas. Deux

souches de FOV de virulence différente ont été utilisées (Abo *et al.*, 2005) :

- la souche 14, moins virulente, est collectionnée sous le numéro 116623 ;
- la souche 17, très virulente, est collectionnée sous le numéro 116626.

METHODES

Obtention des plants de cotonnier

Des graines de cotonnier ont été délintées avec l'acide sulfurique concentré. Les graines matures et saines ont été stérilisées par trempage rapide (1 min) dans l'éthanol (70 %) suivi d'une immersion de 20 min dans l'hypochlorite de sodium (3,6 %). Les graines ont été rincées trois fois successivement à l'eau distillée stérile pendant 5 min. Les graines sont semées dans des pots contenant de la terre stérilisée à l'autoclave à 121 °C pendant 30 min sous une pression de 1 bar. Elles sont mises à germer sous un abri recouvert de film plastique transparent pendant deux mois.

Préparation de la fraction fongique potentiellement élicitrice

Après culture de FOV sur milieu PDA, les spores sont mises en suspension dans de l'eau distillée stérile contenant du tween 20. Des aliquotes de cette suspension de spores sont ajoutées au milieu liquide Czapek-Dox modifié préalablement autoclavé à 121 °C pendant 30 min sous la pression de 1 bar. La concentration finale est d'environ $2,5 \cdot 10^4$ spores/ml. Les cultures sont placées à 21 °C, à l'obscurité et sans agitation pendant 28 jours (Fanizza *et al.*, 1995). Les suspensions de spores sont agitées puis filtrées sur papier Wattman stérile. Le filtrat obtenu a constitué la fraction oligosaccharidique (FOS) exocellulaire. Cette fraction est stérilisée à l'autoclave à 121 °C pendant 30 min. Après stérilisation, elle a constitué le filtrat de culture ou fraction oligosaccharidique de FOV.

Traitement et inoculation des plants de cotonnier

Des plants de cotonniers âgés de deux mois sont traités avec 10 ml de la fraction oligosaccharidique à 10 % contenant 0,1 ml de triton X-100 (0,1 %). En effet selon N'goran *et al.* (2014), la fraction oligosaccharidique à 10 % est celle qui stimule fortement la production de composés phénoliques impliqués dans la défense des plantes contre les agents pathogènes. Les plants sont traités à la racine (PTR), sur les feuilles (PTF) et simultanément

à la racine et sur les feuilles (PTRF). Un lot de plants non traités (PNT) par la fraction oligosaccharidique est réalisé. L'inoculation fongique est effectuée le cinquième jour après le traitement des plants avec la fraction oligosaccharidique. Les plants sont inoculés avec FOV en injectant environ 2 ml de suspension de spores de FOV directement dans la partie qui entoure la racine. Trois modes de traitement sont effectués :

- (i) plant traité à la racine par la fraction oligosaccharidique et inoculé par FOV (PTRI) ;
- (ii) plant traité au niveau des feuilles par la fraction oligosaccharidique et inoculé par FOV (PTFI) ;
- (iii) plant traité à la racine et au niveau des feuilles par la fraction oligosaccharidique et inoculé par FOV (PTRFI).

Deux témoins ont été effectués. Un avec des plants non traités par la fraction oligosaccharidique et non inoculé par FOV (PNTNI). L'autre, avec des plants non traités par la fraction oligosaccharidique et inoculé par FOV (PNTI).

Pour chaque modalité de traitement, 12 plants de cotonnier sont utilisés puis exposés sous abri recouvert de film plastique transparent selon un dispositif complètement aléatoire. L'expérience est répétée trois fois. Un arrosage des plants est réalisé en fonction de l'humidité du substrat. L'incidence de la maladie causée par FOV est évaluée tous les deux jours jusqu'à ce que les PNTI n'aient plus de feuilles vivantes.

Évaluation de l'incidence de la maladie Détermination des paramètres de croissance

Trois paramètres de croissance de la plante sont mesurés. Il s'agit de la hauteur de la tige, du diamètre de la tige et du nombre de feuilles saines (feuilles intactes). En plus, la teneur en chlorophylle totale des feuilles qui donne une appréciation sur l'activité photosynthétique et exprime l'état physiologique des plants est aussi déterminée. L'extraction des chlorophylles est réalisée selon la méthode de De Kok et Graham (1989). Deux grammes de feuilles de cotonnier sont prélevés et placés dans 5 ml d'acétone pendant 2 h, à l'obscurité. Elles sont ensuite broyées dans l'acétone en présence d'une pincée de carbonate de calcium et de sable de Fontainebleau. Le résidu d'extraction est lavé deux fois avec l'acétone. Le broyat est centrifugé à 5 000 rpm pendant 15 min à 4 °C. Le surnageant obtenu a constitué l'extrait brut de chlorophylles. Le volume de l'extrait brut est déterminé. Le dosage est réalisé selon la méthode de Harborne (1998).

L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 646 nm et à 663 nm, contre un échantillon témoin réalisé avec de l'acétone. La teneur en chlorophylle totale des feuilles (mg/g de feuille) est ensuite calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Chlorophylle totale} = (17,30 \times A_{646}) + (7,18 \times A_{663})$$

Avec A = absorbance

Analyses statistiques

Les résultats expérimentaux obtenus sont analysés à l'aide du logiciel Statistica version 6.0. Une analyse de variance (ANOVA) est effectuée pour déterminer les différences significatives. Le test de Duncan à 5 % est utilisé pour la comparaison des moyennes.

RESULTATS

L'influence de l'application exogène de la fraction oligosaccharidique (FOS) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (FOV) chez des plants de cotonnier inoculés par FOV (figure 1) montre qu'à

partir du deuxième jour d'incubation, le nombre de feuilles vivantes chez les PNTNI est supérieur à celui des plants traités et cela jusqu'au quarantième jour. Tandis que le nombre de feuilles des plants traités est identique avec celui des PNTI jusqu'au quatrième jour. Du quatrième jour au dixième jour, le nombre de feuilles des PTRI est identique avec celui des PNTI. A partir du dixième jour, ces deux lots de plant ont présenté des nombres de feuille différents avec des valeurs plus faibles pour les PNTI. Par contre, les PTFI et les PTRFI ont présenté des nombres de feuilles identiques du quatrième jour au vingtième jour. A partir du vingtième jour, ces deux lots de plant ont présenté des nombres de feuilles différents. Par ailleurs, le nombre de feuilles vivantes des PNTI décroît régulièrement à partir du dixième jour d'inoculation pour devenir nul au quarantième jour après l'inoculation de FOV. Tandis que le nombre de feuilles vivantes des PTRI décroît régulièrement à partir du quatorzième jour. Le nombre de feuilles vivantes des PTFI décroît faiblement à partir du trente quatrième jour par contre celui des PTRFI augmente lentement tout en ayant des valeurs inférieures à celui des PNTNI.

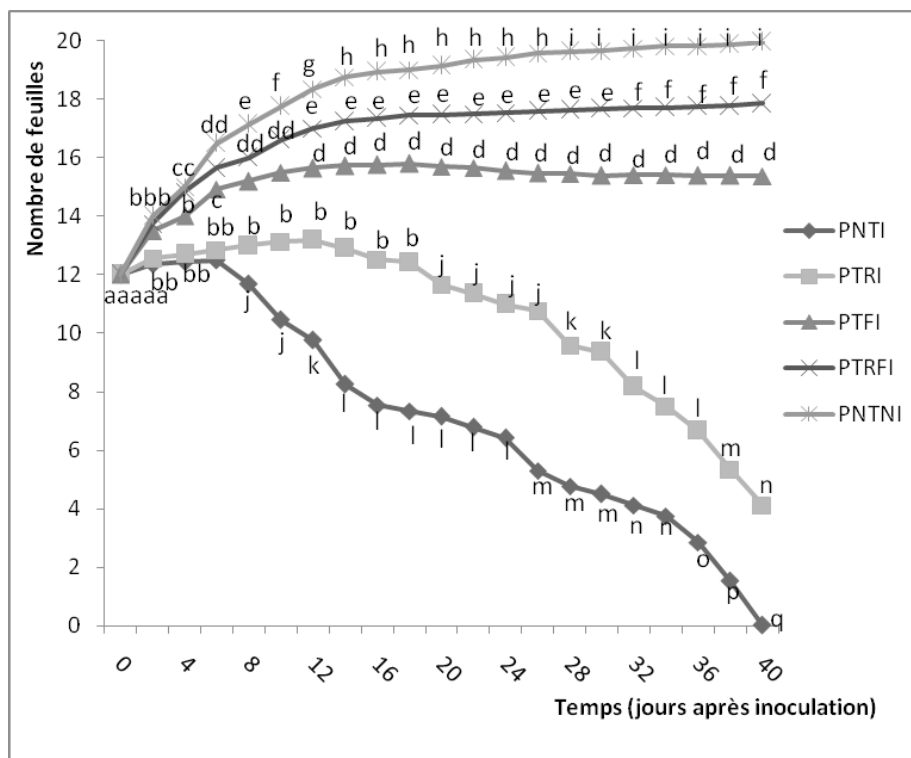


Figure 1 : Effet de l'application exogène de la FOS de FOV sur l'évolution du nombre de feuilles vivantes chez les plants de cotonnier inoculés par FOV

Effect of exogenously applied oligosaccharide extract of FOV (OSEF) On changes of the number of healthy attached leaves to cotton plant infected by FOV

PTRI, plant traité à la racine par la FOS et inoculé avec FOV ; PNTI, plant non traité et inoculé avec FOV ; PTFI, plant traité au niveau des feuilles par la FOS et inoculé avec FOV ; PTRFI, plant dont les feuilles et les racines ont été traitées par la FOS et inoculé avec FOV ; PNTNI, plant non traité et non inoculé avec FOV ; les moyennes suivies d'une même

lettres ne sont pas significativement différentes (Test de Duncan à 5 %) ; les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions.

PTRI, plant traité à la racine par la FOS et inoculé avec FOV ; *PNTI*, plant non traité par la FOS et inoculé avec FOV ; *PTFI*, plant traité au niveau des feuilles par la FOS et inoculé avec FOV ; *PTRFI*, plant dont les feuilles et les racines ont été traitées par la FOS et inoculé avec FOV ; *PNTNI*, plant non traité par la FOS et non inoculé avec FOV ; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de Duncan à 5 %) ; les données sont exprimées en moyenne de trois répétitions.

La figure 2 montre l'influence de l'application exogène de la FOS sur l'augmentation de la hauteur des plants de cotonnier. A partir du deuxième jour après inoculation, les résultats montrent que l'augmentation de la hauteur des *PNTNI* est supérieure à celle des plants traités et cela jusqu'au quarantième jour. Tandis que l'augmentation de la hauteur des plants traités est identique avec celui des *PNTI* jusqu'au dixième jour. A partir du dixième

jour, la hauteur des *PNTI* est restée constante jusqu'au quarantième jour. Les *PTRI* ont présenté une augmentation de leur hauteur jusqu'au vingtième jour puis la hauteur est restée constante jusqu'au quarantième jour. Les *PTFI* et *PTRFI* ont présenté une augmentation lente et progressive de leur hauteur jusqu'au trente deuxième jour pour les *PTFI* et trente sixième jour pour les *PTRFI* où il a été observé une hauteur constante.

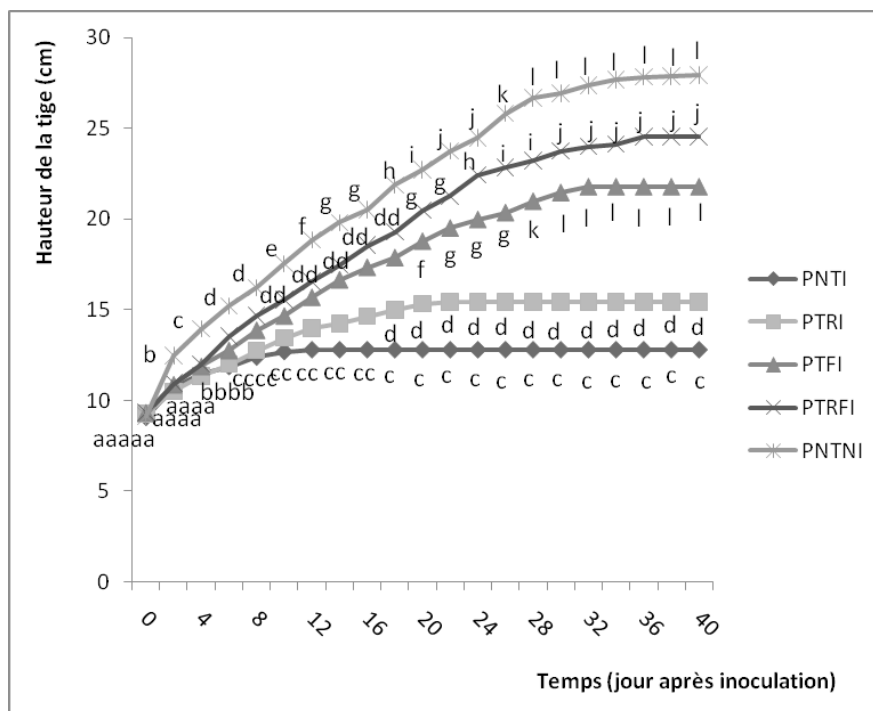


Figure 2 : Effet de l'application exogène de la FOS de FOV sur l'augmentation de la hauteur des tiges chez les plants de cotonnier inoculés par FOV

Effect of exogenously applied oligosaccharide extract of FOV (OSEF) On changes of the stem height to cotton plant infected by FOV

PTRI, plant traité à la racine par la FOS et inoculé avec FOV ; *PNTI*, plant non traité et inoculé avec FOV ; *PTFI*, plant traité au niveau des feuilles par la FOS et inoculé avec FOV ; *PTRFI*, plant dont les feuilles et les racines ont été traitées par la FOS et inoculé avec FOV ; *PNTNI*, plant non traité et non inoculé avec FOV ; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de Duncan à 5 %) ; les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions.

PTRI, treated plant on root by OSF and infected with FOV ; *PNTI*, plant no-treated by OSF and infected with FOV ; *PTFI*, plant treated on leaves by OSF and infected with FOV ; *PTRFI*, co-treated plant on root and leaves by OSF and infected with FOV ; *PNTNI*, plant no-treated by OSF and no-infected with FOV ; numbers followed by a same letter aren't significantly different (Duncan's test at 5 %) ; data are expressed as mean of three replicates.

Par ailleurs, l'application exogène de la fraction oligosaccharidique (FOS) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (FOV) a entraîné une augmentation du diamètre des tiges chez les PTFI et les PTRFI par rapport à celui des PNTI. En effet, le diamètre des tiges a été identique chez les PTFI et PTRFI et supérieur à celui des PTRI. Par contre, avec les PTRI, le diamètre des tiges augmente jusqu'au

huitième jour puis décroît progressivement pour atteindre zéros au quarantième jour. Par ailleurs, avec les PNTI, le diamètre augmente les premiers jours puis baisse pour s'annuler au quatorzième jour. Par la suite, les plants dépérissent avec des diamètres de tige plus faibles qu'au départ, montrant ainsi une diminution du diamètre des tiges par rapport aux autres traitements (figure 3).

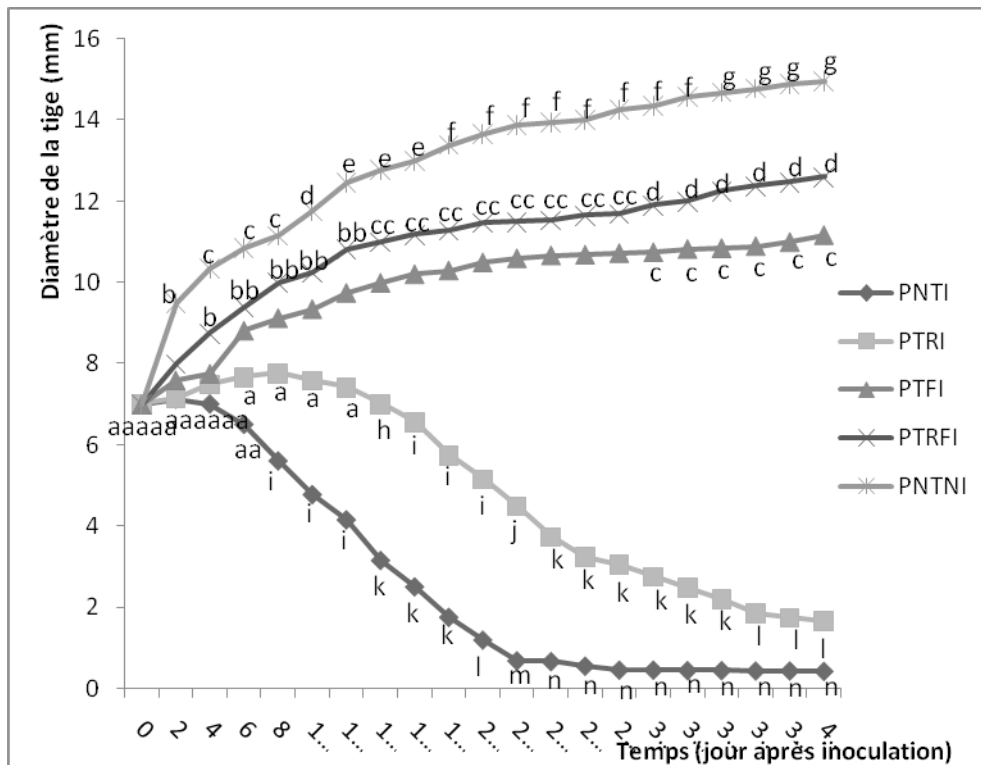


Figure 3 : Effet de l'application exogène de la FOS de FOV sur l'augmentation du diamètre des tiges chez les plants de cotonnier inoculés par FOV

Effect of exogenously applied oligosaccharide extract of FOV (OSEF) on changes of the stem diameter to cotton plant infected by FOV

PTRI, plant traité à la racine par la FOS et inoculé avec FOV ; PNTI, plant non traité et inoculé avec FOV ; PTFI, plant traité au niveau des feuilles par la FOS et inoculé avec FOV ; PTRFI, plant dont les feuilles et les racines ont été traitées par la FOS et inoculé avec FOV ; PNTNI, plant non traité et non inoculé avec FOV ; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de Duncan à 5 %) ; les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions.

PTRI, treated plant on root by OSF and infected with FOV; PNTI, plant no-treated by OSF and infected with FOV; PTFI, plant treated on leaves by OSF and infected with FOV; PTRFI, co-treated plant on root and leaves by OSF and infected with FOV; PNTNI, plant no-treated by OSF and no-infected with FOV; numbers followed by a same letter aren't significantly different (Duncan's test at 5 %); data are expressed as mean of three replicates.

L'évaluation de l'état physiologique des plants de cotonnier est réalisée en déterminant la teneur en chlorophylle totale des feuilles. L'effet de l'application exogène de la FOS sur la teneur en chlorophylle totale des feuilles de plants de cotonnier inoculés par FOV (tableau 2) montre une dégradation progressive de la chlorophylle totale

sous l'action de FOV chez les PNTI et chez les PTRI. Ainsi, la teneur en chlorophylle totale passée de 0,36 mg/g à 0,03 mg/g chez les PNTI et de 0,37 mg/g à 0,20 mg/g chez les PTRI du jour 0 au jour 40. Chez les PTFI et PTRFI, une augmentation de la chlorophylle totale jusqu'au trentième jour après l'incubation est observée. A partir du trentième

jour après l'incubation, la chlorophylle totale a diminué dans les feuilles des PTFI et PTRFI. Chez les plants traités, le taux le plus important en chlorophylle totale a été obtenu avec les PTRFI (0,78 mg/g), suivis des PTFI (0,73 mg/g) et enfin

des PTRI (0,20 mg/g). Par contre, les PNTNI ont eu le taux de chlorophylle totale le plus élevé avec une augmentation de près de quatre fois du jour 0 (0,36 mg/g) au jour 40 (1,49 mg/g).

Tableau 2. Effet de l'application exogène de FOS sur la teneur en chlorophylle totale, des feuilles de plants de cotonnier 20 et 40 jours après l'inoculation de FOV

Effect of exogenously applied OSEF on changes of chlorophyll Content to cotton plant infected by FOV

T.I (jour)	Type de chlorophylle	Teneur en chlorophylle (mg/g)				
		PNTI	PTRI	PTFI	PTRFI	PNTNI
0	Chl T	0,36 ± 0,02 ^h	0,37 ± 0,02 ^h	0,35 ± 0,02 ^{hij}	0,32 ± 0,02 ^{ij}	0,30 ± 0,03 ^h
20	Chl T	0,19 ± 0,02 ^l	0,26 ± 0,02 ^k	0,68 ± 0,02 ^f	0,71 ± 0,01 ^{ef}	0,80 ± 0,02 ^c
40	Chl T	0,03 ± 0,02 ⁿ	0,20 ± 0,01 ^l	0,73 ± 0,02 ^e	0,78 ± 0,02 ^{cd}	1,49 ± 0,02 ^a

T.I, temps d'incubation ; PTRI, plant traité à la racine par la FOS et inoculé avec FOV ; PNTI, plant non traité et inoculé avec FOV ; PTFI, plant traité au niveau des feuilles par la FOS et inoculé avec FOV ; PTRFI, plant dont les feuilles et les racines ont été traitées par la FOS et inoculé avec FOV ; PNTNI, plant non traité et non inoculé avec FOV ; Chl T, chlorophylle totale. L'expérience a été répétée trois fois. Sur une même ligne, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (Test de Duncan à 5 %).

T.I, incubation time ; PTRI, treated plant on root by OSF and infected with FOV ; PNTI, plant no-treated by OSF and infected with FOV ; PTFI, plant treated on leaves by OSF and infected with FOV ; PTRFI, co-treated plant on root and leaves by OSF and infected with FOV ; PNTNI, plant no-treated by OSF and no-infected with FOV ; Chl T, total chlorophyll ; numbers followed by a same letter aren't significantly different (Duncan's test at 5 %) ; data are expressed as mean of three replicates.

DISCUSSION

La tolérance à FOV provoquée par l'application de la FOS a été évaluée à travers quelques paramètres de croissance de la plante. Les résultats ont montré que le nombre de feuilles saines chez les PNTI décroît régulièrement pour s'annuler au jour 40. Il en a été de même pour le diamètre des tiges traduisant un dépérissement des plants. En effet, la chute des feuilles entraînant la baisse du nombre de feuilles vivantes a été responsable du dépérissement des plants qui s'est traduit par une diminution du diamètre des tiges. Par contre, le nombre de feuilles vivantes chez les PTFI et PTRFI a été sensiblement identique mais plus faible que celui des PNTNI. Les PTRI ont un nombre de feuilles vivantes supérieur à celui des PNTI mais inférieur à celui des PTFI et PTRFI. En fait, FOV provoque un brunissement suivi d'une obstruction des vaisseaux libéroligneux de la tige qui conduisent l'eau des racines aux feuilles. Ainsi, les plants deviennent incapables de répondre à l'appel d'eau foliaire comme l'a

mentionné Konan *et al.* (2014). Les fonctions vitales des plants, c'est-à-dire le métabolisme primaire (photosynthèse) et le métabolisme secondaire sont affectées voire totalement arrêtées, ce qui a donc entraîné un flétrissement généralisé suivi de la mort des plants par manque de nutriments (Delhove *et al.*, 1992). Par ailleurs, l'augmentation de la longueur des tiges des PTFI et PTRFI a été plus importante que celle des PTRI et des PNTI mais inférieure à celle des PNTNI. Les PNTI ont été de petite taille, ce qui suggère que l'attaque de FOV a réduit la croissance et le développement des plants de cotonnier comme indiqué par Thomma *et al.* (2000). La résistance acquise conférée aux plants traités par la FOS n'influence pas l'état physiologique des plants et donc leur capacité à réagir à l'attaque de l'agent pathogène. D'ailleurs, l'analyse des teneurs en chlorophylle totale des feuilles sous chaque traitement a permis de confirmer ces résultats. En effet les chlorophylles sont des pigments qui donnent la couleur verte aux

feuilles. Elles représentent le «sang des plantes» car leur structure moléculaire est voisine de celle de l'hémoglobine l'un des principaux constituants du sang humain (Stassiaux, 2010). Ce sont les chlorophylles qui confèrent aux plantes le pouvoir de la photosynthèse, c'est-à-dire la biosynthèse des glucides à partir de l'énergie lumineuse captée par les chlorophylles. Sous l'action de FOV, la teneur en chlorophylle totale a baissé chez les PNTI et chez les plants traités dans l'ensemble. Par contre, la teneur en chlorophylle totale des PNTNI a été la plus élevée. Avec les PTFI et les PTRFI, la teneur en chlorophylle totale a augmenté régulièrement jusqu'au jour 30 montrant un effet positif de la FOS sur la biosynthèse des chlorophylles sur 30 jours. Par ailleurs, la teneur en chlorophylle totale des PTFI a été similaire à celle des PTRFI jusqu'au vingtième jour. A partir du jour 30, une augmentation significative de la teneur en chlorophylle totale a été observée chez les PTRFI, ce qui montre un effet bénéfique du traitement simultané des racines et des feuilles par la FOS sur la biosynthèse des chlorophylles.

En effet, les travaux de Couderchet *et al.* (2003) ont montré un lien étroit entre les protéines PR, les phytoalexines induites et la protoporphyrène oxydase, enzyme impliquée dans la synthèse de la chlorophylle. Par contre, le traitement simultané des racines et des feuilles par la FOS stimule plus la production des composés phénoliques que les traitements soit de la racine soit des feuilles. Par ailleurs, la diminution de la teneur en chlorophylle totale chez les PNTI a révélé l'influence de la FOV sur la dégradation des chlorophylles. Pour Jacquot *et al.* (2011), la diminution de la teneur en chlorophylle totale est due à une perte progressive de l'ion magnésium. Lourtie (2008) a montré que la dégradation de la chlorophylle est provoquée par une inactivation de la magnésium chélatase et de la chlorophyllase impliquées dans la biosynthèse de la chlorophylle. En effet, les agents pathogènes occupent les sites actifs des enzymes provoquant ainsi une inhibition enzymatique. De plus, la fusariose causée par FOV étant une maladie vasculaire, le champignon est beaucoup plus présent au niveau de la tige où il obstrue ainsi les vaisseaux conducteurs de la plante. Ce qui empêche la sève brute d'aller aux feuilles pour la réalisation de la photosynthèse et la sève élaborée (les sucres, assimilats de la photosynthèse) de migrer vers les racines pour nourrir la plante (Assigbetsé, 1993). Ceci entraîne souvent le développement des zones chlorotiques et nécrotiques et une diminution de la production photosynthétique d'assimilats. Par la suite, il y a

un jaunissement des feuilles, un dépérissement suivi d'un flétrissement généralisé des plants. Les feuilles se dessèchent puis chutent et la mort des plants survient par manque de nutriments (Delhove *et al.*, 1992).

CONCLUSION

L'application de la FOS simultanément à la racine et sur les feuilles et uniquement sur les feuilles du cotonnier a donné au cotonnier une meilleure résistance à FOV. Ces applications ont permis la mise en place des défenses naturelles du cotonnier en induisant un gain de résistance. En outre, une bonne activité photosynthétique et donc un bon état physiologique des PTRF et les PTF, malgré l'inoculation par FOV, ont été observés.

Ces résultats démontrent que la FOS de FOV peut être utilisée dans la lutte contre la fusariose. L'utilisation de ce type d'éliciteur peut être une composante prometteuse de la lutte intégrée contre la fusariose vasculaire du cotonnier. En effet, la facilité d'obtention et de préparation du filtrat fongique est un atout majeur pour l'utilisation par les agriculteurs. Cependant, afin d'avoir une approche plus globale, il serait très judicieux, de réaliser des essais en champ.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abo K., Klein K.K., Edel-Hermann V., Gautheron N., Traoré D., Steinberg C. 2005. High genetic diversity among strains of *Fusariumoxysporum* sp. *vasinfectum* from cotton in Ivory Coast. *Phytopathology*, 95 (12) : 1391–1396.
- Ahuja I., Kissen R. et Bones A.M. 2012. Phytoalexins in defense against pathogens. *Trends Plant Science*, 17 (2): 73-90.
- Amari E.G.D.L. 2012. Stratégies d'évaluation et de gestion par stimulation des défenses naturelles des bananiers à l'infection de la maladie des raies noires causée par *Mycosphaerella fijiensis morelet* (Mycosphaerellaceae) en Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat. Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire. 237 p.
- Assigbetsé K.B. 1993. Pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusariumoxysporum* f. sp. *vasinfectum*: agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de doctorat. Université de Montpellier II, France. 205 p.
- Belhadj A. 2005. Stimulation des défenses naturelles de la vigne par le méthyl

- jasmonate: Impact sur la biosynthèse des polyphénols et sur la résistance aux champignons. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux 2. 188 p.
- Couderchet M., Le Floch G., Rey P. et Tirilly Y. 2003. Effet du flumioxazine sur l'attaque de feuilles de tomate par *Botrytis cinerea*. 7^{ème} conférence internationale sur les maladies des plantes, Tours, France.
- Coulibaly A. 2014. Situation actuelle et défis de la filière coton ivoirienne. Communication de la Côte d'Ivoire à la 73^{ème} plénière du Comité Consultatif International du Coton (CCIC), Thessalonique, Grèce. 5 p.
- De Kok L.J. et Graham M. 1989. Levels of pigments, soluble proteins, amino acids and sulfhydryl compounds in foliar tissue of *Arabidopsis thaliana* during dark-induced and natural senescence. *Plant Physiology and Biochemistry*, 27 : 203-209.
- Delhove G., Malamba N.L. et Drion A. 1992. Maladies et ravageurs du cotonnier. In : le cotonnier au Zaïre, AGCD, Bruxelles, Belgique, Publication Agricole, 29: 27-42.
- Fanizza G., Bissignano V., Pollastro S., Miazzi M. et Faretra F. 1995. Effects of polysaccharides from *Botryotinia fulkeliana* (*Botrytis cinerea*) on *in vitro* culture of table and wine grapes (*Vitis vinifera*). *Vitis*, 34: 41-44.
- Faurie B., Cluzet S. et Mérillon J.M. 2009. Implication of signaling pathways involving calcium, phosphorylation and active oxygen species in methyl jasmonate-induced defense responses in grapevine cell cultures. *Journal of Plant Physiology*, 166 (17) : 1863-1877.
- Harborne J.B. 1998. *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis*. Chapman and Hall London, United Kingdom, 302 p.
- Jacquot M., Fagot P. et Voilley A. 2011. *La couleur des aliments: de la théorie à la pratique*. Lavoisier, édition Technique et Document, 512 p.
- Konan Y.K.F., Kouassi K.M., Kouakou K.L., Koffi E., Kouassi K.N., Sékou D., Koné M. et Kouakou T.H. 2014. Effect of Methyl jasmonate on phytoalexins biosynthesis and induced disease resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vasinfectorum* in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *International Journal of Agronomy*, 2014 : 1-11.
- Korsangruang S., Soonthornchareonnon N., Chintapakorn Y., Saralamp P. et Prathanturug S. 2010. Effects of abiotic and biotic elicitors on growth and isoflavonoid accumulation in *Pueraria candollei* var *candollei* and *P. Candollei* var *mirifica* cell suspension cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 103 : 333-342.
- Kouadio Y.J., Koné M., Djè Y., D'Almeida M.A. et Zouzou M. 2004. L'étiollement est un facteur d'induction de l'embryogenèse somatique au cours de la callogenèse chez deux variétés récalcitrantes de cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) cultivées en Côte d'Ivoire. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*, 8(3) : 155-162.
- Li M.Y., Lan W.Z., Chen C. et Yu L.J. 2003. The effects of Oligosaccharides and spores from *Aspergillus niger* on the defense responses of *Taxus chinensis* leaves *in vitro*. *Journal of Phytopathology*, 151 : 540-545.
- Lourtie B. 2008. Les couleurs des feuilles en automne. http://www.scienceonstage.be/Experiences%20biologie/BIOCH_1_2_b.pdf. Consulté le 20 mai 2014.
- Ngoran A.R.B., Yapo S.E., Kouassi K.M., Koffi E., Kouassi K.N., Sekou D., Kone D. et Kouakou T.H. 2014. Stimulation of polyphenols production in cell suspensions of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) by oligosaccharide fraction of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectorum*, causal agent of fusarium wilt. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 7 : 1570-1576.
- Sayegh M. 2009. La résistance du cotonnier *Gossypium hirsutum* à la bactériose causée par *Xanthomonas campestris* pathovar *malvacearum*. Rôle du gène GhLOX1 dans la réaction hypersensible. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine-nancy, France. 155 p.
- Sément G. 1986. *Le Cotonnier en Afrique Tropicale. Le Technicien d'Agriculture Tropicale*. Maisonneuve et Larose (Ed.), Paris, France. 133 p.
- Stassiaux J. 2010. Prégnénone et chlorophylle.

- <http://www.naturopathie-holistique.fr/pregnenolone-et-chlorophylle-15-127>. Consulté le 17 avril 2014.
- Thakur M. et Sohal B.S. 2013. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: A Review. ISRN Biochemistry, 2013: (762412), 1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/762412>.
- Thomma B.P.H.J., Eggermont K., Broekaert W.F. et Cammue B.P.A. 2000. Disease development of several fungi on *Arabidopsis* can be reduced by treatment with methyl jasmonate. Plant Physiology and Biochemistry, 3: 421-427.
- Vaissayre M. 1994. Dix années d'expérimentation pour la protection du cotonnier en Côte D'Ivoire (1981-1990). Document CIRAD / CA, 3 (93) : 1-57.
- Verhagen B.W.M., Trotel-Aziz P., Couderchet M., Höfte M. et Aziz A. 2010. *Pseudomonas* spp.-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* is associated with induction and priming of defence responses in grapevine. Journal of Experimental Botany, 61 (1) : 249-260.
- Yamaner O., Erdag B. et Gokbulut C. 2013. Stimulation of the production of hypericins in *in vitro* seedlings of *Hypericum perforatum* by some biotic elicitors. Turkish Journal of Botany, 37 : 153-159.