

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOuat

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Microbiologie Appliquée*

### THEME

---

**Contribution à l'étude *in silico* de la diversité  
génétique de *Fusarium oxysporum***

---

**Présenté par :**

- ZEGRIR Anfal
- KOUDICHA Halla

**Devant le jury composé de :**

Mme TAKHI Djalila	MAA (Université Amar Télidji, Laghouat)	Présidente
Mme. BENAROUS Khadidja	MCA (Université Amar Télidji, Laghouat)	Examinatrice
Mr. OUINTEN Mohamed	Professeur (Université Amar Télidji, Laghouat)	Rapporteur
Mme ELHOUITI Fatiha	MCB (Université Amar Télidji, Laghouat)	Co-Rapporteur

*Soutenu publiquement le : 30/ 06/ 2019*

## Résumé

*Fusarium oxysporum* est l'un des champignons du sol ayant une grande biodiversité et une pathogénicité vis-à-vis des végétaux à intérêt économique. Cette espèce fongique à une large gamme de plantes hôtes ce qui explique le nombre élevé des formes spéciales qu'elle possède.

Dans le cadre d'étudier la biodiversité de cette moisissure, 67 séquences des espèces du genre *Fusarium*, 39 séquences des formes spéciales, 88 séquences des souches et 65 séquences d'isolats d'ARNr mitochondrial ont été prises à partir de la base de données NCBI, à la suite ces séquences ont été alignées avec les programmes ClusterW (ClustelW) et MUSCLE du site Phylogeny.fr via le « advanced mode ». La reconstruction phylogénétique a été basée sur la méthode de maximum de vraisemblance et les arbres ont été dessinés par le Fig.Tree v 1.4.4

## Abstract

*Fusarium oxysporum* is one of the soil fungi that own a huge biodiversity and a pathogenicity to plants that have an economical important. This mushroom has a wide range of hosts plants which explain the highest number of the formae speciales.

In the context of studying the biodiversity of this mold, 67 sequences of *Fusarium* genus, 39 sequences of the formae speciales, 88 strains' sequences and 65 isolates' sequences of mitochondrial RNAr were taken from the NCBI database, these sequences were aligned with ClusterW and MUSCLE programs from the Phylogeny.fr web site via "advanced mode". The phylogenetic reconstruction was based on the maximum likelihood method, and trees were drawn by Fig.Tree v 1.4.4.

## ملخص

يعد *Fusarium oxysporum* أحد الفطريات الترابية التي تتمتع بتنوع بيولوجي كبير وقدرة ممرضة لعدة فصائل نباتية ذات أهمية اقتصادية لهذه الفطريات مجموعة عديدة من النباتات المضيقة مما يفسر وجود عدد مرتفع من *formae speciales*

بغرض دراسة هذا التنوع البيولوجي استعملت قطع من الـ ARNr للميتوكوندريا لكل من النوع *Fusarium* و *formae speciales* الخاصة بـ *Fusarium oxysporum* و السلالات و كذا العينات المعزولة، تم أخذ هذه القطع من قاعدة البيانات NCBI. وتنسيقها بواسطة برنامجي ClusterW و MUSCLE وذلك باستخدام خاصية Advanced mode من موقع Phylogeny.fr أما la reconstruction phylogénétique فقد نفذت بواسطة تقنية maximum de vraisemblance ، فيما رسمت الأشجار الوراثية بواسطة Fig. Tree v 1.4.4

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

*À ma chère mère et mon cher père qui m'ont soutenue durant toutes mes années d'études.*

*Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*À mes chères sœurs **Keltoum, Khadra, Habiba** et leurs maris qui ont passé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce mémoire, qui m'ont encouragé tout au long de mon parcours*

*À ma grand-mère qui nous a quitté récemment*

*À mes chères tantes, à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité*

*À toute ma famille*

*Tous mes amis qui m'ont toujours encouragée, et à qui je souhaite plus de succès*

*À tous ceux que j'aime*

***Merci***

## *Dédicaces*

*À La Mémoire de mon père, **Koudicha Boualem**. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement, le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

*Rien au monde ne vaut l'effort fourni jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*Ce travail est le fruit des sacrifices consentis pour mon éducation et pour mon instruction.*

*À **Ma mère**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*Reçois à travers ce travail, aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*À Mon fiancé **Riyad**.*

*À mes très chères frères **Hichem** et **Souheib**.*

*À toute la famille **Koudicha** et **Tadj**.*

*À tous mes amis et tous les étudiants de ma promotion.*

## *Remerciements*

*En tout premier lieu, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'ambition pour dépasser toutes les difficultés.*

*Nous tenons, avant tout, à exprimer notre reconnaissance à **Pr. OUINTEN Mohamed** et **Dr. EL HOUITI Fatiha** pour avoir accepté de nous encadrer dans cette étude. Nous les remercions pour leurs implications, leurs soutiens et leurs encouragements tout au long de ce travail.*

*Nous aimerons aussi gratifier les efforts de **Mr. TAHRI Djilali**, qui a eu l'amabilité de répondre à nos questions et de fournir les explications et les informations nécessaires.*

*Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

*Qu'il nous soit enfin permis de remercier nos familles pour leur amour et leur soutien constant.*

## Table des matières

Liste des abréviations.....	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des figures .....	III
Introduction .....	2
I. Etude bibliographique.....	5
I.1. Généralités sur les mycètes .....	5
I.2. Le genre <i>Fusarium</i> .....	6
I.2.1. Généralité sur le genre <i>Fusarium</i> .....	6
I.2.2. La morphologie du genre <i>Fusarium</i> .....	7
I.2.3. Identification .....	10
I.2.4. Taxonomie du genre <i>Fusarium</i> .....	11
I.3. Caractéristiques pathologiques du genre <i>Fusarium</i> .....	14
I.3.1. Potentiel toxigène.....	14
I.3.2. Pouvoir pathogène .....	15
I.4. L'espèce <i>Fusarium oxysporum</i> .....	16
I.4.1. Généralités sur l'espèce <i>Fusarium oxysporum</i> .....	16
I.4.2. Caractéristiques morphologiques.....	16
I.4.3. Morphologie et Identification .....	17
I.4.4. Symptomatologie.....	18
I.4.5. Le cycle de vie de <i>F.oxysporum</i> .....	18
I.4.6. Structure génétique .....	20
I.4.7. Compatibilité végétative.....	20
I.4.8. Les formes spéciales de <i>F. oxysporum</i> .....	21
I.4.9. Classification .....	23
I.5. La bio-informatique .....	23
I.5.1. Les banques de données utiles dans le domaine de la génétique "Genome Browsers" .....	24

<b>I.5.2. Alignement multiple .....</b>	<b>33</b>
<b>I.5.1. Reconstruction phylogénétique .....</b>	<b>34</b>
<b><i>II. Matériel et méthodes.....</i></b>	<b>38</b>
<b>II.1. Alignements des séquences.....</b>	<b>38</b>
<b>II.1.1. ClusterW .....</b>	<b>38</b>
<b>II.1.2. MUSCLE.....</b>	<b>39</b>
<b>II.2. Reconstruction phylogénétique.....</b>	<b>41</b>
<b><i>III. Résultats et discussion .....</i></b>	<b>44</b>
<b>III.1. Genre Fusarium .....</b>	<b>44</b>
<b>III.2. L'espèce Fusarium oxysporum .....</b>	<b>46</b>
<b>III.2.1. Formes spéciales (<i>formae speciales</i>) .....</b>	<b>46</b>
<b>III.2.2. Souches et isolats.....</b>	<b>49</b>
<b><i>Conclusion et perspective .....</i></b>	<b>55</b>
<b><i>References bibliographiques.....</i></b>	<b>57</b>

## *Liste des abréviations*

<b>ADNr :</b>	Acide Désoxyribonucléique ribosomique
<b>ART :</b>	Attenuated Total Reflectance
<b>Bp :</b>	Bootstrapping
<b>CAPS :</b>	Cleaved amplified polymorphic sequence
<b>ETS :</b>	Externally transcribed spacer
<b>FTIR :</b>	Spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier
<b>GCV :</b>	Groupe de Compatibilité Végétative
<b>ITS :</b>	Internally transcribed spacer
<b>NCBI :</b>	National Center for Biotechnology Information
<b>NIH :</b>	National instituts of health
<b>NLM :</b>	National Library of Medicine
<b>Pb :</b>	Paire de base
<b>PCB :</b>	Polychlorobiphényles
<b>PCR :</b>	Polymerase chain reaction
<b>PDA :</b>	Potato Dextrose Agar
<b>RAPD :</b>	Random Amlified Polymorphic DNA
<b>RFLP :</b>	Restriction fragment length polymorphism
<b>RNP :</b>	RiboNucléoProteiques

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : caractères distinctifs des principales espèces et variétés de <i>Fusarium</i> rencontrées sur semences (extrait de Messiaen et Cassini, 1968) .....	9
<b>Tableau 02</b> : Sections et espèces de <i>Fusarium</i> selon les principaux systèmes taxonomiques (Jeunot, 2005). .....	13
<b>Tableau 03</b> : les espèces de <i>Fusarium</i> productrices de mycotoxines (pitt, 2000).....	15
<b>Tableau 04</b> : Les formes spéciales les plus importantes de <i>Fusarium oxysporum</i> citées par Armstrong (1981).....	22
<b>Tableau 05</b> : les séquences de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique mitochondrial des espèces du genre <i>Fusarium</i> .....	26
<b>Tableau 06</b> : Les séquences de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique mitochondrial des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	27
<b>Tableau 07</b> : les séquences de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique mitochondrial des souches de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	29
<b>Tableau 08</b> : les séquences de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique mitochondrial des formes spéciales de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	32

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Caractères morphologique du genre <i>Fusarium</i> (Tabuc, 2007) .....	8
<b>Figure 02</b> : Représentation d'une unité d'ADN ribosomique (ETS : externally transcribed spacer ; ITS : internally transcribed spacer ; IGS : intergenic spacer) .....	11
<b>Figure 03</b> : <i>Fusarium oxysporum</i> (culture de 7 jours sur milieu PDA à 25°C et aspect microscopique) (Tabuc, 2007) .....	18
<b>Figure 04</b> : Cycle infectieux de <i>Fusarium oxysporum</i> , d'après Agrios (2005) .....	19
<b>Figure 05</b> : les étapes de ClusterW .....	39
<b>Figure 06</b> : Déroulement de l'alignement MUSCLE (CORRE, 2013) .....	40
<b>Figure 07</b> : Reconstruction phylogénétique par le maximum de vraisemblance des séquences de la sous unité de l'ARNr mitochondrial d'espèces de <i>Fusarium</i> . La longueur des branches est proportionnelle au nombre de substitutions de nucléotides estimées. Les valeurs de.....	45
<b>Figure 08</b> : Reconstruction phylogénétique par le maximum de vraisemblance des séquences de la sous unité de l'ARNr mitochondrial de formes spéciales de <i>Fusarium oxysporum</i> . Les valeurs de Bootstrap sont indiquées sur les nœuds (sur 100 réplifications). .....	47
<b>Figure 09</b> : Reconstruction phylogénétique par le maximum de vraisemblance des séquences d'ARNr des souches de <i>Fusarium oxysporum</i> . La longueur des branches est montrée à côté des branches. Les valeurs de Bootstrap sont indiquées sur les nœuds (sur 100 réplifications) .....	50
<b>Figure 10</b> : Reconstruction phylogénétique par le maximum de vraisemblance des séquences d'ARNr mitochondrial des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> . La longueur des branches est montrée à côté des branches. Les valeurs de Bootstrap sont indiquées sur les nœuds (sur 100 réplifications) ..	52

# *Introduction*

## Introduction

Le concept de diversité biologique ou biodiversité peut être étudié à plusieurs niveaux d'organisation : population, espèces, communauté ou écosystème ; plusieurs types de diversités peuvent être établies : génétique, spécifique et fonctionnelle (Lepart, 1997).

En mycologie, la biodiversité a permis de revoir la taxonomie du règne fongique grâce à l'application des techniques d'analyse en biologie moléculaire qui ont donné une meilleure compréhension des relations taxinomiques entre les divers organismes de ce règne (white *et al.*, 1990 ; Hibbet *et al.*, 2007).

Parmi les champignons telluriques les plus préjudiciables, ceux qui appartiennent au genre *Fusarium*. En effet, c'est un méga genre comprenant un nombre important d'espèces phytopathogènes causant des fusarioses. Ces dernières sont à l'origine de pertes de récoltes et la détérioration de la qualité et des rendements agricoles qui touchent l'économie à l'échelle mondiale (Aoki *et al.*, 2014).

Cet aspect, le pouvoir pathogène important, du *Fusarium* est dû, à la fois, à la forte adaptation et à la résistance du champignon aux différents facteurs environnementaux, biotiques et abiotiques, grâce à sa production d'une multitude de conidies, à la sécrétion d'enzymes de dégradation des différentes couches de la paroi cellulaire des végétaux et, essentiellement, à la forte diversité génétique. Les études : phylogénétiques ont permis de mieux comprendre cette biodiversité au sein du genre, de l'espèce et même de la forme spéciale (Chidi *et al.*, 2014 ; Silva *et al.*, 2014 ; O'Donnell *et al.*, 2015).

Parmi les champignons du genre *Fusarium*, on trouve le champignon très ubiquiste *Fusarium oxysporum* qui présente une très grande diversité génétique et écologique et qui a la capacité de provoquer des maladies sur de nombreuses espèces végétales cultivées d'intérêt économique.

Cette espèce fongique comprend deux types de souches : des souches phytopathogènes, responsables de fusarioses chez de nombreuses espèces végétales d'intérêt économique, et des souches non-pathogènes ne présentant pas d'effets néfastes sur les espèces végétales. Les formes pathogènes montrent un très haut niveau de spécificité d'hôte et sont regroupées en formes spéciales (f. sp.), selon l'espèce végétale infectée (Armstrong et Armstrong, 1981).

Le déterminisme génétique du pouvoir pathogène et la spécificité d'hôte de *F. oxysporum* ne sont pas connus. De plus, aucun caractère morphologique ou cultural ne permet de différencier les souches pathogènes des souches non-pathogènes ou de distinguer les différentes formes spéciales. C'est pourquoi de nombreuses méthodes, essentiellement moléculaires, ont été développées pour caractériser les souches de *F. oxysporum* et rechercher des marqueurs du caractère pathogène ainsi que de la spécificité d'hôte.

L'objectif de ce travail se présente essentiellement dans la mise en évidence à quel point la biodiversité de *Fusarium oxysporum* est profonde, distinguer entre les formes spéciales et les formes pathogènes de formes non-pathogènes.

Ce mémoire est divisé en 3 parties. La première est composée d'une introduction et d'une synthèse bibliographique. La deuxième présente le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude et, enfin, une partie de résultats et discussion suivie d'une conclusion.

*Etude*  
*Bibliographique*

## ***I. Etude bibliographique***

### **I.1. Généralités sur les mycètes**

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre. Ils remplissent un rôle clé dans un nombre important d'écosystèmes (Muller et Schmit, 2007). Ce sont des organismes eucaryotes à reproduction sexuée et/ou asexuée. Leurs spores peuvent avoir un rôle dans leur dispersion, et peuvent, également, jouer un rôle de survie de l'organisme, lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables (Madelin, 1994). La nutrition des champignons se fait par absorption, en libérant, dans un premier temps, des enzymes hydrolytiques dans le milieu extérieur. Ces organismes sont dépourvus de chlorophylle ; ils sont tous hétérotrophe. La paroi cellulaire des champignons est constituée de chitine.

Sur le plan structural, on trouve une grande variété de champignons, classés en deux grandes catégories : la forme levuroïde, unicellulaire, et la forme mycélienne, pluricellulaire ou filamenteuse, constituée d'hyphes mycéliens (Redecker, 2002). Certaines espèces fongiques présentent les deux formes alors que d'autres sont soit unicellulaires ou bien filamenteuses (Jennings et Lysek, 1996).

D'un point de vue métabolique, les champignons sont des chimioorganotrophes car ils utilisent le carbone organique comme source d'énergie (Carlile et Watkinson, 1994 ; Redcker, 2002). Ce sont des aérobies, en grande majorité, mais certaines levures peuvent être aéro-anaérobies et participent à des processus fermentaires (Carlile et Watkinson, 1994).

Les champignons peuvent dégrader la matière organique (mode saprophyte), peuvent être phytopathogènes, agents de mycoses, chez les animaux, ou bien des symbiotes.

Au sein de l'industrie agroalimentaire, certaines moisissures sont utilisées pour la production de fromages comme le roquefort et le camembert. Elles servent, aussi, à la synthèse des acides organiques tels que l'acide citrique ou l'acide gluconique ; ces deux acides étant utilisés comme additifs alimentaires. Les champignons interviennent, aussi, dans des processus de la fermentation alcoolique et la production d'amidon pour la fabrication d'alcool.

## I.2. Le genre *Fusarium*

### I.2.1. Généralité sur le genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* regroupe des champignons imparfaits (anamorphes) de la classe des *Deutéromycètes*. Les formes téléomorphes (parfaites) de quelques espèces du genre *Fusarium* sont connues et appartiennent à la classe des *Ascomycètes* (ordre *Hypocreales*, famille des *Nectriaceae*, genres *Gibberella*, *Calonectria* et *Nectria*). Le stade parfait demeure inconnu pour plusieurs espèces de *Fusarium* (Nelson *et al.*, 1993).

Décrit en 1809, la première fois, par Linke, le genre *Fusarium* tire son nom du latin 'fusus', car il possède des spores en forme de fuseau. Ce dernier traverse son troisième siècle comme l'un des plus importants genres pouvant causer des maladies chez les plantes, les êtres humains et les animaux (Boonpasart *et al.*, 2002 ; Goldschmied *et al.*, 1993 ; kremery *et al.*, 1997 ; Vismer *et al.*, 2002).

Ces moisissures sont cosmopolites. On peut les isoler de la plupart des sols, d'insectes, de l'eau et de l'air. On les rencontre, aussi, sous différents climats (ubiquiste) (Burgess., 1981).

Économiquement, le genre *Fusarium* est important car il regroupe les espèces phytopathogènes susceptibles de causer des 'Fusarioses' chez les plantes (Jeunot., 2005).

De plus, beaucoup d'espèces sont sénescents saprophytes et peuvent se développer en pathogènes sur des tissus végétaux. Ces espèces peuvent attaquer une large gamme de plantes telles que les céréales, les légumes, les plantes ornementales et les arbres fruitiers.

En outre, les *Fusarias* produisent beaucoup de métabolites secondaires impliqués dans une variété de domaines de la mycologie et de l'industrie agro-alimentaire. Les produits majeurs constituant ces métabolites sont les mycotoxines. Elles sont impliquées dans les intoxications d'animaux d'élevage, les altérations alimentaires, les cancers et d'autres pathologies humaines (Abramson *et al.*, 1981).

Depuis les années 1980, les espèces identifiées ont augmenté en nombre pour atteindre 80 espèces et avec les techniques de biologie moléculaire ce nombre est sensé augmenter au cours des années à venir (Leslie et Sumerelle, 2006).

## I.2.2. La morphologie du genre *Fusarium*

Le principal caractère morphologique des fusariums est la production de macroconidies pluricellulaire, en forme de croissant (forme de fuseau). Les champignons de ce genre possèdent une grande diversité culturelle ; ce qui explique la difficulté rencontrée au cours de leurs identification et de leur classification.

Les principaux caractères utilisables sont :

### I.2.2.1. Caractères culturels généraux

Sur les milieux usuels (ex : PDA 'potato dextrose agar'), les *Fusarium spp* poussent et se développent à une température optimale de croissance comprise entre 22 et 37 °C

Lors d'une culture, le thalle donne un mycélium aérien et forme des colonies duveteuse (cotonneuses) de couleur variable : blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas, selon l'espèce cultivée, avec une diffusion de pigments dans la gélose (Chermette et Bussieras, 1993).

### I.2.2.2. Caractères morphologiques

Le principal caractère morphologique des fusariums est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées, comme mentionné ci-dessus. Ce caractère est complété par la présence ou l'absence des microconidies et des chlamydospores (figure 01).

Les phialides, plus ou moins allongées, présentent un site de bourgeonnement unique, appelé 'monophialides', situé à l'extrémité d'un col allongé comme chez *Fusarium solani* ou court et trapu comme chez *Fusarium oxysporum*. D'autres espèces présentent plusieurs sites de bourgeonnement ('polyphialides') (*F. proliferatum*, par exemple) (tableau 01).

Les phialides peuvent produire deux types de conidies :

#### ❖ Les macroconidies

Conidies pluricellulaires à cloisons transversales. Elles sont fusiformes, courbées, avec une cellule basale pédicellée et une extrémité apicale. Les macroconidies sont souvent regroupées en masses. Ce type de conidies est produit en basipétale par les monophialides ou les sporodichies (agrégats de conidiophores).

❖ **Les microconidies**

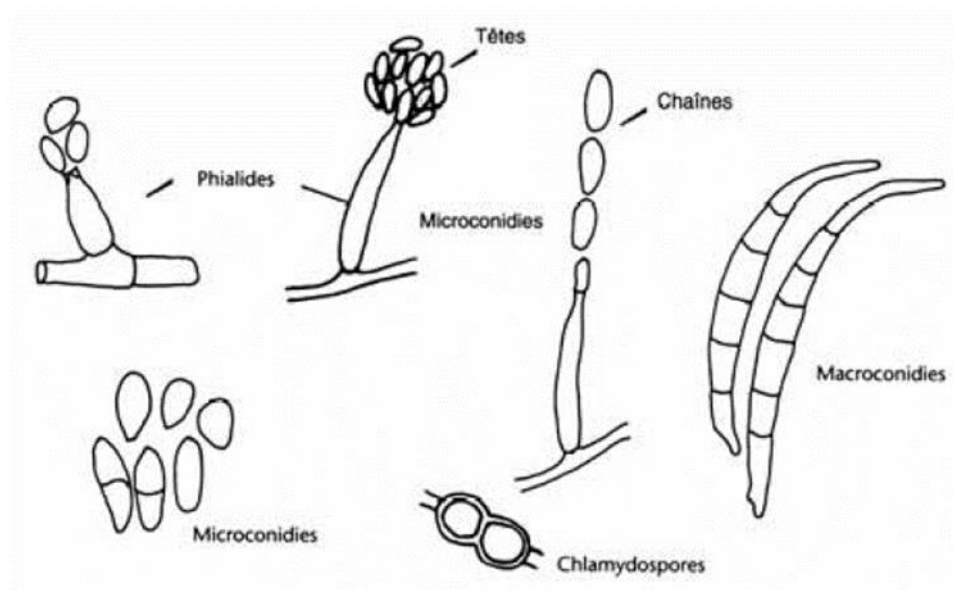
Conidies uni- ou bicellulaires, pyriformes, fusiformes, cylindriques, subsphériques, ovoïdes, ellipsoïdes, claviformes ou allantoïdiennes. Elles présentent une base arrondie ou tronquée. Les microconidies sont basipétales, produites en séries par les mono- ou les polyphialides et accumulées en fausses têtes ou en chaînes.

❖ **Les chlamydo-spores (forme de résistance)**

Sont présentes en position intercalaire ou terminale, avec une paroi épaisse et sont hyalines ou pales.

❖ **Les blastoconidies**

Un autre type de conidies produites séparément par des cellules polyblastiques. Ces conidies contiennent de 0 à 3 septas (de Hoog *et al.*, 2011).



**Figure 01** : Caractères morphologique du genre *Fusarium* (Tabuc, 2007)

**Tableau 01** : caractères distinctifs des principales espèces et variétés de *Fusarium* rencontrées sur semences (extrait de Messiaen et Cassini, 1968)

<b><i>Microconidies présentes</i></b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies piriformes ou quasi-sphériques.</li> <li>• Conidiophores en forme de bouteille.</li> <li>• Microconidies elliptiques.</li> <li>• Macroconidies de taille moyenne, rarement 5 cloisons.</li> <li>• Mycélium blanc grisâtre ou rougeâtre suivant les espèces.</li> </ul>	<b><i>Fusarium poae</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies en bouquet sur conidiophores ramifiés.</li> <li>• Macroconidies de tailles et de courbures irrégulières.</li> <li>• Mycélium blanc rosé à rouge carmin, plus ou moins fauve.</li> </ul>	<b><i>Fusarium roseum</i> var. <i>arthrosporloïdes</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies en chaînes.</li> <li>• Macroconidies présentes.</li> <li>• Colonies poudreuses.</li> <li>• Mycélium blanc rosé à violacé en vieillissant.</li> </ul>	<b><i>Fusarium moniliforme</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies en fausses têtes.</li> <li>• Macroconidies présentes.</li> <li>• Colonies poudreuses.</li> <li>• Mycélium blanc rosé à violacé en vieillissant.</li> </ul>	<b><i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies en fausses têtes.</li> <li>• Conidiophores courts.</li> <li>• Macroconidies inférieures ou égales à 4 µm en largeur.</li> <li>• Chlamydo-spores présentes.</li> <li>• Mycélium rose orangé à violacé.</li> </ul>	<b><i>Fusarium oxysporum</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microconidies souvent produites avec des macroconidies dominantes, supérieures ou égales à 4 µm en largeur.</li> <li>• Conidiophores allongés.</li> <li>• Chlamydo-spores présentes.</li> <li>• Mycélium blanchâtre ou fauve.</li> </ul>	<b><i>Fusarium solani</i></b>
<b><u><i>Microconidies absentes</i></u></b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Macroconidies, produites en masses, roses à la lumière, obtuses aux deux extrémités.</li> <li>• Mycélium blanc</li> </ul>	<b><i>Fusarium nivale</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Macroconidies de plus de 5 µm de largeur, peu pointues.</li> <li>• Chlamydo-spores présentes.</li> <li>• Mycélium rosé à rouge brique avec reflets jaunes.</li> </ul>	<b><i>Fusarium roseum</i> var. <i>culmorum</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Macroconidies de 3 à 6 µm de largeur.</li> <li>• Absence de chlamydo-spores.</li> <li>• Mycélium rosé à rouge brique avec reflets jaunes.</li> </ul>	<b><i>Fusarium roseum</i> var. <i>graminearum</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Macroconidies de moins de 3 à 6 µm de largeur, très longues et minces.</li> <li>• Absence de chlamydo-spores.</li> <li>• Mycélium blanc rosé.</li> </ul>	<b><i>Fusarium roseum</i> var. <i>avenaceum</i></b>

### I.2.3. Identification

Selon (Guarro *et al.*, 1999), l'identification des champignons microscopiques est basée sur une multitude de critères. Chez le genre *Fusarium*, l'examen des macroconidies sert à reconnaître, rapidement, le genre ainsi que la forme et la septation qui identifient l'espèce.

Les méthodes biochimiques apportent des informations sur les champignons. Parmi les critères étudiés (Alves-Santos *et al.*, 1999 ; Baayen, 2000 ; Haan *et al.*, 2000) :

- La détermination du contenu en acides gras
- La composition de la paroi cellulaire
- La composition en protéines et métabolites secondaires

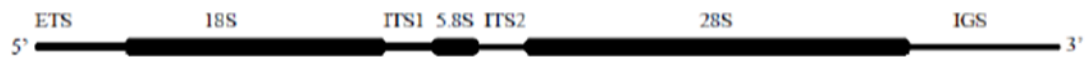
D'après (Hsu *et al.*, 2003), les techniques de biologie moléculaire se sont imposées par leur fiabilité, en se basant sur les analyses de l'ADN par l'amplification par la PCR d'une région ciblée, pour identifier un type de champignon.

La distinction des espèces de champignons se fait par la RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA ; Hardys *et al.*, 1992) qui est une méthode qui consiste à amplifier des cibles aléatoires, à l'aide des amorces dégénérées pour obtenir un profil de bandes (Carnegie *et al.*, 2001).

Parmi les méthodes robustes, on trouve les méthodes analytiques du polymorphisme de taille de fragments de restriction (RFLP) (Botstein *et al.*, 1980) et la combinaison PCB et RFLP pour l'analyse du polymorphisme de fragments amplifiés (CAPS) (Kamiya *et al.*, 2004).

Pour l'identification des espèces, les méthodes de biologie moléculaire reposent sur des séquences cibles telles que l'ADN ribosomique, l'ADN mitochondrial et les séquences répétées de type microsatellites (figure 02). A l'heure actuelle, GenBank comprend plus de 700.000 séquences d'ADNr fongique (Guarro *et al.*, 1999).

Pour identifier les champignons filamenteux, y compris les *Fusarium*, on utilise l'ADNr car cette cible a l'avantage d'être multiple (séquences répétées dans le génome et retrouvées dans tous les organismes vivants).



**Figure 02 :** Représentation d'une unité d'ADN ribosomique (ETS : externally transcribed spacer ; ITS : internally transcribed spacer ; IGS : intergenic spacer)

#### I.2.4. Taxonomie du genre *Fusarium*

La taxinomie a pour objet de décrire les organismes vivants et de les regrouper en entités appelées taxons, afin de les identifier, les nommer et enfin les classer. Depuis la seconde moitié du XX<sup>ème</sup> siècle, une nouvelle approche conceptuelle de ces classifications est rendue possible, grâce à la biologie moléculaire. La taxonomie en mycologie est donc en constante évolution, suite aux données recueillies lors des différentes approches phylogénétiques. Ceci s'applique également pour le genre *Fusarium* (Summerell *et al.*, 2002).

La taxonomie des espèces du genre *Fusarium* était en plein désarroi (Leslie et Summerell, 2006). Wollenweber et Reinting (1935) ont proposé un système taxonomique selon lequel les espèces de *Fusarium* ont été regroupées au sein de sections dont la séparation au sein des sections a été basée sur des caractères culturales : (i) la présence ou l'absence de microconidies, (ii) la forme des microconidies, (iii) la présence ou l'absence de chlamydospores, (iv) l'emplacement des chlamydospores (v) la forme des macroconidies, et (vi) la forme des cellules basales et le pied des macroconidies.

Les taxons au sein des sections ont été divisés en espèces, variétés et formes spéciales, sur la base de : (i) la couleur du stroma, (ii) la présence ou l'absence de sclérotés, (iii) le nombre de cloisons dans les macroconidies et (iv) la longueur et la largeur des macroconidies (Wollenweber et Reinking, 1935). Wollenweber et Reinking ont fondé les systèmes taxonomiques les plus modernes. Ils décrivent 65 espèces de *Fusarium* et 77 variétés et de formes spéciales dans les sous-espèces de 16 sections.

Messiaen et Cassini (1968) ont fondé leur système taxonomique sur les données de Snyder et Hansen (1940, 1941). Ils ont adopté l'utilisation de variétés botaniques au lieu de cultivars au niveau sous-espèce de *F. roseum*, *F. sambucinum*, *F. culmorum*, *F.*

*graminearum* et *F. avenaceum* (Messiaen et Cassini, 1968). En 1982, Gerlach et Nirenberg ont publié un atlas dans lequel ont décrit 78 espèces de *Fusarium* et 55 variétés, au sein des 16 sections décrites par Wollenweber et Reinking (1935). Leur système est considéré comme une mise-à-jour de celui de Wollenweber et Reinking (1935), et celui de Booth (1971) (Gerlach et Nirenberg, 1982 ; Joffe, 1986).

Nelson *et al.* (1983) ont publié un système taxonomique qui combine les caractéristiques des systèmes taxonomiques de Wollenweber et Reinking (1935). Snyder et Hansen (1940), Joffe (1986). Messiaen et Cassini (1968), Gerlach (1981) et Booth (1971) dont la description des espèces qu'ils ne reconnaissaient pas la présence de cellules polybasiques conidiogènes comme caractère taxonomique (tableau 02).

Tableau 02 : Sections et espèces de *Fusarium* selon les principaux systèmes taxonomiques (Jeunot, 2005).

Sections de Wollenber et Reiking (1935)	Espèces de Snyder et Hansen (1940)	Espèces de Messiaen et Cassini (1968)	Système de Nelson et al. (1983)	
			Sections	Espèces
<i>Submicrocera</i>				
<i>Pseudomicrocera</i>				
<i>Macroconia</i>		<i>F. epispaeria</i> var <i>gigas</i>		
<i>Eupionnotes</i>	<i>F. epispaeria</i>	<i>F. epispaeria</i> <i>F. epispaeria</i> var <i>dimerum</i>	<i>Eupionnotes</i>	<i>F. aquaeductuum</i> <i>F. merismoïdes</i> <i>F. dimerum</i>
<i>Spicarioïdes</i>	<i>F. rigidiscula</i>	<i>F. rigidisculum</i>	<i>Spicarioïdes</i>	<i>F. decemcellular</i>
<i>Arachnites</i>	<i>F. nivale</i>	<i>F. nivale</i>	<i>Arachnites</i>	<i>F. nivale</i>
<i>Sporotrichiella</i>	<i>F. uricinatum</i>	<i>F. uricinatum</i>	<i>Sporotrichiella</i>	<i>F. tricinctum</i> <i>F. poae</i> <i>F. sporotrichloïdes</i> <i>F. chlamydosporum</i>
<i>Roseum</i>		<i>F. roseum</i> var <i>avenaceum</i> <i>F. roseum</i> var <i>arthrosporioïdes</i>	<i>Roseum</i>	<i>F. avenaceum</i> <i>F. graminum</i>
<i>Arthrosporiella</i>			<i>Arthrosporiella</i>	<i>F. semitectum</i> <i>F. camptoceras</i>
<i>Gibbosum</i>	<i>F. roseum</i>	<i>F. roseum</i> var <i>gibbosum</i>	<i>Gibbosum</i>	<i>F. equiseti</i> <i>F. acuminatum</i> <i>F. longipes</i>
<i>Discolor</i>		<i>F. roseum</i> var <i>sambucinum</i> <i>F. roseum</i> var <i>graminearum</i> <i>F. roseum</i> var <i>culmorum</i>	<i>Discolor</i>	<i>F. heterosporum</i> <i>F. retuclatum</i> <i>F. sambucinum</i> <i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i>
<i>Lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>	<i>Lateritium</i>	<i>F. lateritium</i> <i>F. udum</i>
<i>Liseola</i>	<i>F. moniliforme</i>	<i>F. moniliforme</i> <i>F. moniliforme</i> var <i>subglutinans</i>	<i>Liseola</i>	<i>F. moniliforme</i> <i>F. proliferatum</i> <i>F. subglutinans</i> <i>F. anthophyllum</i>
<i>Elegans</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>Elegans</i>	<i>F. oxysporum</i>
<i>Martiella</i>			<i>Martiella</i>	
<i>Ventricosum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. solani</i>	<i>Ventricosum</i>	<i>F. solani</i>

### I.3. Caractéristiques pathologiques du genre *Fusarium*

#### I.3.1. Potentiel toxigène

Le genre *Fusarium* comprend des espèces productrices de mycotoxines : les fumonisines, la zearalénone et les trichothécènes... etc (Pitt, 2000), ces mycotoxines synthétisées par ces espèces leur donnent un pouvoir pathogène vis-à-vis des végétaux ou des mammifères y compris l'homme (nucci *et al.*, 2007). La consommation des céréales colonisées par *Fusarium sporotrichoides* et *Fusarium poae* provoquent des mycotoxicoses dont la plus connue est l'aleukie alimentaire toxique secondaire : Les manifestations principales sont gastro-intestinales mais des symptômes cutanés et hématologiques qui apparaissent secondairement. D'autres mycotoxines se manifestent par des ostéo-arthrose dystrophiques chroniques ou des symptômes gastro-intestinaux et neurologiques (tableau 03) (Gupta, 2000).

Ces agents présentent aussi une capacité de produire des biofilms en présence de matériaux étrangers tel que les lentilles oculaires et les cathéters, ils deviennent plus résistants aux traitements antifongiques et aux solutions de nettoyage (Dyavaiah *et al.*, 2007 ; Ahearn *et al.*, 2008 ; Imamura *et al.*, 2008 ; Mukherjee *et al.*, 2012).

Peu d'études ont été réalisées sur la virulence des espèces appartenant au genre *Fusarium*, cependant les espèces du complexe *Fusarium solani* semblent être les plus virulentes (Mayayo *et al.*, 1999).

**Tableau 03** : les espèces de *Fusarium* productrices de mycotoxines (pitt, 2000)

Espèces de <i>Fusarium</i>	Mycotoxine produites
<i>Fusarium acuminatum</i>	moniliformine, trichotécènes type A
<i>Fusarium anthophilum</i>	moniliformine
<i>Fusarium avenaceum</i>	fusarine C, moniliformine
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	moniliformine
<i>Fusarium cerealis</i>	culmorine, fusarine C, trichotécènes type B
<i>Fusarium culmorum</i>	culmorine, fusarine C, trichotécènes type B, zéaralénone
<i>Fusarium graminearum</i>	trichotécènes type B, zéaralénone
<i>Fusarium oxysporum</i>	acide fusarique, moniliformine, oxysporine
<i>Fusarium pallidorozeum</i>	moniliformine, zéaralénone
<i>Fusarium poae</i>	fusarine C, trichotécènes type A
<i>Fusarium proliferatum</i>	moniliformine
<i>Fusarium sacchari</i>	moniliformine
<i>Fusarium sambucinum</i>	fusarine C, trichotécènes type A
<i>Fusarium solani</i>	acide fusarique, naftoquinone
<i>Fusarium sporotrichoides</i>	fusarine C, trichotécènes type A, zéaralénone
<i>Fusarium verticillioides</i>	fumonisines, fusarine C, gibberelines, moniliformine, naftoquinone

### I.3.2. Pouvoir pathogène

Les *Fusarium* sont, principalement, des phytopathogènes. Ces champignons contaminent les céréales, les légumes, les arbres fruitiers provoquant des maladies nommées fusarioses. Les *Fusarium* sont généralement impliqués dans la pourriture des racines, tiges et fruits ; dans la dégradation du système vasculaire (Trenholm *et al.*, 1988).

Le pouvoir pathogène chez l'homme et les animaux est varié. Certaines espèces sont à l'origine des kératites et endophtalmies. D'autres espèces (*Fusarium solani*, *Fusarium moniliforme*) sont impliquées dans des infections systémiques (Guarro et Gene, 1992) :

- *Fusarium verticillioides* peut être un agent de fusarioses disséminées chez les patients infectés par le HIV (Duran *et al.*, 1989).
- *Fusarium oxysporum* est un agent d'onyxis, de kératites, d'endophtalmies, de péritonites et d'infections disséminées chez les patients atteints d'hémopathie maligne (Thomas et Geraldine, 1992).

- *Fusarium solani* est l'espèce la plus commune, impliquée dans les fusarioses rencontrées aux patients diabétiques. Il peut également être responsable des ulcères cornéens (del Palacio *et al.*, 1985 ; Gari-Toussaint *et al.*, 1997).

#### **I.4. L'espèce *Fusarium oxysporum***

##### **I.4.1. Généralités sur l'espèce *Fusarium oxysporum***

*Fusarium oxysporum* est certainement l'espèce de *Fusarium* la plus répandue dans la nature. Elle est présente dans les sols du monde entier où elle se comporte soit en parasite soit en saprophyte.

Selon Messiaen et Cassini, (1968) *Fusarium oxysporum* est l'espèce qui comporte des formes phytopathogènes les plus fréquentes et les plus importantes de la microflore fongique des sols cultivés.

Elle est également l'une des espèces les plus importantes du point de vue économique compte tenu de ses nombreux hôtes et du niveau des dégâts qu'elle peut entraîner. Il existe différentes souches de ce pathogène : celle qui envahissent le système vasculaire par les racines profondes induisant une maladie de type systémique et celles qui peuvent pénétrer dans les racines sans envahir les vaisseaux et causer des maladies. En outre il possède de nombreuses formes spéciales ce qui lui permet d'attaquer à une multitude de culture, telle que les légumineuses, les plantes maraichères et les plantes ornementales.

Ce champignon survit dans le sol en forme de chlamydospore dormantes et immobiles jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou exsudats racinaires. Suite à la germination, il y a formation d'un mycélium et si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies.

##### **I.4.2. Caractéristiques morphologiques**

Sur le plan morphologique, *Fusarium oxysporum* présente un polymorphisme de thalle remarquable. En se basant sur ce critère, Snyder et Hansen (1940) ont déclaré que certains clones et sous clones de la même souche pourraient être classés dans des espèces et même des sections différentes. Ce polymorphisme a été confirmé dans de nombreuses recherches (Abawi et Lorbeer, 1965 ; Awuah et Lorbeer, 1988 ; Dossa, 1993 ; Henni *et al.*, 1994 ; Leslie et Summerell, 2006). Sur la base des variations culturelles chez cette espèce, (Nelson *et al.*, 1983 ; Booth, 1985 ; Djerbi, 2003 ; Leslie et Summerell, 2006) ont

défini plusieurs morphotypes : duveteux, fin et frisé, floconneux, cotonneux, ras muqueux, sporodochial, sclérotial. Par ailleurs, ils ont aussi noté une variabilité de la couleur du thalle (rose, saumon clair, violet, blanchâtres ...). Ces mêmes auteurs ont affirmé que ces caractéristiques sont instables dans la descendance d'un clone.

### **I.4.3. Morphologie et Identification**

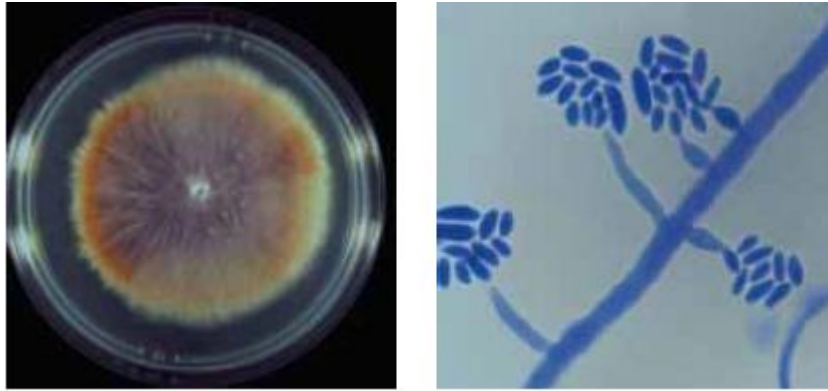
#### **I.4.3.1. Au niveau macroscopique**

L'aspect de *F. oxysprum* sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) correspond à un mycélium aérien de croissance rapide, et de couleur qui varie du blanc au rose ou violet, Cependant l'aspects de ses souches varie d'une culture a une autre après des repiquages successifs, voir dans une même culture on peut trouver différents aspects et couleurs (figure 03) (Brunett, 1984 ; windels, 1992).

#### **I.4.3.2. Aux niveaux microscopiques**

Le filament mycélien de *F.oxysporum* est : septé et uni-nucléé, la phase sexuée n'existe pas. Donc ce champignon se multiplie par voie végétative ou par l'intermédiaire de spores asexuées qui ont des caractères morphologiques stables et spécifiques au *Fusarium oxysprum*, permettant l'identification de ses souches (figure 03) (Djerbi, 2003 ; Leslie et Summerell, 2006 ; Fuskey, <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.html>), il existe trois formes de ces spores :

- Les microconidies généralement monocellulaire, ovale ou réniforme, produites en fausse tête sur des conidiphores monophialides courts.
- Les macroconidies fusiformes, abondantes comportent quatre à six cellules dont une cellule apicale plus mince que les autres et une cellule basale en forme de pied.
- Les structures chlamydospres sont des organes de conservation très résistante qui se trouve solitaire ou en paires, lisses ou rugueuse, globuleuses terminales ou intercalaires de 5 à 15 µm de diamètre (Komi, 1993).



**Figure 03 :** *Fusarium oxysporum* (culture de 7 jours sur milieu PDA à 25°C et aspect microscopique) (Tabuc, 2007)

#### I.4.4. Symptomatologie

Certaines souches pathogènes provoquent des symptômes de pourritures racinaires. D'autres symptômes sont obtenus par les souches vasculaires de *F. oxysporum* : la coloration brune des tissus vasculaires provoquant le dessèchement des tiges, le jaunissement des nervures et du limbe des feuilles, le flétrissement du feuillage et l'exsudation de gomme (Costa Rodrigues *et al.*, 2006). Sur certaines cultures, il a même été observé des fontes de semis, des pourritures du collet et des nécroses racinaires (Triolet, 2014).

#### I.4.5. Le cycle de vie de *F.oxysporum*

Les *F. oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires. En l'absence de la plante hôte, ils mènent une vie de saprophyte sur des débris végétaux et de la matière organique. Les isolements effectués indiquent qu'un gramme de sol peut renfermer près de 100.000 propagules ou les *F. oxysporum* représentent 80% à 90% de la population fusarienne totale de la rhizosphère (Correll *et al.*, 1986).

On trouve ce champignon dans le sol principalement sous forme de spores de résistances (chlamydospores) en état de dormance (Booth, 1971). Une fois les conditions sont favorable le cycle se déroule comme suit :

##### I.4.5.1. Pénétration du pathogène dans la racine

Le pathogène pénètre le plus souvent par les blessures naturelles leur position a une grande importance sur la pénétration de ce dernier, son invasion racinaire s'effectue par étape successives suite à la compétition entre le champignon et le système de défense de la

plante, les chlamydospores germinent et les jeunes filaments pénètrent dans les cellules épidermiques.

#### I.4.5.2. Pénétration du pathogène à l'intérieur de la racine

Le mycélium se ramifie et colonise toutes les cellules avoisinantes, après cette action les hyphes progressent à l'intérieur des cellules puis colonisent le parenchyme cortical ensuite tout le cortex au niveau inter et intracellulaire ce qui provoque des brunissements sur les cellules non atteintes par l'agent pathogène.

#### I.4.5.3. Propagation du pathogène dans la tige

Le champignon s'installe dans les vaisseaux du xylème d'où il se propage dans la tige par l'intermédiaire des microconidies aisément véhiculées par la sève dans toutes les parties de la plante, parfois ce champignon produit des sporodochies qui contiennent des macroconidies. Après la mort de la plante, le mycélium se développe en dehors et démarre ainsi sa phase saprophyte. La production de micro et macroconidies à la surface de l'hôte constitue l'inoculum secondaire qui se dissémine par le vent, l'eau ou bien par les insectes.

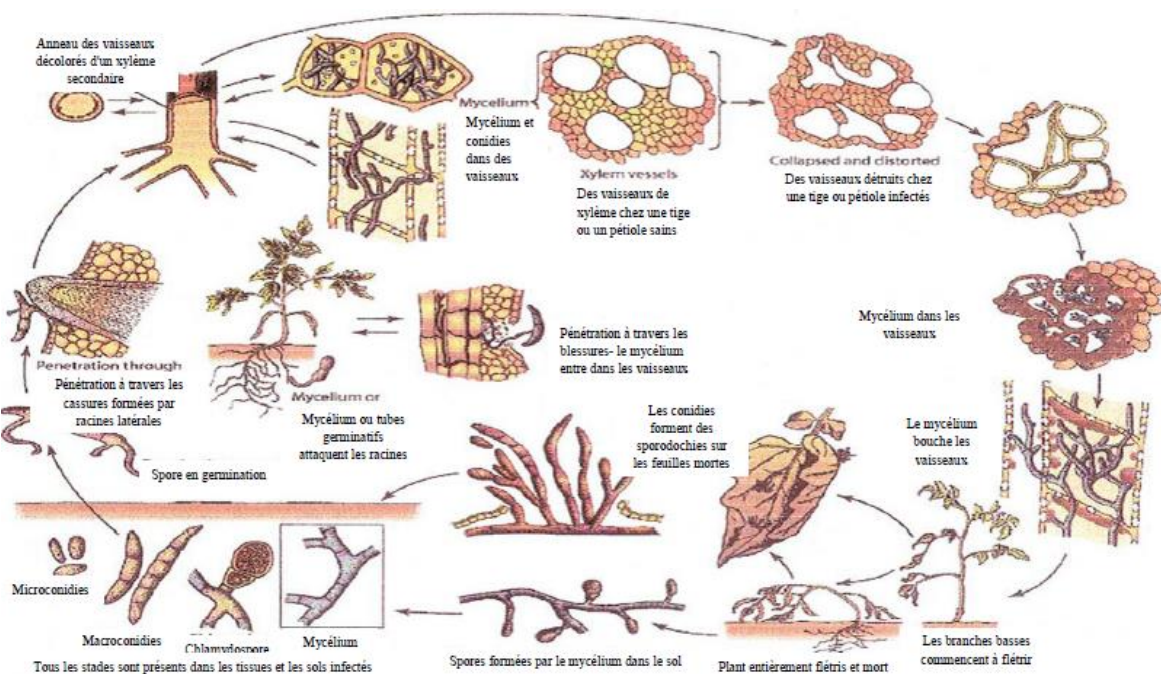


Figure 04 : Cycle infectieux de *Fusarium oxysporum*, d'après Agrios (2005)

#### I.4.6. Structure génétique

La diversité génétique du *Fusarium oxysporum* a été mise en évidence par l'utilisation des concepts de forme spéciale, de race physiologique, et de groupe de compatibilité végétative (GCV). L'outil moléculaire est aussi utilisé dans l'étude de diversité génétique de cette espèce.

#### I.4.7. Compatibilité végétative

C'est la capacité des souches fongiques dites compatibles à former des hétérocaryons végétatifs. Elle est très utilisée pour caractériser les champignons. Les groupes d'anastomose permettent de mieux comprendre la taxonomie de certaines espèces fongiques telle que *Rhizoctonia solani* qui est considérée comme un complexe d'espèces (Cubeta et Vigalys, 1997). Au sein du genre *Fusarium*, les souches d'une même espèce peuvent être comparées et classées en groupes de compatibilité végétative (GCV ou VCG en anglais, Vegetative Compatibility Group). Depuis 1985, cet outil a été utilisé pour l'espèce *Fusarium oxysporum*. En effet, Puhalla (1985) a développé une méthode simple de détermination des VCG, basée sur des tests de complémentation de mutants auxotrophes, incapables d'utiliser les nitrates comme source de d'azote (les mutants nit). Ces mutants présentent thalle rasant, sans mycélium aérien. Lorsqu'il y a complémentarité, il y a production de mycélium aérien ; ces souches sont alors assignées à un même GCV.

L'espèce *F. oxysporum* étant supposée comme totalement asexuée, les GCV représentent une unité de population intéressante. De nombreuses études ont montré que les GCV rassemblent des souches ayant une origine clonale et donc génétiquement proches (Kistler, 1997 ; Katan, 2000). Ces groupes de compatibilité végétative sont utilisés pour la recherche de corrélations avec la spécificité d'hôte. Les GCV ont donc été étudiés dans plusieurs formes spéciales de *F. oxysporum*. Lorsqu'une forme spéciale est constitué d'un seul GCV, celui-ci peut servir d'outil d'identification. C'est le cas de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* qui rassemble des souches ayant toutes la même origine clonale (Tantaoui *et al.*, 1996). Il est à noter que la majorité des formes spéciales sont représentées par deux GCV ou plus (Kistler *et al.*, 1998).

Même si les GCV ne peuvent réellement servir d'outil taxonomique, ils présentent un intérêt pour analyser la structure des populations des *F. oxysporum*. Il est à noter que les regroupements en GCV présentent des limites, d'ordre pratique, telles que la difficulté d'obtenir des mutants nits pour certaines souches. De plus, il existe des souches auto-incompatibles, c'est à dire que les différents mutants de la même souche ne sont pas

capables de se compléter (Jacobson et Gordon, 1988 ; Katan, 1998). Enfin, en termes de GCV, il devient impossible d'analyser les relations entre différents groupes ; deux souches ne pouvant être qu'identique ou différents. C'est pourquoi les études de populations de *F. oxysporum* combinent, généralement, la détermination des GCV et l'utilisation d'autres méthodes de caractérisation (Kistler, 1997).

#### **I.4.8. Les formes spéciales de *F. oxysporum***

*Fusarium oxysporum* est l'espèce du genre la plus répandue dans le monde. Elle compte des souches saprophytes et des souches pathogènes. Ses formes pathogènes, appelées aussi forme biologiques ou forme physiologiques, ne peuvent être distinguée morphologiquement des isolats saprophytes. Ces isolats pathogènes ont des aptitudes physiologiques leur permettant de parasiter des plantes appartenant à une ou plusieurs espèces ; généralement, la gamme d'hôte est très étroite.

Snyder et Hansen, (1940) ont présenté un système de classification des souches pathogènes, en formes spéciales. Une forme spéciale est définie comme étant l'ensemble des souches pathogène d'une même espèce végétale ou d'une même gamme d'espèces d'un même genre (Snyder et Hansen, 1940). Elle ne fait appel à aucun critère morphologique ou biochimique mais seulement à la pathogénicité du champignon. Pour les déterminer on utilise les tests d'inoculation qui se basent sur la ré-inoculation du pathogène dans la plante hôte saine.

Gordon (1965) a décrit 66 formes spéciales, chez *Fusarium oxysporum*, dont neuf combinaisons de formes préexistantes et cinq formes nouvelles. Armstrong et Armstrong (1968) ont précisé 69 formes spéciales dont huit nouvelles. Dans cette classification, cinq des formes citées par Gordon (1965) ont été annulées. Booth (1985) a décrit et/ou cité 76 formes spéciales mais la liste la plus récente et apparemment la plus complète est celle proposée par Armstrong (1981) où 122 formes spéciales sont citées et/ou décrites (tableau 04)

**Tableau 04** : Les formes spéciales les plus importantes de *Fusarium oxysporum* citées par Armstrong (1981)

Formes spéciales	Plante hôte
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Tomate
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersic</i>	Tomate
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	Concombre
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>betae</i>	Betterave
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lentis</i>	Lentille
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>fabae</i>	Fève
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i>	Pois
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceri</i>	Pois chiche
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>	Melon
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	Haricot
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	Banane
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>coffae</i>	Café
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>asparagi</i>	Asperge
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>canariensis</i>	Palmier des Canaries
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i>	Palmier dattier
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	Radis
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cepae</i>	Oignon
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	Pastèque
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>batatas</i>	Patate douce
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lini</i>	Lin

#### I.4.9. Classification

Selon Henni, 1998, le système Saccardo, de classification des champignons imparfaits, classe *Fusarium oxysporum* comme suit :

- Embranchement des *Thallophytes*
- Classe des *Deutéromycètes*
  - Ordre des *Monodiales*
    - Famille des *Tuberculariacées*
      - Genre des *Fusarium*
        - Espèce *Fusarium oxysporum*

#### I.5. La bio-informatique

La bio-informatique est l'étude de l'information biologique, c'est une branche à part entière de la biologie. Elle correspondait à l'utilisation de l'informatique pour stocker et analyser les données de la biologie moléculaire. Cette définition originale a maintenant été étendue et le terme bio-informatique est souvent associé à l'utilisation de l'informatique pour résoudre les problèmes scientifiques posés par la biologie dans son ensemble. Il s'agit dans tous les cas d'un champ de recherche multidisciplinaire impliquant la biologie, l'informatique, les mathématiques, les statistiques dont l'objectif est d'analyser les séquences biologiques et de prédire la structure et la fonction des macromolécules

Pour stocker les données les bioinformaticiens utilisent des banques de données génomiques et protéiques, il s'agit de bases de données

Une base de données est un ensemble structuré et organisé permettant le stockage de grandes quantités d'informations afin d'en faciliter leur utilisation (ajout, mise à jour, recherche et analyse).

Elles sont toutes organisées en fonction d'un modèle de données qui peut être de différents types : modèle hiérarchique, modèle en réseau, modèle relationnel, modèle orienté objet, modèle semi structuré, modèle associatif, modèle EAV (Entity-Attribute-Value) ou encore modèle contextuel (Tufféry, 2005)

L'un des modèles les plus utilisés aujourd'hui est le modèle de bases de données relationnelles qui a été inventé en 1970 par Edgar Frank Codd.

Ce modèle repose ainsi sur les 12 règles :

- Unicité des données

- Garantie d'accès
- Traitement des valeurs
- Catalogue lui-même relationnel
- Sous-langage de données
- Mise à jour des vues
- Insertion, mise à jour, et effacement de haut niveau
- Indépendance physique
- Indépendance logique
- Indépendance d'intégrité
- Indépendance de distribution
- Règle de non-subversion

Afin de créer ces banques de données relationnelles, il est nécessaire d'avoir recours à un système informatique nommé Système de Gestion de Bases de Données Relationnel (SGBDR) dont les plus connus sont : Oracle, Access, SQL Server, Informix, Sybase, DB2, MySQL, 4D, Filmaker... (

### **I.5.1. Les banques de données utiles dans le domaine de la génétique "Genome Browsers"**

Elles correspondent à différentes bases de données qui permettent d'accéder aux données des génomes à l'aide d'une interface graphique. En plus des données de séquence, ces navigateurs permettent d'accéder à de nombreuses données d'annotation (gènes avec exons et introns, sites de fixation, régions d'homologie). Les plus populaires sont :  
Ensembl (European Bioinformatics Institute / Wellcome Trust Sanger Institute)  
NCBI (National Center for Biotechnology Information)  
UCSC (University of California Santa Cruz)

#### **I.5.1.1. Base de données NCBI**

Le NCBI (National Center for Biotechnology Information) est un organisme fondé en 1988 à la « National Library of Medicine (NLM) » un des « National Institute of Health (NIH) » aux États-Unis. Pour être une source d'information en biologie moléculaire, ils ont créé des bases de données publiques, pour monter des projets de recherche dans le domaine de la biologie computationnelle, développer des outils d'analyse de données génomiques et disséminer des informations biomédicales. Il est possible d'accéder au site de NCBI à partir de l'adresse suivante : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

### I.5.1.2. La petite sous-unité de l'ARNr

Les ribosomes sont des particules RNP (**RiboNucléoProteiques**) résultant de l'association de molécules ARNr avec des protéines ribosomiques. Le composant majoritaire est l'ARNr qui occupe 60% de la masse totale de ces organites.

Observés uniquement en microscopie électronique, les ribosomes ont été décrits pour la première fois par Palade en 1953. Ces organites sont situés dans l'hyaloplasme des procaryotes et des eucaryotes. Ils sont, aussi, aussi rencontrés dans les mitochondries et les chloroplastes des eucaryotes.

Les ribosomes s'organisent en deux sous-unités de tailles différentes (50S et 30S chez les archées et les procaryotes ; 60S et 40S chez les eucaryotes) dont l'association donne un ribosome mature (70S chez les archées et les procaryotes, 80S chez les eucaryotes)

La petite sous-unité ribosomique est constituée d'une molécule d'ARNr 18S et de protéines (ARNr 16S chez les procaryotes) (Planta and Mager, 1998). La séquence de ce dernier gène est composée de régions dites conservées et d'autres variables.

Les régions variables sont des sites structurels. Ces sites hypervariables de l'ARNr 18S sont soumis à la pression évolutive et subissent donc de nombreuses mutations. Ce sont ces régions qui sont utilisées pour établir la classification taxonomique des microorganismes.

L'ARNr 18S est choisi préférentiellement aux autres gènes composant les ribosomes, pour sa taille. De plus, ce gène est utilisé depuis des décennies et sert à alimenter les bases de données qui permettent d'établir la correspondance entre la séquence et sa taxonomie.

Dans ce mémoire les séquences utilisées sont des séquences des petites sous-unités ribosomiques des mitochondries.

#### ❖ Les séquences utilisées pour le genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* a été introduit par Link en 1809. Ce dernier traverse son troisième siècle comme l'un des genres comprenant de nombreux champignons qui peuvent causer directement des maladies chez les plantes, chez les êtres humains ou bien chez les animaux domestiques (Boonpasart *et al.*, 2002 ; Goldschmied *et al.*, 1993 ; Krcmery *et al.*, 1997 ; Martino *et al.*, 1994 ; Rabodonirina *et al.*, 1994 ; Rebell, 1981 ; Vismer *et al.*, 2002).

Tableau : les séquences de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique mitochondrial des espèces du genre *Fusarium*

**Tableau 05** : les séquences de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique mitochondrial des espèces du genre *Fusarium*

Entrée GenBank	Organisme	Taille (pb)	Pays	Auteur et année
DQ831947.1	<i>Fusarium proliferatum</i>	738	Etats unis	Mbofung <i>et al.</i> , (2007)
DQ016159.1	<i>Fusarium commune</i>	671		Stewart <i>et al</i> (2006)
KR528471.1	<i>Fusarium solani</i>	622	Chine	Li <i>et al.</i> , (2015)
HQ165826.1	<i>Fusarium cf.incarnatum</i>	702		Wang <i>et al.</i> , (2011)
DQ831935.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	727	Etats unis	Bofung <i>et al.</i> , (2007)
KX218418.1	<i>Fusarium subglutinans</i>	704	Mexique	Frausto-Romo <i>et al.</i> , (2016)
KX218410.1	<i>Fusarium thapsinum</i>	717		
KX218408.1	<i>Fusarium verticillioides</i>	703		
KX218396.1	<i>Fusarium incarnatum</i>	742		
KX218395.1	<i>Fusarium equiseti</i>	740		
U34499.1	<i>Fusarium fujikuroi</i>	689	Etats unis	O'Donnell et Cigelnik, (1997)
U34521.1	<i>Fusarium sambucinum</i>	714		
U85564.1	<i>Fusarium kyushuense</i>	662		
U34507.1	<i>Fusarium redolens</i>	693		
U34515.1	<i>Fusarium acutatum</i>	679		O'Donnell <i>et al.</i> , (1998)
U61604.1	<i>Fusarium neoceras</i>	689		
U61599.1	<i>Fusarium circinatum</i>	681		Schroers <i>et al.</i> , (2004)
AY320107.1	<i>Fusarium foetens</i>	674		
AY329039.1	<i>Fusarium begoniae</i>	679		
KJ434951.1	<i>Fusarium musae</i>	682		
KJ434952.1	<i>Fusarium xylarioides</i>	689	Secor <i>et al.</i> , (2014)	
KU158833.1	<i>Fusarium udum</i>	607		Inde
KF467452.1	<i>Fusarium sporotrichioides</i>	487	Colombie	Rincon et Filgueira, (2013)
KF467447.1	<i>Fusarium graminearum</i>	487		
KF467444.1	<i>Fusarium culmorum</i>	487		
KF467443.1	<i>Fusarium avenaceum</i>	487		
KF467442.1	<i>Fusarium anthophilum</i>	488		
KC430729.1	<i>Fusarium pseudonygamai</i>	651	Chine	Zhu <i>et al.</i> , (2012)
EU860007.1	<i>Fusarium merismoides var.merismoides</i>	509	Espagne	Bills <i>et al.</i> , (2009)
EU860002.1	<i>Fusarium larvarum</i>	539		
EU919401.1	<i>Fusarium tricinctum</i>	574	Nouvelle Zélande	Harrow <i>et al.</i> , (2010)
HQ165810.1	<i>Fusarium napiforme</i>	670	Chine	Wang <i>et al.</i> , (2011)
HQ165818.1	<i>Fusarium annulatum</i>	668		
HQ165820.1	<i>Fusarium nygamai</i>	658		
HQ165823.1	<i>Fusarium delphinoides</i>	540		
HQ165831.1	<i>Fusarium acuminatum</i>	646		
EU859989.1	<i>Fusarium ciliatum</i>	550	Espagne	Bills <i>et al.</i> , (2009)
EU744736.1	<i>Fusarium langsethiae</i>	607	Argentine	Stenglein <i>et al.</i> , (2010)

EU744724.1	<i>Fusarium poae</i>	578			
AF333940.1	<i>Fusarium fractiflexum</i>	686	Etats unis	O'Donnell., (2001)	
AF333943.1	<i>Fusarium concentricum</i>	690			
U34516.1	<i>Fusarium phyllophilum</i>	689	Etats unis	O'Donnell et Cigelnik, (1997)	
U34498.1	<i>Fusarium sacchari</i>	689			
U34503.1	<i>Fusarium succisae</i>	681			
U34519.1	<i>Fusarium inflexum</i>	679			
U34523.1	<i>Fusarium buharicum</i>	661			
U34524.1	<i>Fusarium beomiforme</i>	667			
U34522.1	<i>Fusarium polyphialidicum</i>	641			
U85553.1	<i>Fusarium flocciferum</i>	726			O'Donnell, (1997)
U85554.1	<i>Fusarium lunulosporum</i>	726			
U85556.1	<i>Fusarium robustum</i>	657			
U85559.1	<i>Fusarium tumidum</i>	658			
U85560.1	<i>Fusarium venenatum</i>	654			
U34518.1	<i>Fusarium bactridioides</i>	690		O'Donnell et Cigelnik, (1997)	
U34514.1	<i>Fusarium dlamini</i>	679			
U34504.1	<i>Fusarium guttiforme</i>	681		O'Donnell et al., (1998)	
U61597.1	<i>Fusarium brevicatenulatum</i>	691			
U61598.1	<i>Fusarium bulbicola</i>	681			
U61601.1	<i>Fusarium concolor</i>	672			
U61602.1	<i>Fusarium denticulatum</i>	688			
U61603.1	<i>Fusarium lactis</i>	689			
U61605.1	<i>Fusarium pseudoanthophilum</i>	691			
U61606.1	<i>Fusarium ramigenum</i>	690			
U61607.1	<i>Fusarium nisikadoi</i>	707			
U61609.1	<i>Fusarium globosum</i>	689			
AF060375.1	<i>Fusarium miscanthi</i>	711			Cigelnik, (1998)
MF521457.1	<i>Fusarium lateritium</i>	676		Chine	Wang et al., (2017)

❖ Les séquences utilisées pour l'espèce *Fusarium oxysporum*

◆ Isolats :

En biologie un isolat représente une entité biologique non caractérisée.

**Tableau 06** : Les séquences de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique mitochondrial des isolats de *Fusarium oxysporum*

Entré GenBank	Organisme	Isolats	Taille (pb)	Pays	Année et auteurs
KJ415334.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO25	668	Etats unis	Ellis et al (2014)
KJ415335.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO69	668		
KJ415337.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	IL-2-2	669		
KJ415339.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO44	669		
KJ415338.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO124	669		
KJ415340.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO38	669		
KJ415342.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	91-162-2	669		

KJ415343.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	07-071	669		
KJ415344.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	08-078	669		
MH645142.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	C002SL	669	Malaisie	Abu Bakar et Mohd, (2019)
MK190689.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	DF2	706		
DQ831923.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BMP1385	727		
DQ831925.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BMP1388	727	Etats unis	Mbofung <i>et al.</i> ,(2007)
DQ831926.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BMP1389	727		
DQ831935.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL25431	727		
DQ435362.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BW-7135	666		
DQ435364.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BW-7099	666	Australie	Wang, (2010)
DQ435367.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BW-7108	663		
DQ435369.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BW-2613	666		
DQ435371.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BW-1517	663		
DQ435372.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BW-1537	663		
DQ435373.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BW-2631	663		
DQ435374.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BW-2631	663		
KJ415327.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	ATCC62913	669		
KJ415328.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	AR-6-22	669	Etats unis	Ellis et al., (2014)
KJ415329.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	IL-2-1	669		
KJ415331.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO79	669		
KJ415332.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	268	669		
EU246591.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	3608	666	Australie	Wang., (2007)
EU246597.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	2631	663		
EU246599.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	3522	662		
EU246603.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	6519	663		
EU246616.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	24646	666		
EU246619.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	1517	666		
DQ016160.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9348A	660	Etats unis	Stewart et al (2006)
DQ016167.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9448J	660		
DQ016173.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9348J	660		
DQ016176.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9449C	660		
DQ016177.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9449D	659		
DQ016178.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9449E	660		
DQ016180.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9449H	660		
DQ016181.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9449K	659		
DQ016182.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9450A	660		
DQ435361.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BW-7094	666		
KX197960.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	BS2-6	722	Chine	Bao. (2016)
EU418431.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	F10	709	Mexique	Valadez-Moctezuma et al (2008)
KX985848.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	F268	701	Chine	Sun, et al (2016)
KX985847.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	F04	704		
KX985850.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	F180	705		
KX985851.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	F203	704		
KX985853.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	F123	701		
EU313471.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	Fo062	704	Etats unis	Wunsch, et al (2007)
EU313477.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FoChz10c	704		

EU313491.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FoStL1a	704		Kim et al (2009)
EU313492.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FoVal42	704		
FJ965373.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	0720Q	575		
FJ965372.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	0701J	648		
AF433323.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	X108	672	Danemark	Skovgaard et al (2002)
AF433336.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	X312	672		
AF433337.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	X313	672		
AF433362.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	X408	672		
AF433361.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	X389	672		
AF433357.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	X358	672		
AF433356.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	X356	672		
EU246590.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	3556	666		

◆ **Souches**

Le terme souche signifie un échantillon identifié, caractérisé et référencié.

**Tableau 07** : les séquences de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique mitochondrial des souches de *Fusarium oxysporum*

Entrée GenBank	Organisme	Souche	Taille (pb)	Pays	Auteur et année
KP693852.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO23	669	Italie	Lanubile.,et al (2015)
KP693853.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO43	669		
KP693854.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO57	669		
KP693855.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO62	669		
KP693856.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO35	669		
KP693857.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO93	681		
KP693858.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	07-242	681		
KP693859.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO61	681		
KP693860.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO72	681		
KP693861.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO117	681		
KP693862.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO59	668		
KP693863.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NE-5-18sm	668		
KX218397.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	R1.8	704	Mexique	Rausto-Romo et al (2010)
KX218398.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	T1.6	704		
KP693837.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	LAPS152	598	Italie	Lanubile et al (2015)
KP693836.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9840	598		
KP693839.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	CML755	598		
KP693840.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	CML1098	598		
KP693841.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO132	598		
KP693842.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FOPS023	598		
KP693843.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FOPS018	598		
KP693844.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL34936	598		
KP693845.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	ATCC 16608	598		
KP693846.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	LAPS154	597		
KP693847.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	LAPS153	597		

KP693850.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO5	668		
KP693851.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FO3	668		
KP693820.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FOP31	613		
KP693821.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	LAPS155	613		
KP693823.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FOP52	611		
KP693822.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	LAPS157	611		
KP693824.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FOPS019	612		
KP693826.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FOPS026	598		
KP693827.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FOP16	597		
KP693830.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	CML144	598		
KP693829.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	2556-1	597		
KP693833.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	9455	597		
KP693834.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL54002	597		
KP693835.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	FOP8	597		
DQ415398.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	STE-U 6068	642		
DQ415399.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	STE-U 6056	643	Afrique du sud	Lubbe et al (2006)
DQ415402.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	STE-U 5306	642		
DQ415403.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	STE-U 5312	643		
DQ415404.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	STE-U 5777	643		
FJ665068.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	CAV202	645		
FJ665069.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	CAV261	638	Afrique du sud	Fourie et al (2009)
FJ665070.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	CAV246	645		
FJ665072.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	CAV231	645		
FJ665073.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	CAV274	645		
AY527599.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL32933	666		
AY527601.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL32938	666	Etats unis	O'Donnell et al (2004)
AY527605.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL32943	666		
AY527609.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL32950	666		
AY527611.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL32952	666		
AY527614.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL32956	666		
AY527617.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL32960	666		
AY527619.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL32999	666		
DQ415390.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	STE-U 5305	643		
DQ415389.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	STE-U 6063	643	Afrique du sud	Lubbe et al, (2006)
DQ415394.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	STE-U 6065	643		
DQ415395.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	STE-U 5647	643		
AY527540.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 25378	666		
AY527543.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 26180	664	Etats unis	O'Donnell et al., (2004)
AY527547.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 26368	652		
AY527558.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 26393	666		
AY527559.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 26394	654		
AY527566.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 28244	666		
AY527572.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 28685	666		
AY527577.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 32509	666		
AY527579.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 32512	666		
AY527582.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 32516	666		

AY527584.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 32525	666		
AY527591.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 32921	666		
AY527595.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 32929	666		
AY527597.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 32931	652		
GQ355907.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	Q12	628	Korée du sud	Stewart., (2009)
GQ355909.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	Q17	630		
GQ355917.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	Q54	625		
GQ355918.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	Q22	639		
GQ355919.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	Q10	629		
KF181222.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	L43	701	Chine	Wen et Nan (2013)
HQ114271.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	SD3183	660	Etats unis	Yu et Babadoost (2013)
HQ114273.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	WA3065	660		
HQ114274.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	SD3152	661		
HQ114275.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	WA3008	661		
AF077377.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	NRRL 28179	683	Etats unis	Cigelnik (1998)

◆ Les formes spéciales

Une forme spéciale (f. sp.) est une forme physiologique rassemblant des souches pathogènes d'une même espèce végétale (ou d'un même genre ou famille). La notion de forme spéciale ne fait appel à aucun critère morphologique ou biochimique.

**Tableau 08** : les séquences de la petite sous-unité de l'ARN ribosomique mitochondrial des formes spéciales de *Fusarium oxysporum*

Entrée GenBank	Organisme	Taille (pb)	Pays	Auteurs et année	
DQ831927.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>batatas</i>	727	Etats unis	Mbofung 2007	
DQ831928.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>callistephi</i>	727			
DQ831930.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>matthiolae</i>	727			
DQ831931.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	727			
DQ831932.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>rhois</i>	727			
DQ831933.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>heliotropii</i>	727			
DQ831934.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i>	727			
DQ831945.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>	728			
GU166124.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>	525			Outhwood, (2012)
DQ831936.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>fabae</i>	727			Mbofun, (2007)
DQ831938.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>spinaciae</i>	728			
DQ831939.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>opuntiarum</i>	728			
DQ831940.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>asparagi</i>	727			
DQ831941.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	727			
DQ831942.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vasinfectum</i>	728			
DQ831943.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>melonis</i>	728			
KU158781.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i>	571	Inde	Kashyap <i>et al.</i> , (2015)	
FJ665077.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lupini</i>	645	Pays-Bas	Fourie <i>et al.</i> , (2009)	
EF437317.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>gladioli</i>	691		Validov <i>et al.</i> , (2007)	
AF008472.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>perniciosum</i>	682	Etats unis	O'Donnell <i>et al.</i> , (1998)	
AF008477.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>tuberosi</i>	681			
KM102488.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>vanillae</i>	640	Australie	Pinaria, et al (2014)	
AF362199.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>	673	Danemark	Skovgaard, 2001	
AF362200.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>momordicae</i>	674			
AF362203.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>psi</i>	674			
EF437313.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-cucumerinum</i>	693	Pays-Bas	Validov et al 2007	
EF437315.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lilii</i>	691			
EF437318.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>narcissi</i>	689			
EF437322.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>tulipae</i>	690			
FJ665075.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-lycopersici</i>	645	Afrique du sud	Fourie <i>et al.</i> , (2009)	
FJ665079.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>raphani</i>	645			
FJ665081.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lini</i>	645			
FJ665082.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>dianthi</i>	659			
AY527538.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>aechmeae</i>	679	Etats unis	O'Donnell <i>et al.</i> , (2004)	

EU313483.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>medicaginis</i>	703		Wunsch <i>et al.</i> , (2007)
EU313503.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>loti</i>	704		
AF008451.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>canariensis</i>	682		O'Donnell <i>et al.</i> , (1998)
AF008461.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>erythroxyli</i>	681		
AF008471.1	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>passiflorae</i>	681		

## I.5.2. Alignement multiple

### I.5.2.1. ClusterW

ClusterW est une méthode progressive et globale de construction d'alignement multiple, à partir d'un ensemble de séquence nucléotidique ou protéique, on calcule une matrice de similarité en comparant toutes les séquences par paire, l'algorithme utilisé, celui de Needleman et Wunsch, recherche le meilleur alignement global de chaque paire, cette matrice est utilisée pour reconstruire un arbre de guidage, qui est ensuite parcouru pour déterminer à chaque itération la paire la plus proche à la première itération.

Les professionnels du clavier utilisent ClustalW dans sa version ligne de commande, qui *grosso modo* est incompréhensible pour un biologiste normalement constitué, la plupart d'entre eux utilisent plutôt ClustalW sur un site distant via une interface web

### I.5.2.2. MUSCLE

Est un logiciel qui permet d'obtenir d'excellents résultats, car il utilise de nombreuses astuces à la fois pour être rapide et pour obtenir de bon alignement, le programme s'articule autour de trois étapes exécutées successivement, une description synthétique de chacune de ces étapes est la suivante :

#### ❖ Alignement progressif

Elle utilise la même stratégie que ClusterW, en calculant une matrice de similarité entre les séquences. Cependant à la différence de ClustalW les comparaisons de paire de séquence sont réalisées en dénombrant le k-mer (mot identique de longueur k)

#### ❖ Amélioration progressive

Le principe est d'utiliser l'alignement multiple pour recalculer un arbre, cet arbre est ensuite comparé à celui utilisé précédemment. S'il y a des différences alors un nouvel

alignement est calculé. Cette étape est répétée tant qu'il existe des différences, à concurrence d'un nombre prédéfini d'itération.

#### ❖ **Raffinement**

Lors de cette étape, il utilise chaque nœud interne de l'arbre recalculé en deux pour diviser en deux parties l'alignement, il calcule ensuite un profil pour chaque groupe, puis il aligne les deux groupes uniquement à partir des profils, ce nouvel alignement n'est retenu que s'il permet d'obtenir un meilleur score cette étape et aussi répété en choisissant un nouveau nœud, tant que l'alignement est amélioré.

Pour résumer, l'étape 1 apporte clairement un gain en vitesse tandis que les étapes 2 et 3 permettent un gain substantiel en sensibilité. (Tagu et Risler, 2010).

#### **I.5.2.3. Phylogeny.fr**

Le site Phylogeny.fr a été conçu pour fournir une plate-forme de haute performance qui enchaîne de manière transparente les programmes d'analyse phylogénétique dans un pipeline complet et flexible. Il donne aussi de la chance aux biologistes non expérimenté d'effectuer des analyses sophistiqués à l'aide de ses outils performants, on peut accéder à ce site par l'adresse suivante <http://phylogeny.lirmm.fr/phylo.cgi/index.cgi>.

La plate-forme de ce site propose un pipeline de phylogénie pouvant être exécuté selon trois principaux modes (one click, advanced, a la carte), le mode utilisé dans ce mémoire est le :

#### ❖ **Mode avancé « Advanced mode »**

Ce mode propose la succession des mêmes programmes mais les utilisateurs peuvent choisir les étapes à suivre (alignement multiple de séquences, reconstruction phylogénétique, dessin d'arbre) et les options de chaque programme (MUSCLE, ClustalW, T-coffee).

#### **I.5.1. Reconstruction phylogénétique**

#### **I.5.2. Méthodes de maximum de vraisemblance**

Ces méthodes sont les dernières à avoir été développées. Elles sont utilisées pour traiter, spécifiquement, la reconstruction phylogénétique à partir des séquences nucléotidiques. Dès lors, elles ont pu intégrer, au maximum, les connaissances acquises sur

les particularités des substitutions nucléotidiques, d'autant qu'elles sont basées sur l'utilisation de modèles qui décrivent précisément la fréquence des différents types de substitution, en fonction de différents paramètres : ration transition/transversion, fréquences des différents nucléotides. Leur principe est de chercher, parmi l'univers des arbres possibles celui qui maximise la vraisemblance de l'arbre, en fonction du modèle de substitution nucléotidique choisit et du jeu de données analysé. La vraisemblance correspond à la probabilité d'obtenir les données observées suivant le modèle que l'on a spécifié.

Un des intérêts de cette méthode est qu'elle permet de déterminer les valeurs que doivent prendre les différents paramètres du modèle choisi, afin qu'elle maximise la vraisemblance de l'arbre retenu, en fonction des données observées.

Ce type de méthode est exigeant en temps de calcul. Comme pour les méthodes basées sur la parcimonie, elle utilise des heuristiques pour réduire l'espace exploré des arbres possibles. Parmi les logiciels proposant ce type de méthode de reconstruction phylogénétique, on peut citer les logiciels gratuits PHYLIP, PhyML, et le logiciel payant PAUP.

### ❖ **Le Bootstrap**

La construction des arbres phylogénétiques est basée sur des hypothèses évolutionnistes qui nécessitent des corrections ; cela induit des erreurs au niveau topologiques et conduit à des erreurs d'interprétation. Pour y remédier, il existe une méthode, le Bootstrap, qui permet de vérifier la robustesse et la fiabilité de l'arbre obtenu avec telle ou telle méthode de construction.

Le principe général du bootstrap est de réaliser des modifications sur les colonnes de l'alignement en les déplaçant aléatoirement de leurs sites initiaux pour retrouver le même arbre car en permutant les colonnes de leurs sites initiaux, nous supposons que ceux-ci évoluent de manière indépendante. À partir de l'alignement multiple principal, on construit de nouveaux alignements qui sont obtenus en permutant les colonnes (les sites). Pour chaque nouvel alignement, on construit une matrice de distances, puis l'arbre correspondant.

### **I.5.3. Dessin des arbres**

- Les arbres ont été dessinés avec FigTree v1.4.4
- L'évaluation de la robustesse des arbres, Bootstrap à 100 réplifications, a été réalisé avec le model de substitution Juks-cantor, paramètre de distribution  $\Upsilon$  ; le rapport de transition/transversion a été estimé à 4.

# *Matériels et Méthodes*

## ***II. Matériel et méthodes***

### **II.1. Alignements des séquences**

#### **II.1.1. ClusterW**

ClusterW est un programme qui met en action les principes de l'alignement progressif tout en essayant d'échapper au piège des erreurs qui peuvent se produire au début de l'alignement et nuire à sa qualité dans la fin.

Dans ClusterW, les auteurs essayent donc de respecter la démarche progressive mais en apportant des modifications et des nouvelles considérations.

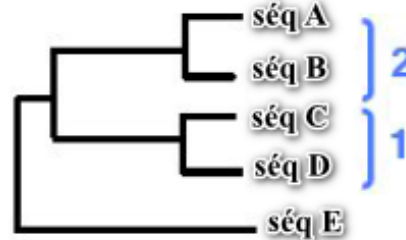
- La première étape consiste à aligner les paires de séquences afin de déterminer la matrice des distances. Il utilise des matrices de substitutions différentes pour la programmation dynamique à des moments différents de l'alignement. Les matrices changent selon la divergence ou la convergence des deux séquences à aligner. L'avantage est que les séquences divergentes sont plus ou moins bien alignées.
- Dans la deuxième étape, ClusterW utilise la méthode NeighbourJoining pour construire un arbre guidage et calculer les poids des séquences.
- La troisième étape est alignement progressif proprement dit, ClusterW n'affecte pas la même valeur de pénalité d'un gap quel que soit sa position dans la séquence mais essaye de distinguer entre les gaps du début, du milieu et de la fin de la séquence (figure 05).

Alignement de toutes les paires possibles et établissement d'une matrice de distances basée sur les scores des alignements

SéqB	0.17			
SéqC	0.59	0.60		
SéqD	0.59	0.59	0.13	
SéqE	0.77	0.77	0.75	0.75
	SéqA	SéqB	SéqC	SéqD



Construction d'un arbre de guidage à l'aides des distances d'alignement calculées précédemment



Alignement des séquences en suivant l'ordre déterminé par l'arbre de guidage



Figure 05 : les étapes de ClusterW

### II.1.2. MUSCLE

La méthode MUSCLE emploie deux mesures de distance pour une paire de séquences : une distance de k-mer de (pour une paire non alignée) et le Kimura distance (pour une paire alignée). Un k-mer est une subséquence contiguë de longueur k également connu sous le nom de mot ou k-tuplet. Les séquences homogènes possèdent plus de k-mers en commun que prévu par hasard. Cette mesure n'exige pas un alignement, elle donne un avantage significatif de vitesse contrairement à Kimura (Edgar et Batzoglou,2006).

La méthode MUSCLE peut être décrite en trois étapes essentielles (figure) :

- **L'étape 1** : Le but de la première étape est de produire rapidement un alignement multiple avec plus d'exactitude possible. Ceci est basé sur la détermination d'une matrice D1 de distances à partir de la distance de k-mers entre toutes les paires de séquences.

La matrice obtenue est alors clustérisée par UPGMA, pour produire un arbre binaire TREE1. Un alignement progressif MSA1 est construit alors en suivant l'ordre dicté par l'arbre.

- **Étape 2** : La source d'erreur principale à l'étape progressive est la mesure approximative des distances k-mer, qui a comme conséquence un arbre sous optimal.

MUSCLE re-estime donc l'arbre en utilisant la distance de Kimura, qui est plus précise mais exige l'utilisation d'un alignement dans ce cas c'est MSA1 donnant la matrice D2.

D2 va subir le même procédé de clustérisations afin de produire un arbre binaire TREE2 et progressivement construire l'alignement MSA2

- **Étape 3** : C'est une étape d'amélioration. TREE2 est divisé en deux sous arbres en supprimant la branche qui les relie. Celle-ci est choisie en parcourant l'arbre à partir de la racine.

Le profil de l'alignement multiple dans chaque sous arbre est alors calculé. Un nouvel alignement multiple a produit en réalignant les deux profils. Si le score de PS est amélioré, le nouvel alignement est gardé, autrement il est rejeté et l'étape 3 est alors répétée jusqu'à la convergence ou jusqu'à ce qu'une limite définie soit atteinte. Considérée la plus rapide et plus exacte, la méthode MUSCLE est la plus répandue actuellement avec ClustalW.

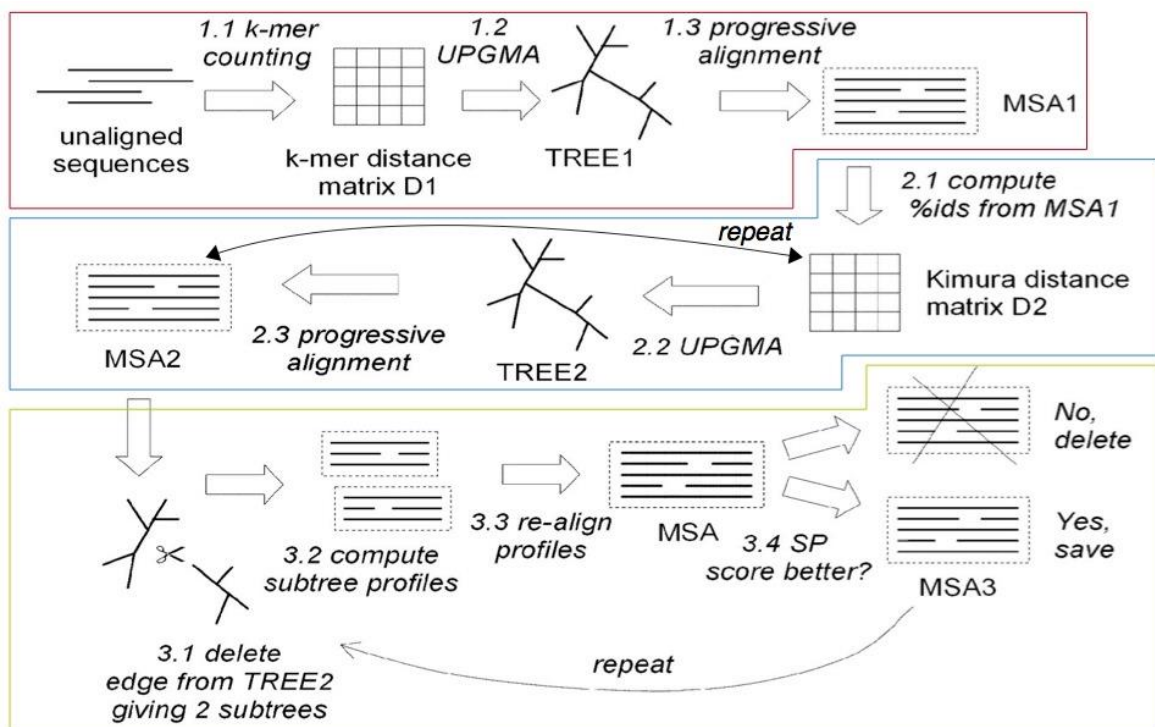


Figure 06 : Déroulement de l'alignement MUSCLE (CORRE, 2013)

## II.2. Reconstruction phylogénétique

### II.2.1. Méthodes de maximum de vraisemblance

Répond à la question : Quelle est la probabilité d'observer les données considérant un modèle particulier d'évolution des séquences (processus et arbre) ?

#### ❖ Schéma algorithmique général :

- Essayer toutes les topologies. (Très long jusqu'à la mise au point de l'algorithme de *pruning*).
- Travaille caractère par caractère (indépendance).
- Prendre la meilleure phylogénie globale.

Propriétés des estimations par Maximum de vraisemblance (Fisher 1922)

- Bonne consistance : Résultats d'une convergence vers la valeur correcte du paramètre
- Bonnes efficacités : ont la plus petite variance possible autour de la vraie valeur du paramètre

#### ❖ Le Bootstrap

La méthode la plus utilisée pour vérifier la robustesse des nœuds, les étapes principales du Bootstrap sont les suivantes :

1. A partir des séquences réaliser l'alignement multiple global
2. Construire l'arbre qui en découle et interpréter ses nœuds
3. A partir de l'alignement multiple global, remplacer, par permutations, plusieurs colonnes aléatoirement de leurs positions initiales.
4. Ces alignements nouveaux, déduits des permutations des colonnes vont permettre de construire autant d'arbres.
5. Calculer le nombre de fois où le nœud de l'arbre principal est retrouvé sur les arbres secondaires construits par les permutations de l'alignement principal. Le nombre de permutations réalisées au hasard à partir de l'alignement principal est 1000 répliques d'où la nécessité d'un programme informatique.
6. Le pourcentage qui représente la concordance d'un nœud retrouvé en même temps sur l'arbre principal et sur les 1000 arbres construits à partir des permutations dans

l'alignement principal représente la valeur de Bootstrap. C'est le % de réplication d'un même nœud.

7. Les branches de l'arbre principal doivent être soutenues par les arbres secondaires par une valeur de Bootstrap  $\geq 90\%$  pour qu'elles soient significatives.

# *Résultats et discussions*

### III. Résultats et discussion

#### III.1. Genre *Fusarium*

La classification du genre *Fusarium* reste délicate à réaliser. Afin de proposer des modèles de classification, les chercheurs ont utilisé les analyses phylogénétiques pour effectuer la comparaison hiérarchique et la taxonomie des espèces de ce genre (Wanatabe *et al.*, 2011).

La figure 07 représente la reconstruction phylogénétique basée sur la méthode maximum de vraisemblance d'alignement de 67 séquences de la sous unité de l'ARNr mitochondrial d'espèces de *Fusarium*.

L'arbre phylogénétique, ainsi construit, révèle la présence de 5 classes. Ces regroupements sont comparables à ceux révélés par Wanatabe *et al.*, (2011). En effet, dans l'étude précitée, en étudiant les séquences de la sous unité 18S, il a été déterminé 7 groupes, soit deux en plus (Groupes II et IV) et avec de légères différences.

Des espèces étudiées par :

- La classe I contient les espèces : *F. merismoides*, *F. larvarum* et *F. ciliatum* ;
- La classe III pour l'espèce : *F. solani* ;
- La classe V regroupe les espèces *F. verticillioides*, *F. pseudonygamai*, *F. musae*, *F. subglutinans*, *F. nygamai*, *F. miscanthi*, *F. bulbicola*, *F. dlamini*, *F. succisae*, *F. foetens*, *F. oxysporum*, *F. acutatum*, *F. inflexum*, *F. redolens*, *F. napiforme*, *F. thapsinum*, *F. phyllophilum*, *F. fractiflexum*, *F. concentricum*, *F. xylarioides*, *F. brevicatenuatum*, *F. denticulatum*, *F. neoceras*, *F. proliferatum*, *F. beomiforme*, *F. nisikadoi*, *F. pseudoanthophilum*, *F. ramigenum*, *F. globosum*, *F. annulatum*, *F. guttiforme*, *F. begoniae*, *F. circinatum*, *F. bactridioides*, *F. fujikuroi*, *F. anthophilum*, *F. lactis*, *F. sacchari* et *F. commune* ;
- La classe VI contient les espèces *F. avenaceum* et *F. tricinctum* ;
- La classe VII regroupe les espèces *F. incarnatum*, *F. equiseti*, *F. sambucinum*, *F. culmorum*, *F. venenatum*, *F. tumidum*, *F. poae*, *F. kyushuense*, *F. robustum*, *F. langsethiae*, *F. lunulosporu*, *F. flocciferum*, *F. udum* et *F. sporotrichioides*.

Leslie *et al.*, (2006) ont suggéré des relations étroites entre *F. avenaceum* et *F. acuminatum* par le biais de l'études d'aspects morphologiques et moléculaires, tandis que

Turner *et al.*, (1998) ont déclaré que *F. avenaceum* et *F. tricinctum* sont plus liées entre elles qu'avec *F. acuminatum*. Cependant, dans notre étude, nous avons constaté que ces trois espèces sont équidistantes.



**Figure 07 :** Reconstruction phylogénétique par le maximum de vraisemblance des séquences de la sous unité de l'ARNr mitochondrial d'espèces de *Fusarium*. La longueur des branches est proportionnelle au nombre de substitutions de nucléotides estimées. Les valeurs de

Pour définir les espèces du genre *Fusarium*, trois concepts ont été élaborés :

- **Le concept morphologique** : basé sur une morphologie ‘type’ d’un individu qui représente la variation d’intérieur d’ensemble de l’espèce ;
- **Le concept biologique** : définit l’espèce comme un groupe de population qui se croisent réellement ou potentiellement entre elles ;
- **Le concept phylogénétique** : groupe de membres qui sont issus d’un ancêtre commun et qui possèdent une combinaison de caractéristiques.

La diversité et la dispersion biogéographique rendent les essais de classification non suffisants ; ce qui rend ce domaine en perpétuel recherche et développement (Summerell *et al.*, 2010 ; Wanatabe *et al.*, 2011).

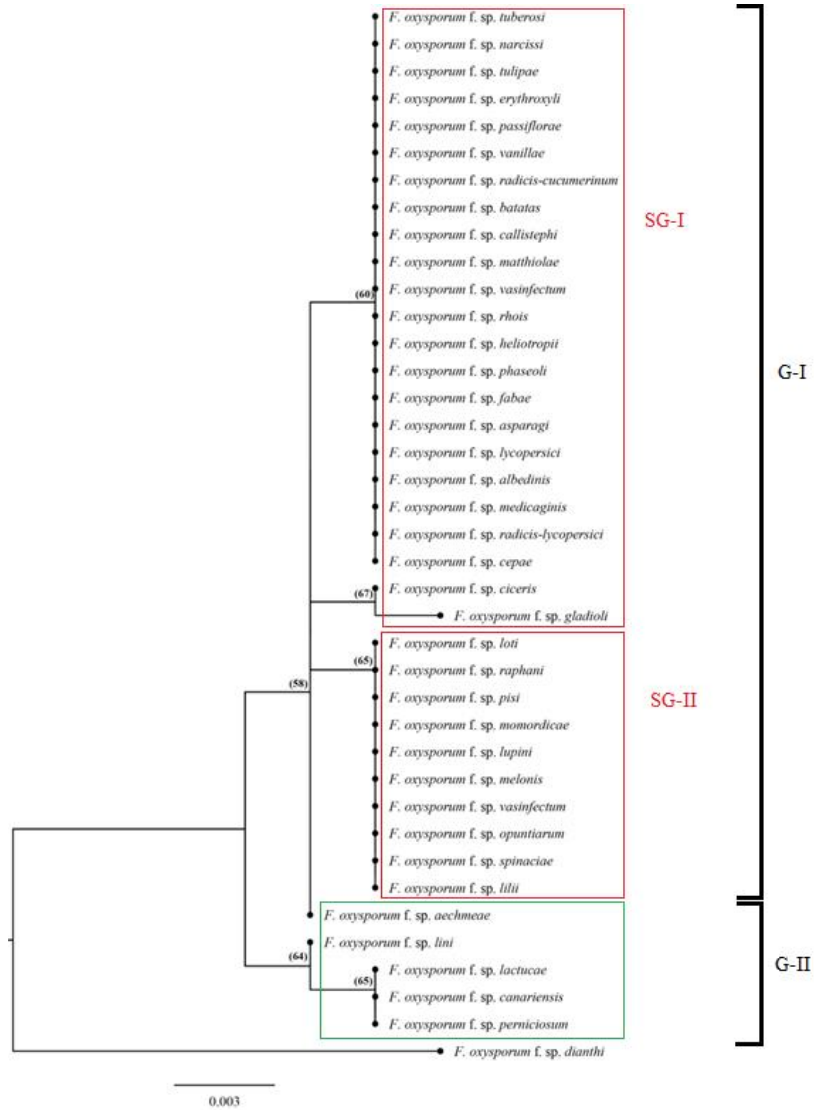
### III.2. L’espèce *Fusarium oxysporum*

#### III.2.1. Formes spéciales (*formae speciales*)

Les formes spéciales de *F. oxysporum* interagissent avec leurs hôtes de manière spécifique ; ce sont des formes physiologiques. Les critères morphologiques ne permettent pas de distinguer les formes spéciales. De manière classique, ceci était rendu possible par le test du pouvoir pathogène et le test de compatibilité végétative (Ouinten, 1996). Les outils moléculaires ont rendu possible la recherche de leurs origines géographiques tels que pour *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* ayant été importée d’Israël aux Etats-Unis (Rosewich *et al.*, 1999) et la race 1 de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* dispersé dans le monde entier avec des boutures de banane (Ploetz, 2015) ; il a même été établi un scénario probable de dissémination du bayoud (*F. oxysporum* f. sp. *albedinis*), en Algérie, en utilisant un élément transposable comme sonde de type fingerprint (Ouinten, 1996)

La figure 08 représente un arbre phylogénétique construit avec 39 séquences de la sous unité de l’ARNr mitochondrial d’espèces de *Fusarium* de formes spéciales de l’espèce *Fusarium oxysporum*. Deux principaux groupes ont été distingués, le premier rassemble deux sous-groupes (Bp>60%). le premier, (S-GI), comprend les formes spéciales suivantes : *F. oxysporum* f. sp. *tuberosi*, *F. oxysporum* f. sp. *narcissi*, *F. oxysporum* f. sp. *tulipae*, *F. oxysporum* f. sp. *erythroxyli*, *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, *F. oxysporum* f. sp. *vanillae*, *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, *F. oxysporum* f. sp. *batatas*, *F. oxysporum* f. sp. *callistephi*, *F. oxysporum* f. sp. *matthiolae*, *F. oxysporum* f. sp.

*vasinfectum*, *F. oxysporum* f. sp. *rhois*, *F. oxysporum* f. sp. *heliotropii*, *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. oxysporum* f. sp. *fabae*, *F. oxysporum* f. sp. *asparagi*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*, *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis*, *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* et *F. oxysporum* f. sp. *cepa*.



**Figure 08 :** Reconstruction phylogénétique par le maximum de vraisemblance des séquences de la sous unité de l'ARNr mitochondrial de formes spéciales de *Fusarium oxysporum*. Les valeurs de Bootstrap sont indiquées sur les nœuds (sur 100 réplifications).

Le deuxième sous-groupe, (S-GII), contient *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, *F. oxysporum* f. sp. *loti*, *F. oxysporum* f. sp. *raphani*, *F. oxysporum* f. sp. *lisi*, *F. oxysporum* f. sp. *momordicae*, *F. oxysporum* f. sp. *lupini*, *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *F. oxysporum* f. sp. *opuntiarum*, *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*, *F. oxysporum* f. sp. *lilii* et *F. oxysporum* f. sp. *aechmeae*.

Le deuxième groupe (GII) contient *F. oxysporum* f. sp. *lini*, *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*, *F. oxysporum* f. sp. *canariensis* et *F. oxysporum* f. sp. *perniciosum*.

En se basant sur le pouvoir pathogène, il a été identifié un nombre très important de formes spéciales ; près de 150 associations "forme spéciales-hôte spécifiques" dont la différenciation entre les taxons infraspécifiques est très complexe (Baayen et al., 2000).

Un nombre important de travaux ont établi qu'une forme spéciale appartient à un ou plusieurs Groupe de Compatibilité Végétative (GCV) ; avec des lignées clonales ayant des empreintes uniques de RFLP et RAPD. Il existe des formes spéciales qui peuvent être pathogènes pour le même Genre d'hôtes telle que *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici* et *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* pour la tomate dont les méthodes de caractérisation ont été développées (Attitalla et al., 2004).

Pour distinguer les souches et les isolats de *F. oxysporum*, d'autres techniques de spectroscopie ont été utilisées telle que la spectroscopie infrarouge à transformeur de Fourier à Réflectance Totale Atténuée (FTIR-ATR) (Salman et al., 2011). Les souches et les isolats, une fois caractérisés, seront classés dans des formes spéciales qui possèdent un hôte voir plusieurs, mais pouvant, aussi, coloniser d'autres espèces végétales, par voie endophyte. Un ensemble de souches et d'isolats peuvent être monophylétiques, donc appartenant à une seule lignée clonale. De même, les formes spéciales peuvent être polyphylétiques ; comprenant, ainsi, plusieurs lignées clonales relativement éloignées (O'Donnell et al., 2004 ; Bayona et al., 2011).

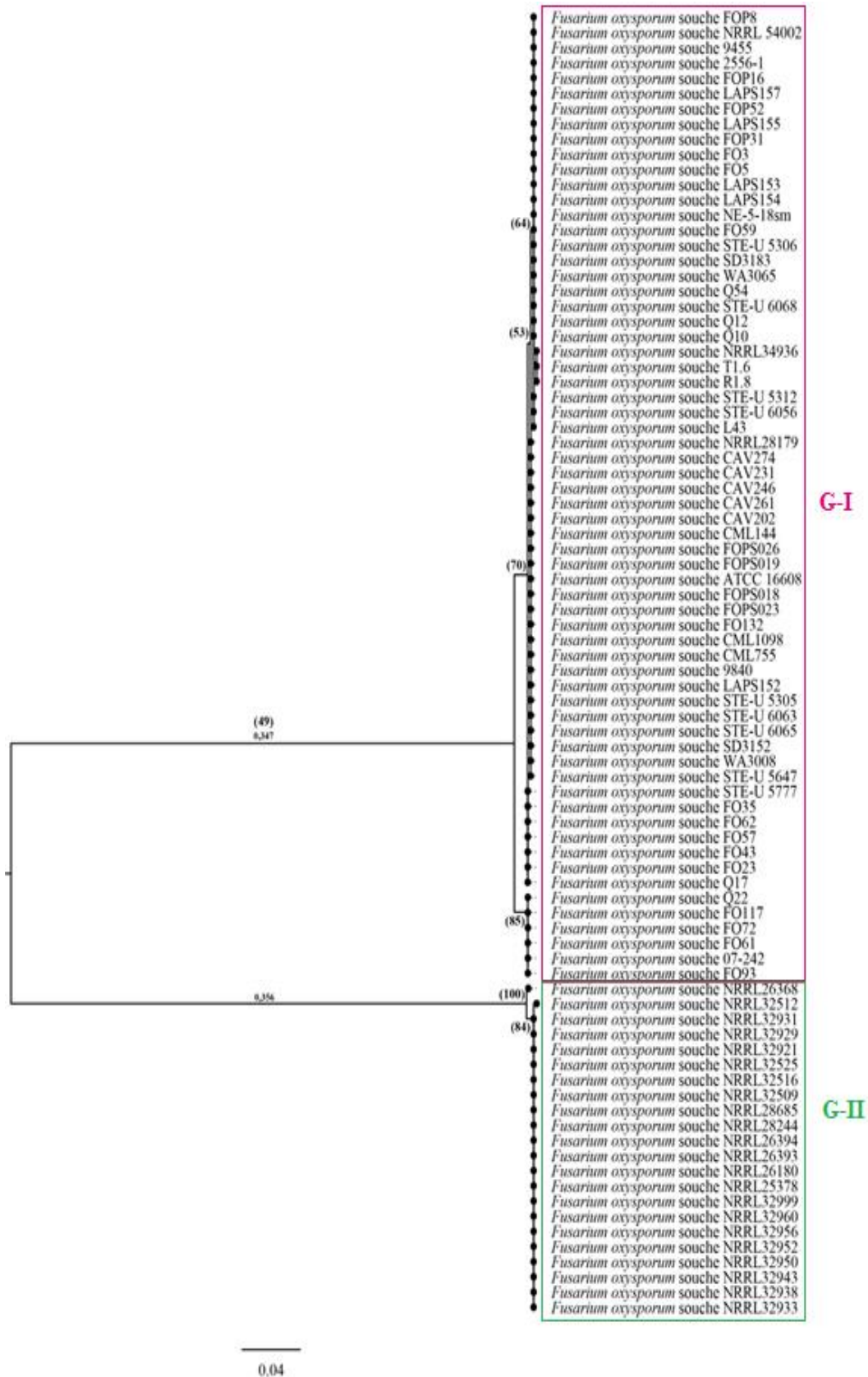
Il est à noter que dans notre cas toutes les formes spéciales étudiées se sont regroupées à une distance maximale de 1% ; ce qui milite en faveur d'une origine clonale.

### **III.2.2. Souches et isolats**

Les phylogrammes dans les figures 09 et 10 montrent les relations phylogénétiques entre les séquences d'ARNr de 88 souches et de 65 isolats de *Fusarium oxysporum*.

Dans la figure 09, l'arbre est arbitrairement enraciné sur deux grands clades. Dans le premier clade on retrouve des souches provenant de différentes lignées clonales. Une relation similaire a été établie par Lubbe *et al.*, (2006) et Bayonaa *et al.*, (2011), en analysant le pouvoir pathogène.

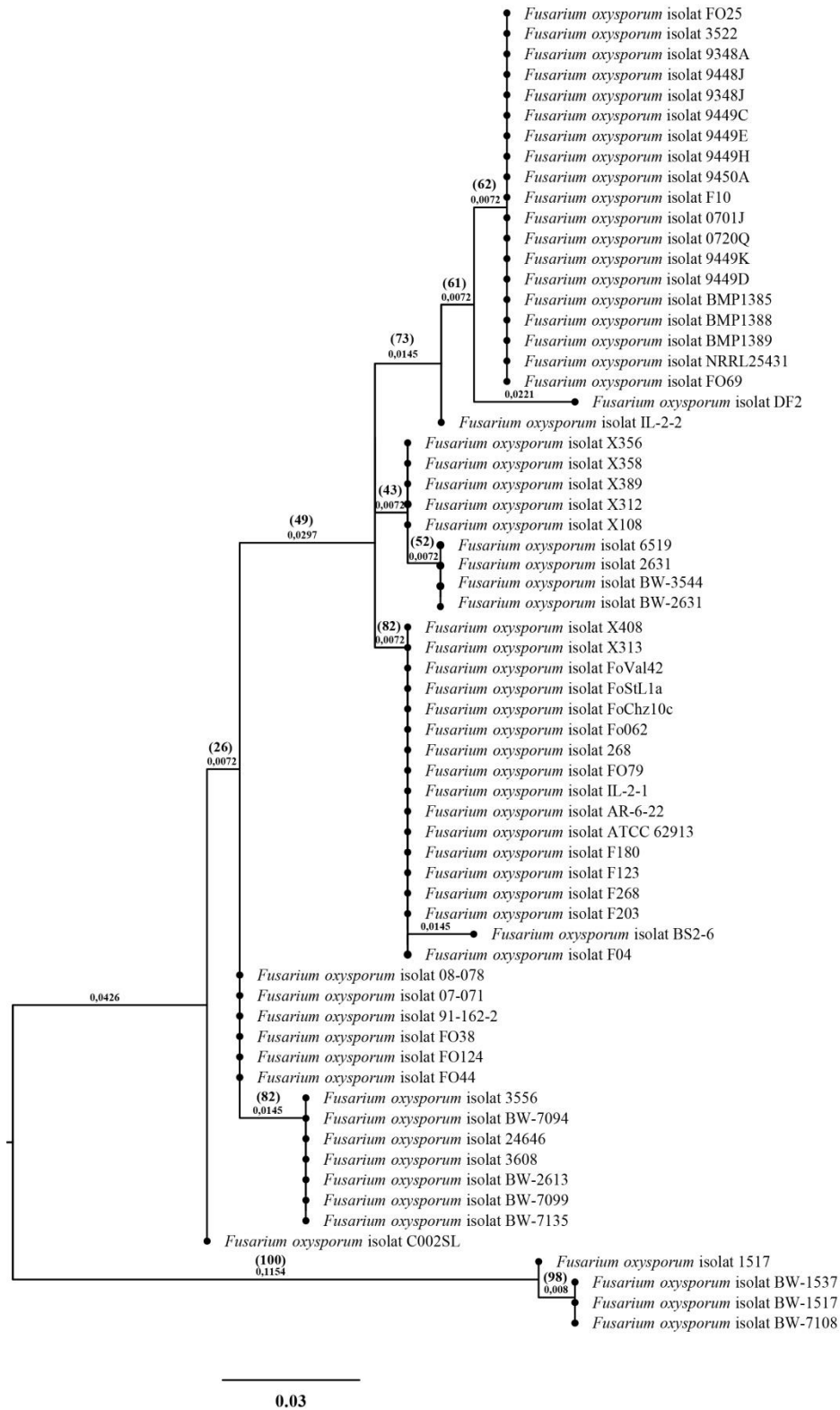
Dans le second, on ne retrouve que les souches NRRL ce qui reflète une lignée clonale de source clinique ; ce qui correspond aux résultats révélés par O'Donnell *et al.*, (2004), en étudiant des critères morphologiques.



**Figure 09 :** Reconstruction phylogénétique par le maximum de vraisemblance des séquences d'ARNr des souches de *Fusarium oxysporum*. La longueur des branches est montrée à côté des branches. Les valeurs de Bootstrap sont indiquées sur les nœuds (sur 100 réplifications)

Dans la figure 10, l'arbre phylogénétique représente les isolats de *F. oxysporum* de différentes sources ayant formé des groupes pouvant être liés à une ou bien plusieurs lignées clonales, à l'aide du programme BLAST de NCBI.

L'identification des isolats inconnus est réalisée par un alignement de séquences avec les bases de données génomiques ; l'élément important étant le pourcentage d'identité. Un tel travail a été réalisé par Abu Bakar *et al.*, (2019) sur des isolats récoltés à partir des feuilles de *Hymenocallis littoralis*.



**Figure 10 :** Reconstruction phylogénétique par le maximum de vraisemblance des séquences d'ARNr mitochondrial des isolats de *Fusarium oxysporum*. La longueur des branches est montrée à côté des branches. Les valeurs de Bootstrap sont indiquées sur les nœuds (sur 100 répliques)

La majorité des études sur le *Fusarium oxysporum* se sont concentrées sur les isolats phytopathogènes, en négligeant les souches non-pathogènes. À l'exception de certaines souches non pathogènes utilisées dans la lutte biologique, il existe une grande corrélation génétique entre les isolats de *Fusarium oxysporum* pathogènes et non-pathogènes. Ceci a conduit des chercheurs à conclure que certains isolats pathogènes pouvaient provenir de souches non-pathogènes en raison de mutations. Toutefois, il a été constaté que certains isolats non-pathogènes avaient évolué à partir de souches pathogènes, grâce à une perte de virulence (Bogale *et al.*, 2006).

Suite à des processus expérimentaux, les chercheurs ont montré que pour convertir une souche non-pathogène en souche pathogène, il a suffi de provoquer le transfert de deux chromosomes spécifiques à la lignée, entre les souches de *F. oxysporum*. Ceci explique la probable origine polyphylétique de la spécificité d'hôte et l'émergence possible de nouvelles lignées pathogènes (Ma *et al.*, 2010).

Notre étude montre une fois de plus la complexité de l'espèce *F. oxysporum* et l'ambiguïté de la notion du pouvoir pathogène, sur le plan génétique. En effet, il est très difficile de dresser une relation directe entre ces deux notions.

# *Conclusion*

## *Conclusion et perspective*

Dans les espèces biologiques, les populations présentent diverses variations (compositions biochimiques, morphologiques, physiologiques, génétiques ...etc.). Ainsi, dans l'espèce *F. oxysporum*, sont regroupées des entités biologiques pathogènes et non pathogènes. Parmi les formes pathogènes, certaines présentent une spécificité d'attaque ; d'où la notion de forme spéciale.

Les techniques basées sur les caractéristiques morphologiques permettent de distinguer les espèces du genre *Fusarium* mais jamais les souches et isolats d'une même espèce (*F. oxysporum*, par exemple). Ainsi il a été nécessaire d'utiliser d'autres techniques permettant d'identifier les individus et /ou évaluer leur proximité génétique.

Au cours des deux dernières décennies, des chercheurs ont développé de nouvelles techniques pour analyser les relations intraspécifiques de *F. oxysporum* telles que les GCV, les petites sous-unité mitochondrial (ADNmt) les Polymorphismes de Longueur des Fragments de Restriction (RFLP), les Polymorphismes des Longueurs des Fragments Amplifiés (AFLP) et l'Amplification Aléatoire d'ADN Polymorphe (RAPD).

Au terme de ce travail, nous dressons ci-après quelques points en guise de conclusion :

- Les espèces du genre *Fusarium* regroupées au sein d'une même classe nous a permis de montrer les relations entre elles (cas de *F. avenaceum*, *F. acuminatum* et *F. tricinctum*) ;
- La diversité complexe de *Fusarium oxysporum* prouve que pour établir une classification performante, il faudrait utiliser divers outils d'analyse (morphologique, physiologique, et biochimiques) ;
- L'ensemble des souches, des isolats et des formes spéciales peuvent être monophylétiques ou bien polyphylétiques ;
- Les isolats de *F. oxysporum* de différentes sources sont formés dans des groupes pouvant être liés à une ou bien plusieurs lignées clonales

Il est à noter que ce travail n'est qu'une ébauche dans l'analyse de la phylogénie de *F. oxysporum*. Il serait intéressant, dans un travail futur de superposer l'informations des séquences des formes spéciales et des espèces hôtes correspondantes. Ça permettrait d'établir une relation hôte-parasite directe, d'une part, et, d'autre part, dresser la probable voie mutationnelle ayant permis d'obtenir tant de formes spéciales.

*Références*  
*Bibliographiques*

## References bibliographiques

- **Abawi, G. S., & Lorbeer, J. W. (1965, January).** CULTURAL VARIABILITY AND PATHOGENICITY OF FUSARIUM OXYSPORUM F SP CEPAE. In *Phytopathology* (Vol. 55, No. 10, p. 1051). 3340 PILOT KNOB ROAD, ST PAUL, MN 55121: AMER PHYTOPATHOLOGICAL SOC.
- **Alves-Santos, F. M., Benito, E. P., Eslava, A. P., & Díaz-Mínguez, J. (1999).** Genetic Diversity of Fusarium oxysporum Strains from Common Bean Fields in Spain. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(8), 3335-3340.
- **Aoki T, O'Donnell K, Geiser DM, 2014.** Systematics of key phytopathogenic Fusarium species: Current status and future challenges. *Journal of General Plant Pathology* 80, 189–201.
- **Armstrong, G. M. (1981).** Formae speciales and races of Fusarium oxysporum causing wilt disease. *Fusarium: disease, biology, and taxonomy*, 391-399.
- **Armstrong, G. M., & Armstrong, J. K. (1968).** FORMAE SPECIALES AND RACES OF FUSARIUM OXYSPORUM CAUSING A TRACHEOMYCOSIS IN SYNDROME OF DISEASE. *Phytopathology*, 58(9), 1242.
- **Awuah, R. T., & Lorbeer, J. W. (1988).** Nature of cultural variability in Fusarium oxysporum f. sp. apii race 2. *Phytopathology*, 78(4), 385-389.
- **Baayen, R. P. (2000).** Diagnosis and detection of host-specific forms of Fusarium oxysporum. *EPPO Bulletin*, 30(3-4), 489-491.
- **Bidartondo, M. I., Redecker, D., Hijri, I., Wiemken, A., Bruns, T. D., Domínguez, L., ... & Read, D. J. (2002).** Epiparasitic plants specialized on arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 419(6905), 389.
- **Boonpasart, S. A. R. A. T. O. R. N., Kasetsuwan, N. G. A. M. J. I. T., Puangsricharern, V. I. L. A. V. U. N., Pariyakanok, L. A. L. I. D. A., & Jitpoonkusol, T. (2002).** Infectious keratitis at King Chulalongkorn Memorial Hospital: a 12-year retrospective study of 391 cases. *JOURNAL-MEDICAL ASSOCIATION OF THAILAND*, 85, 217-230.

- **Booth, C. (1971).** The genus fusarium commonwealth mycological institute. *Kew, Surrey, 237.*
- **Booth, C. (1971).** The genus fusarium. *The genus Fusarium.*
- **Booth, C., (1985).** The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 3<sup>ème</sup> Edition.
- **Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980).** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics, 32(3), 314.*
- **Burgess, L. W., & Summerell, B. A. (1992).** Mycogeography of Fusarium: survey of Fusarium species in subtropical and semi-arid grassland soils from Queensland, Australia. *Mycological Research, 96(9), 780-784.*
- **Burnett, J. H. (1984).** Aspects of Fusarium genetics. *The applied mycology of Fusarium, 39-69.*
- **Carlile, M. J., Watkinson, S. C., & Gooday, G. W. (1994).** The fungi Academic Press.
- **Carnegie, A. J., & Ades, P. K. (2001).** Added phosphorus is associated with reduced severity of *Mycosphaerella cryptica* in *Eucalyptus globulus*. *Australian Forestry, 64(4), 203-208.*
- **Chermette, R., & Bussieras, J. (1993).** Parasitologie vétérinaire. *Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.*
- **Chidi, N. I., Adekunle, A. A., Eziashi, E. I., Omamor, I. B., Odigie, E. E., & Osagie, I. J. (2014).** Molecular Identification of Biodiversity of Fusarium species Isolated from Wilted Oil Palm and Date Palm in Nigeria.
- **Correll, J. C., Puhalla, J. E., & Schneider, R. W. (1986).** Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* on the basis of colony size, virulence, and vegetative compatibility. *Phytopathology, 76(4), 396-400.*
- **Cubeta, M. A., & Vilgalys, R. (1997).** Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. *Phytopathology, 87(4), 480-484.*
- **De Hoog S, Guarro J, Gené J, Figueras M. (2011).** Atlas of Clinical Fungi.

- **Del Palacio Hernanz, A., Gutierrez Díaz, A., & Gutierrez Díaz, E. (1985).** Ulcera corneal por *Fusarium solani*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 2, 29-35.
- **Djerbi, M., Abdul-Majid, K. B., Abedi-Valugerdi, M., Olsson, T., Harris, R. A., & Grandien, A. (2003).** Expression of the long form of human FLIP by retroviral gene transfer of hemopoietic stem cells exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of Immunology*, 170(4), 2064-2073.
- **Dossa, C. (1993).** *Variabilité de la morphologie et du pouvoir pathogène et diversité génétique chez Fusarium oxysporum Schlecht f. sp. Elaeidis Toovey agent de la fusariose du palmier à huile* (Doctoral dissertation, Université de Montpellier 2).
- **Durán, J. A., Malvar, A., Pereiro, M., & Pereiro, M. (1989).** *Fusarium moniliforme keratitis*. *Acta ophthalmologica*, 67(6), 710-713.
- **Dyavaiah, M., Ramani, R., Chu, D. S., Ritterband, D. C., Shah, M. K., Samsonoff, W. A., ... & Chaturvedi, V. (2007).** Molecular characterization, biofilm analysis and experimental biofouling study of *Fusarium* isolates from recent cases of fungal keratitis in New York State. *BMC ophthalmology*, 7(1), 1.
- **Gari-Toussaint, M., Leguay, J. M., Zur, C., Michiels, J. F., Ferrara, L., Negre, F., & Le Fichoux, Y. (1997).** Keratite à *Fusarium solani* chez une patiente diabétique. *Journal de mycologie médicale*, 7(4), 227-231.
- **Gerlach, W. (1981).** The present concept of *Fusarium* classification. *Diseases, Biology and Taxonomy. University Park: The Pennsylvania State Univ Pr.* p, 413-426.
- **Gerlach, W., & Nirenberg, H. (1982).** The genus *Fusarium*--a pictorial atlas. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem*, (209).
- **Goldschmied-Reouven, A., Friedman, J., & Block, C. S. (1993).** *Fusarium* species isolated from non-ocular sites: a 10-year experience at an Israeli general hospital. *Journal de mycologie médicale*, 3(2), 99-102.

- **Guarro, J., & Gené, J. (1992).** Fusarium infections. Criteria for the identification of the responsible species: Fusarium-Infektionen. Kriterien zur Identifizierung der ätiologisch bedeutsamen Arten. *Mycoses*, 35(5-6), 109-114.
- **Guarro, J., & Gené, J. (1992).** Fusarium infections. Criteria for the identification of the responsible species: Fusarium-Infektionen. Kriterien zur Identifizierung der ätiologisch bedeutsamen Arten. *Mycoses*, 35(5-6), 109-114.
- **Gupta, S. K., Dhingra, N., Velpandian, T., & Jaiswal, J. (2000).** Efficacy of fluconazole and liposome entrapped fluconazole for *C. albicans* induced experimental mycotic endophthalmitis in rabbit eyes. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 78(4), 448-450.
- **Haan, D., & Doorn, V. (2000).** PCR detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* race 1, causal agent of *Gladiolus* yellows disease, from infected corms. *Plant pathology*, 49(1), 89-100.
- **Hadrys, H., Balick, M., & Schierwater, B. (1992).** Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular ecology*, 1(1), 55-63.
- **Henni, J. E., Fortas, Z., & Geiger, J. P. (1998).** Etude de la compatibilité végétative chez des souches de *Fusarium oxysporum* isolées dans la région Ouest de l'Algérie. *Phytopathologia Mediterranea*, 69-74.
- **Hijri, M., Redecker, D., Petetot, J. A. M. C., Voigt, K., Wöstemeyer, J., & Sanders, I. R. (2002).** Identification and isolation of two ascomycete fungi from spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Scutellospora castanea*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(9), 4567-4573.
- **Hsu, M. C., Chen, K. W., Lo, H. J., Chen, Y. C., Liao, M. H., Lin, Y. H., & Li, S. Y. (2003).** Species identification of medically important fungi by use of real-time LightCycler PCR. *Journal of medical microbiology*, 52(12), 1071-1076.
- **Imamura, Y., Chandra, J., Mukherjee, P. K., Lattif, A. A., Szczotka-Flynn, L. B., Pearlman, E., ... & Ghannoum, M. A. (2008).** *Fusarium* and *Candida*

albicans biofilms on soft contact lenses: model development, influence of lens type, and susceptibility to lens care solutions. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(1), 171-182.

- **Jacobson, D. J., & Gordon, T. R. (1988).** Vegetative compatibility and self-incompatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Phytopathology*, 78(6), 668-672.
- **Jennings, D. H., & Lysek, G. (1996).** *Fungal biology: understanding the fungal lifestyle*. Bios Scientific Publishers Ltd.
- **Jeunot, B. (2005).** *Les fusariotoxines sur céréales : détection, risque et nouvelle réglementation* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- **Joffe, A. Z. (1986).** *Fusarium species: their biology and toxicology*. John Wiley & Sons.
- Kamiya, A., Kikuchi, A., Tomita, Y., & Kanbe, T. (2004). PCR and PCR-RFLP techniques targeting the DNA topoisomerase II gene for rapid clinical diagnosis of the etiologic agent of dermatophytosis. *Journal of dermatological science*, 34(1), 35-48.
- **Kistler, H. C. (1997).** Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 87(4), 474-479.
- **Kistler, H. C., Alabouvette, C., Baayen, R. P., Bentley, S., Brayford, D., Coddington, A., ... & Gordon, T. R. (1998).** Systematic numbering of vegetative compatibility groups in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 88(1), 30-32.
- **Komi, A. (1993).** Pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk) SN. H: agent de la fusariose du cotonnier [These de doctorat]. *Université de Montpellier*, 2.
- **LEPART, J. (1997).** De la diversité spécifique à la biodiversité. Les raisons d'un succès. *Forêt méditerranéenne*.
- **Leslie, J. F., Summerell, B. A., & Bullock, S. (2006).** *The Fusarium laboratory manual* (Vol. 2, No. 10). Ames, IA: Blackwell Pub..

- **Leslie, J. F., Summerell, B. A., & Bullock, S. (2006).** *The Fusarium laboratory manual* (Vol. 2, No. 10). Ames, IA: Blackwell Pub..
- **Mayayo, E., Pujol, I., & Guarro, J. (1999).** Experimental pathogenicity of four opportunist *Fusarium* species in a murine model. *Journal of medical microbiology*, 48(4), 363-366.
- **Messiaen, C. M., & Cassini, R. (1968).** Recherches sur les Fusarioses. IV. La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyt*, 19(3), 387-454.
- **Mueller, G. M., & Schmit, J. P. (2007).** Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict?. *Biodiversity and Conservation*, 16(1), 1-5.
- **Mukherjee, P. K., Chandra, J., Yu, C., Sun, Y., Pearlman, E., & Ghannoum, M. A. (2012).** Characterization of *Fusarium* keratitis outbreak isolates: contribution of biofilms to antimicrobial resistance and pathogenesis. *Investigative ophthalmology & visual science*, 53(8), 4450-4457.
- **Nelson, P. E., Toussoun, T. A., Marasas, W. F. O., & Species, F. (1983).** An illustrated manual for identification. *Published by the Pennsylvanic state Union Press. University Park and London*, 112-123.
- **Nucci, M., & Anaissie, E. (2007).** *Fusarium* infections in immunocompromised patients. *Clinical microbiology reviews*, 20(4), 695-704.
- **O'Donnell K, Ward TJ, Robert VARG, Crous PW, Geiser DM, Kang S, 2015.** DNA sequence-based identification of *Fusarium*: Current status and future directions. *Phytoparasitica* 43, 583–595.
- **Ouinten, M. (1996).** *Diversité et structure génétiques des populations algériennes de Fusarium oxysporum f. sp. albedinis, agent de la fusariose vasculaire(Bayoud) du palmier dattier* (Doctoral dissertation).
- **Pitt, J. I. (2000).** Toxigenic fungi and mycotoxins. *British medical bulletin*, 56(1), 184-192.
- **Rekah, Y., Shtienberg, D., & Katan, J. (2000).** Disease development following infection of tomato and basil foliage by airborne conidia of the soilborne pathogens *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and *F. oxysporum* f. sp. *basilici*. *Phytopathology*, 90(12), 1322-1329.

- **Rheeder, J. P., Marasas, W. F., & Vismer, H. F. (2002).** Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(5), 2101-2105.
- **Rodrigues, A. A. C., & Menezes, M. (2005).** Identification and pathogenic characterization of endophytic *Fusarium* species from cowpea seeds. *Mycopathologia*, 159(1), 79-85.
- **Rodriguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, A. R. A. (2009).** Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New phytologist*, 182(2), 314-330.
- **Silva FP da, Vechiato MH, Harakava R, (2014).** EF-1a gene and IGS rDNA sequencing of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* and *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* reveals polyphyletic origin of strains. *Tropical Plant Pathology* 39, 64–73.
- **Snyder, W. C., & Hansen, H. N. (1940).** The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*, 27(2), 64-67.
- **Summerell, B. A., Salleh, B., & Leslie, J. F. (2003).** A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant disease*, 87(2), 117-128.
- **Snyder, W. C., & Hansen, H. N. (1940).** The effect of light on taxonomic characters in *Fusarium oxysporum*.
- **Tantaoui, A., Ouinten, M., Geiger, J. P., & Fernandez, D. (1996).** Characterization of a single clonal lineage of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* causing Bayoud disease of date palm in Morocco. *Phytopathology*, 86(7), 787-792.
- **Thomas, P. A., & Geraldine, P. (1992).** Fungal keratitis due to *Fusarium* and other fungi. *Journal de mycologie médicale*, 2(3), 121-131.
- **Trenholm, H. L., Prelusky, D. B., Young, J. C., & Miller, J. D. (1988).** Reducing mycotoxins in animal feeds. *Publication-Agriculture Canada (Canada)(no. 1827E) 22 p.*
- **Windels, C. E., & Wiersma, J. V. (1992).** Incidence of *Bipolaris* and *Fusarium* on subcrown internodes of spring barley and wheat grown in continuous conservation tillage. *Phytopathology*, 82(6), 699-705.