



Expression de la fusariose latente chez les jeunes plantes de palmier à huile (*Elaeis guineensis* jacq) inoculées avec *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (F.o.e).

A. L.W. Assohoun¹, F. B. D. Gogbé^{2,5*}, S. Diabaté², J. N. Konan³, E. P. Konan³, M.K. Djè¹, H De Franqueville⁴, H. Tanoh⁵.

¹ Laboratoire de microbiologie et biotechnologie, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire : 02 BP 801 Abidjan 01.

² Laboratoire de Physio/phytopathologie Palmier à huile Centre National De Recherche Agronomique (CNRA), 01 BP 1740 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

³ Laboratoire de culture in vitro, CNRA - Station de La Mé 13 BP 989 Abidjan 13, Côte d'Ivoire

⁴ Palm Elit SAS B14, Parc Agropolis 2214 Boulevard de la Iironde, 34980 Monte Ferrier sur Lez (France)

⁵ Laboratoire de Biologie et Amélioration des productions végétales, UFR des sciences de la nature, Université Nangui Abrogoua, 02 BP 801 Abidjan 01.

*Correspondance auteur : Email: francoisegogbe@yahoo.fr

Original submitted in on 7th March 2016. Published online at www.m.elewa.org on 30th June 2016
<http://dx.doi.org/10.4314/jab.v102i1.6>

RESUME

Objectif : La fusariose est l'une des maladies du palmier à huile qui cause plus de dégât en Afrique. L'objectif de cette étude est de déceler sur une période de trois mois, la présence du champignon au niveau du pseudobulbe des plants apparemment sains après inoculation.

Méthodologie et résultats : Pour y parvenir, les racines des plantules de palmier à huile âgées de 2 mois et sensibles à la fusariose ont été blessées à l'aide d'un bois stérile. Ensuite, 20 ml d'inoculum ont été versé sur les racines blessées et elles ont été recouvertes de terreau. Après inoculation, chaque semaine pendant 3 mois, les pseudobulbes des plantules ne présentant pas de symptômes visuels (externes et internes) ont été ensemencés sur milieu MM en vue d'apprécier la présence de F.o.e. Les résultats obtenus ont montré que F.o.e pénètre au niveau des racines avant sa progression dans la plante. La présence de ce champignon au niveau du pseudobulbe a été détectée dès la troisième semaine post inoculation. La durée de trois mois qu'a nécessité cette étude s'est avérée suffisante pour prédire le devenir d'un test de sélection en préépinière. Ce résultat nous permettra de réduire à trois mois la durée d'un test de sélection qui était de cinq mois.

Mots clés : *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*, palmier à huile, inoculation, symptômes.

Expression and monitoring of the latent vascular wilt disease in young oil palm trees (*Elaeis guineensis* jacq) inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (F.o.e).

ABSTRACT

Objective: Fusarium wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (F.o.e) represents one of the most important constraints faced by the oil palm cultivation in Africa. The objective of this study is to identify on a period of three months, the fungus in the pseudobulbe of apparently healthy seedlings after inoculation.

Methodology and results: The method consists to inoculate the injured roots of seedlings oil palm that are two months old and susceptible to Fusarium. Pseudobulbe of seedling showing no visual symptoms (external and internal) were plated on MM medium in order to assess the presence of F.o.e . Three months that the study lasted are sufficient to predict the fate of a selection test prenursery. This result will allow us to reduce to three months the duration of a selection test which was five months.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*, inoculation, oil palm, symptoms.

INTRODUCTION

La culture du palmier à huile (*Elaeis guineensis*) et l'exploitation des palmeraies occupent une place importante dans la société et l'économie de plusieurs pays d'Asie et d'Afrique subsaharienne. La fourniture de matériel végétal adapté aux zones agro industrielles de production s'avère indéniable afin d'augmenter la productivité des plants. Aussi, les programmes de recherche ont-ils été orientés vers la résistance des plants aux maladies dont la fusariose, principale pathologie dévastatrice des palmeraies en Afrique (Diabaté *et al.*, 2010). Cette maladie provoquée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* (F.o.e) peut engendrer des pertes de l'ordre de 50 % des effectifs plantés, voire davantage, sur certaines parcelles (Franquville & Diabaté, 1995). Les méthodes de lutte sont préventives et se situent essentiellement au niveau du choix du matériel végétal après un test d'inoculation de l'agent pathogène au stade prépépinière (Renard *et al.*, 1972). Le test consiste à suivre le développement de la maladie sur des jeunes plants de palmier à huile inoculés par le

champignon pathogène en prépépinière. La lecture de ce test se fait par l'observation des symptômes externes et internes de la fusariose environ cinq mois après l'inoculation. Néanmoins, ce délai de cinq mois peut être réduit si l'on tient compte du mécanisme précoce mis en place par la plantule pour se défendre contre le pathogène. En effet, les premières heures de la confrontation parasitaire sont déterminantes dans la pathogénèse et au niveau biochimique, les mécanismes de défense de la plante interviennent au cours de la première semaine (Diabaté *et al.*, 2009). Toutefois, si les temps d'apparition des symptômes après inoculation sont connus (environ six semaines), peu d'informations sont en revanche disponibles sur la présence du F.o.e dans les tissus de la plante sans manifestation de symptômes internes et externes. Le présent travail consiste à mettre en évidence la présence passive du champignon pathogène au niveau du pseudobulbe des jeunes plants de palmier à huile après inoculation.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal : Les essais se sont déroulés sur 240 plantules de palmier à huile (âgées de deux mois) sensibles à la fusariose. Le croisement utilisé est le suivant: L6621D x L10571P, appartenant à la catégorie d'hybride C1001 d'origine D115D AF x L2T

AF. Les jeunes plantes de palmier à huile ont été réparties dans la prépépinière selon un dispositif expérimental de 12 planches de 20 plantules (**Figure 1**).



Figure 1 : Plantules de palmier à huile en prépépinière

Matériel fongique : Le matériel fongique est la souche monospore 179 du champignon pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* communément utilisée dans les tests de sélection en Côte d'Ivoire. Cette souche a été isolée des tissus d'un palmier à huile atteint de fusariose et est la plus agressive connue en Afrique.

Méthodes

Préparation d'inoculum : L'inoculum liquide de la souche de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* a été préparé après une phase de culture sur milieux gélosés (Gbongué et al., 2012).

Technique d'inoculation : Les racines des jeunes plantes âgées de deux mois ont été dégagées en repoussant légèrement la terre les couvrant. Elles ont été ensuite grattées avec un morceau de bois stérile pour réaliser des lésions sur ces dernières. Pour chaque plantule, les racines lésées ont par la suite été rincées avec de l'eau de robinet puis inoculées avec une dose de 20 ml de l'inoculum du *F.o.e* comprenant en moyenne 8×10^6 spores avant d'être soigneusement recouvertes de terre.

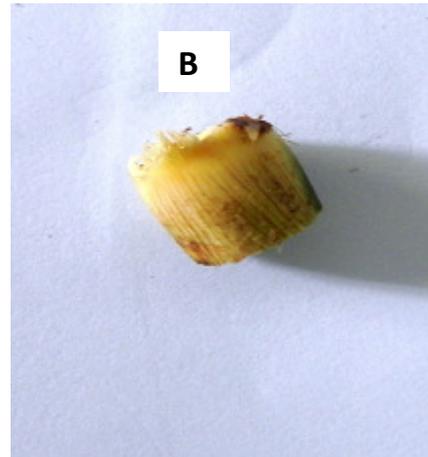
Prélèvement, mise en culture des échantillons et suivi de l'expression du pathogène : Les prélèvements des plants ont débuté dès la première semaine après l'inoculation par la première des 12

planches de 20 plants. La deuxième planche a été prélevée la deuxième semaine et ainsi de suite jusqu'à la douzième semaine d'incubation. Chaque plant a été traité individuellement et seulement les plants ne présentant pas de symptômes visuels (externes et internes) ont été utilisés. Les pseudobulbes (représentant la gaine racinaire) (Figure 2) ont été découpés puis stérilisés par un trempage de 30 secondes dans l' HgCl_2 à 1%, suivi de cinq rinçages à l'eau distillée stérile. Les fragments de pseudobulbes ont été ensuite mis en culture à 25°C sur milieu MM (Milieu moisissure) coulé en boîtes de Pétri. Le développement des colonies de *F.o.e.* a été observé quotidiennement pendant dix jours pour chaque série de prélèvements. Des observations au microscope optique ont permis de confirmer ou non la présence de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*.

Paramètres mesurés : Le nombre de plants présentant la fusariose latente et le nombre de plants sains ont été déterminés au cours des 12 semaines d'études. Aussi, le nombre de plants présentant les symptômes de la fusariose a été également considéré. Après le comptage des plants, les taux d'expression des différents paramètres mesurés ont été calculés.



Figure 2 : Racines (A) et pseudobulbe



(B) d'une plantule de palmier à huile

Traitement des résultats : Les données obtenues ont été transformées en données logarithmiques afin de garantir la normalité et l'homogénéité de la variance des résultats. Les valeurs des résultats ainsi modifiés ont été ensuite traitées avec le logiciel « R ». Une analyse de régression au niveau de signification de 0,05 a été effectuée afin d'évaluer l'effet du temps sur

l'expression de chaque paramètre étudié chez les plantules de palmier à huile. Les nuages de point des différents traitements ont été représentés et des courbes de tendances ont été tracées pour les traitements ayant un coefficient de détermination (R^2) supérieur à 0,80.

RESULTATS

Expression de la fusariose latente : Après ensemencement des fragments de pseudobulbes sur milieux de culture, deux cas de figures se sont présentés. Dans le premier cas la présence de *F.o.e* n'est pas observée, ce qui correspond à l'absence du champignon au niveau du pseudobulbe. Le plant est donc sain (Figure 3). Dans le second cas, la présence de mycélium d'aspect duveteux atteste de la présence de *F.o.e* (Figure 4). Cette présence est confirmée par la lecture microscopique. La présence du champignon est ainsi révélée au niveau du pseudobulbe de la plantule. Cette présence est décelée dès la troisième semaine après l'inoculation. Le taux de plants testés

positif reste quelque peu constant jusqu'à la sixième semaine avant de croître pour atteindre un maximum à la septième semaine (Figure 5). Une baisse considérable de ce taux est observée après la neuvième semaine jusqu'à s'annuler totalement à la 12^{ème} semaine.

Expression des symptômes de la fusariose chez les plants de palmier à huile : Le cumul des symptômes externes et internes présente une évolution progressive de ceux-ci qui apparaissent dès la cinquième semaine pour atteindre un maximum à la 11^{ème} semaine. Le taux reste inchangé jusqu'à la 12^{ème} semaine (Figure 6).



Figure 3 : Absence de mycélium de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* après culture de pseudobulbe prélevé à 5 semaines



Figure 4 : Présence de mycélium de *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* après culture de pseudobulbe prélevé à 6 semaines

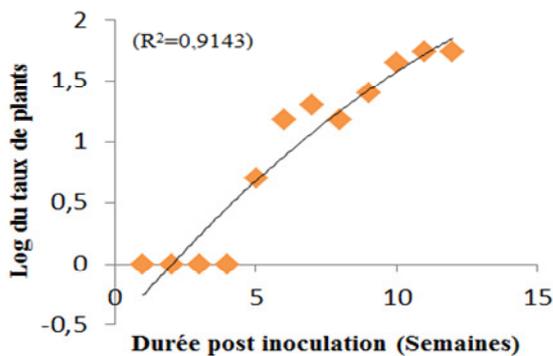


Figure 6 : Cinétique de l'expression des symptômes de la fusariose chez les plantules de palmier à huile

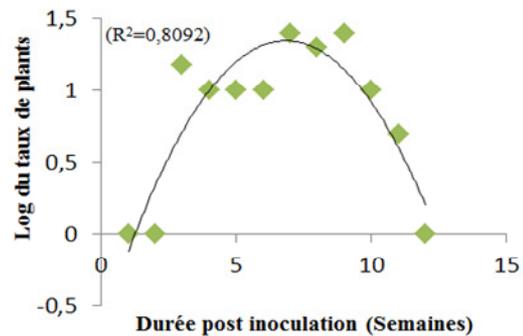


Figure 5 : Cinétique de l'expression de la fusariose latente chez les plants de palmier à huile

DISCUSSION

Les résultats obtenus révèlent que la pénétration du champignon a bien eu lieu au niveau des racines blessées avant sa progression dans la plante. Ces observations sont en adéquation avec les travaux de Ramirez-Suero (2009) sur l'interaction de *Medicago truncatula* avec *Fusarium oxysporum*. L'auteur montre en effet que lorsque le champignon est en présence de la plante hôte, le mycélium envahit les racines avant de pénétrer dans l'épiderme et le développement des symptômes de la maladie est ensuite observé chez la

plante. Renard (1970) affirme également que les *Fusarium* sont des champignons ne pouvant pénétrer les plantes que par l'intermédiaire d'une racine blessée. La durée de trois semaines qui s'écoule avant d'observer la présence du *F.o.e* correspond au temps minimum nécessaire au champignon pour passer des racines au pseudobulbe du plant. Ces résultats sont en harmonie avec ceux de Renard (1970) qui, au cours de ses travaux sur le processus d'infection des plants de palmier à huile, avait utilisé la méthode d'inoculation

par trempage des racines. Il a indiqué que la présence du parasite dans le bulbe pourrait également être décelée trois semaines après l'inoculation. Cependant la présence du champignon au niveau du pseudobulbe de la plante n'induisait pas automatiquement l'apparition de symptômes externes qui eux, apparaissent deux semaines plus tard. Cette étude montre donc que le F.o.e peut rester pendant des semaines au sein de la plante sans s'exprimer par des symptômes (Gbongue et al., 2015). Une augmentation progressive suivie d'une diminution des plants présentant le pathogène au niveau du pseudobulbe a été observée au cours des semaines, marquant ainsi, l'effet significatif du temps sur l'expression de la fusariose latente chez les plants sensibles de palmier à huile. A partir de la huitième semaines, la diminution jusqu'à l'annulation du nombre de plants présentant la fusariose latente a été observé avec une augmentation simultanée jusqu'à un maximum des plants présentant les symptômes de la fusariose. Cela s'explique par le fait qu'avec le temps, le F.o.e finit par coloniser tous les

tissus des racines et du pseudobulbe. Chez les plants restés sains, l'absence du champignon pathogène au niveau du pseudobulbe indique que chez ces plants, une réaction de défense a sans doute été développée, empêchant ainsi l'expression de celui-ci au niveau des pseudobulbes. En effet, les résultats de Diabaté et al., (2009) stipulent que chez *Elaeis guineensis*, après l'inoculation de l'agent pathogène, la tolérance à la fusariose s'exprime chez les plants par une accumulation au niveau des racines et du pseudobulbe, de substances phénoliques toxiques pour le pathogène. Les plantules restées saines à la fin de l'étude seraient celles qui ont pu synthétiser ces composés toxiques. Les travaux de Diabaté (2008) montrent que ces composés appartiennent à cinq familles de composés phénoliques de défense que sont : les dérivés cinnamiques, les flavonones, les flavones, les flavonols et les esters chlorogénique. Ces composés agiraient en synergie pour conférer la tolérance aux plants de palmier à huile.

CONCLUSION

Le présent travail visait à déterminer la présence du *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* au sein du pseudobulbe des plantules de palmier à huile sans manifestation de symptômes caractéristiques de la maladie après inoculation. Les résultats obtenus confirment que l'infection des plantules de palmier à huile a bien lieu au niveau racinaire. La présence du

champignon au niveau du pseudobulbe a été détectée dès la troisième semaine après inoculation. Aussi, les symptômes externes de la maladie ont apparu à partir de la cinquième semaines après inoculation. Le délai d'observation de la fusariose peut donc être raccourci en prenant en compte l'expression de la fusariose latente.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Diabaté, S. 2008. Contribution à l'étude de la diversité phénolique dans la réaction de défense du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq) contre la fusariose vasculaire. *Thèse de Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, UFR Biosciences*. 155p.
- Diabaté, S., Kouakou, E.K., Allou, D., Ouolo, A.C., De Franqueville, H. 2009. Performance de deux techniques d'extraction des phénols racinaires pour l'évaluation du marquage de la tolérance à la fusariose des clones de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Sciences et Nature*, 6 (2): 117-123.
- Diabaté, S., Traoré, A., Koné, B. 2010. Evaluation of the performance of tolerant crosses of oil palm selected in prenursery and replanted on wilt disease areas. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1 (6): 1273-1277.
- Franqueville, H., Diabaté, S. 1995. La fusariose du palmier à huile en Afrique de l'Ouest. *Plantations, Recherche, Développement*, 2 (4) : 5-13.
- Gbongué, L-R., Diabaté, S., Bomisso E.L., Dick E. De Franqueville, H., Koné D. 2012. Étude de la confrontation des souches pathogènes et non pathogènes de *Fusarium oxysporum* dans l'acquisition de la résistance contre la fusariose du palmier à huile. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 15 (2): 2171-2183.
- Gbongué, L-R., Diabaté, S., Dick, A.E., Yté, W. 2015. Study of the Influence of Previous Vegetation and the Induction of Immunization of Oil Palm (*Elaeis guineensis*) against *Fusarium* Wilt. *International Journal of Plant & Soil Science*, 4 (2): 192-202.
- Ramirez-Suero, M. 2009. Étude de l'interaction de *Medicago truncatula* avec *Fusarium*

- oxysporum* et du rôle de l'acide salicylique dans les interactions de la plante avec différents agents pathogènes et symbiotiques. *Thèse de doctorat, Toulouse*. 281p.
- Renard, J.L. 1970. La fusariose du palmier à huile : rôle des blessures des racines dans le processus d'infection. *Oléagineux*, 25 (11) : 581-586.
- Renard, J.L., Gascon, J.P., Bachy, A. 1972. Recherches sur la fusariose du palmier à huile. *Oléagineux*, 27 (12) : 581-591.