

Inventaire et caractérisation des champignons associés au dessèchement des citruses au Burkina Faso

Oumarou Z. DIANDA¹, Oumarou TRAORE², Cyrille T. ZOMBRE¹, Issa WONNI¹

(Reçu le 18/08/2023; Accepté le 04/11/2023)

Résumé

Au Burkina Faso, le dessèchement est l'une des contraintes de production des citruses. Cette étude fait le diagnostic de la maladie dans les grandes zones de production. Ainsi, l'incidence et la sévérité ont été évaluées dans le Kéné Dougou et la Comoé. Un inventaire des espèces fongiques a été réalisé à partir des organes malades. Une caractérisation morphologique et pathogénique a été réalisée à partir de dix isolats de l'espèce majoritaire. L'incidence moyenne de la maladie varie entre 85,0 et 94,7 % dans les deux provinces. Le plus fort indice de sévérité a été enregistré à Toumousseni (92,8 %) et le plus faible à Kartasso (33,6 %). Six (06) espèces fongiques (*Colletotrichum* sp, *Lasiodiplodia* sp, *Fusarium* sp, *Pestalotiopsis* sp, *Aspergillus* sp et *Botrytis* sp) ont été inventoriées. Dix souches de *Colletotrichum* sp ont présenté des caractéristiques morphologiques quasi similaires à l'espèce *Colletotrichum gloeosporioides*. Ensuite, les inoculations *in vitro* sur les feuilles et *in vivo* sur des plants ont révélé une variabilité de la pathogénicité. Ainsi, KciCo9, CciCo4, KciCo15 ont été les plus agressives *in vivo*. Les lésions induites étaient significativement différentes entre les souches. Au regard de l'importance de la maladie, une caractérisation moléculaire des espèces est nécessaire.

Mots clés: Dessèchement, Citrus, Champignons, *Colletotrichum*, Burkina Faso

Inventory and characterization of fungi associated with citrus decline in Burkina Faso

Abstract

In Burkina Faso, decline is one of the production constraints of citrus. This study makes the diagnosis of the disease in the major production areas. Thus, the incidence and severity were assessed in Kéné Dougou and Comoé. An inventory of fungal species was made from diseased organs. A morphological and pathogenic characterization was carried out from ten (10) isolates of the dominant species. The average incidence of the disease varies between 85.0 and 94.7% in the two provinces. The highest severity index was recorded in the Toumousseni site (92.8%) and the lowest in the Kartasso site (33.6%). Six (06) fungal species (*Colletotrichum* sp, *Lasiodiplodia* sp, *Fusarium* sp, *Pestalotiopsis* sp, *Aspergillus* sp and *Botrytis* sp) were inventoried. Ten strains of *Colletotrichum* sp presented morphological characteristics almost similar to the species *Colletotrichum gloeosporioides*. Then, *in vitro* inoculations on leaves and *in vivo* on plants revealed variability in pathogenicity. Thus, KciCo9, CciCo4, KciCo15 were the most aggressive *in vivo*. The lesions induced were significantly different between the strains. In view of the importance of the disease, a molecular characterization of the species is necessary.

Keywords: Decline, Citrus, Fungi, *Colletotrichum*, Burkina Faso

INTRODUCTION

Les agrumes occupent la 4^{ème} place mondiale en termes d'importance dans l'alimentation humaine. Ils constituent de ce fait, une culture fruitière majeure du point de vue socio-économique (FAO, 2016). La production mondiale est estimée à plus de 143 millions de tonnes. Au Burkina Faso, elle faisait partie des trois principales cultures fruitières après les anacardiés et les manguiers.

La production de la campagne 2020/2021 dépassait les 44000 tonnes (MAAH, 2019). La région des Hauts Bassins et des Cascades sont les grandes zones de production avec 77,8% de superficie des arbres fruitiers (Carrico *et al.*, 2022). En dépit des nombreux avantages socio-économiques et environnementaux au Burkina Faso, la culture des citruses est confrontée à des contraintes biotiques et abiotiques qui entraînent des baisses de rendement (MAAH, 2019). Parmi, les contraintes biotiques figure le dessèchement qui peut occasionner des pertes considérables. Son incidence sur les manguiers atteint 86% (Dianda *et al.*, 2018). Le dessèchement ainsi décrit est causé principalement par des agents fongiques associés à des facteurs abiotiques. Les maladies recensées sur des agrumes telles que les pourridies, le «mal secco», la fusariose, la gomose, l'anthracnose etc., sont des affections associées aux champignons. Des études similaires ont permis d'identifier

certaines espèces du genre *Colletotrichum*, *Lasiodiplodia*, *Fusarium*, *Phoma* etc., comme étant les agents probables associés au dépérissement des citruses (Tedihou *et al.*, 2017; Espargham *et al.*, 2020; Riolo *et al.*, 2021).

Au Burkina Faso, il existe très peu d'information sur les agents responsables de la maladie. Au regard de cela, il est nécessaire de connaître les agents fongiques associés au dessèchement des citruses en vue de lutter efficacement contre la maladie.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Présentation de la zone d'étude

Les échantillons ont été collectés dans les provinces du Kéné Dougou et de la Comoé (Figure 1) qui sont les grandes zones de production fruitière du Burkina Faso (Carrico *et al.*, 2022). Le climat est de type sud-soudanien marqué par une alternance de deux (02) saisons. Une saison sèche (novembre à avril) et une saison pluvieuse (mai à octobre). Les deux (02) saisons durent entre cinq (05) et six (06) mois. La pluviométrie annuelle moyenne se situe entre 801 mm et 1200 mm (Carrico *et al.*, 2022). Les sols sont de type ferrugineux lessivés. Cette zone agro-écologique a une végétation riche, composée de savanes arborées, arbustives et boisées ainsi que de forêts claires (Guinko, 1984). L'évaluation de l'incidence et de la sévé-

¹ Institut de l'Environnement et de la Recherche Agricoles, Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique, Station de Faroko-Bâ, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

² Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies, Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique, Direction Régionale de l'Ouest, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

rité ainsi que l'échantillonnage des organes malades ont été effectués dans des vergers localisés dans chacune des provinces. L'analyse des différents isolats obtenus a été faite au laboratoire de phytopathologie du Centre National de Spécialisation en Fruits et Légumes (CNS-FL) à la station de l'Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA)/Farako-Bâ.

Matériel végétal

La collecte des échantillons a porté sur des orangers, des citronniers et des tangelos qui sont les citrus les plus cultivés dans la zone d'étude. Les feuilles et les rameaux présentant les symptômes caractéristiques du dessèchement ont été prélevés. Des feuilles détachées de citronnier âgées d'environ un (01) mois ont été utilisées pour les inoculations in vitro. En outre, les tests de pathogénicité en serre ont été faites sur les plantes âgés d'environ un (01) an, de citronnier, d'oranger et de tangelo.

Matériel fongique

Le matériel fongique utilisé dans cette étude est constitué des isolats de champignon obtenus à partir des échantillons symptomatiques.

Évaluation de l'incidence et de la sévérité du dessèchement dans les vergers

Cette étude a consisté à choisir de façon aléatoire des vergers d'au moins 1 ha dans des sites distants d'au moins 15 km par province prospectée. L'évaluation a été faite sur 50 arbres choisis aléatoirement suivant les diagonales dans chaque verger. L'évaluation a porté sur des observations visuelles suivant les diagonales des quatre (04) côtés de l'arbre (Ramos *et al.*,1997) (Tableau 1).

L'incidence du dessèchement a été estimé à partir du rapport entre le nombre d'arbres malades et le nombre total d'arbres inspectés par site (Cooke, 2006).

$$I_m = \frac{n}{N} \times 100$$

I_m: Taux d'incidence par site;

n: Nombre d'arbres malades par site; **N**: nombre total d'arbres observés dans un site (**N=50**).

L'indice de sévérité de la maladie sur un site a été déterminé à l'aide de la formule de Kranz, (1988):

$$I_s = \sum \left(\frac{X_i \times n_i}{N \times Z} \right) \times 100$$

Tableau 1: Échelle d'évaluation de l'incidence et de la sévérité du dessèchement

Degré d'attaque	Caractéristique des symptômes
1	Plantes apparemment saines, absence des feuilles nécrosées
2	Présence des nécroses rouge-brique marginales sur les limbes des feuilles d'une ou de deux branches
3	Présence de feuilles mortes attachées ou défoliées sur la moitié des branches de l'arbre
4	Feuilles mortes attachées ou avec défoliation progressive sur de nombreuses branches
5	Cas sévère, infection généralisée sur toute la canopée, arbre totalement desséché

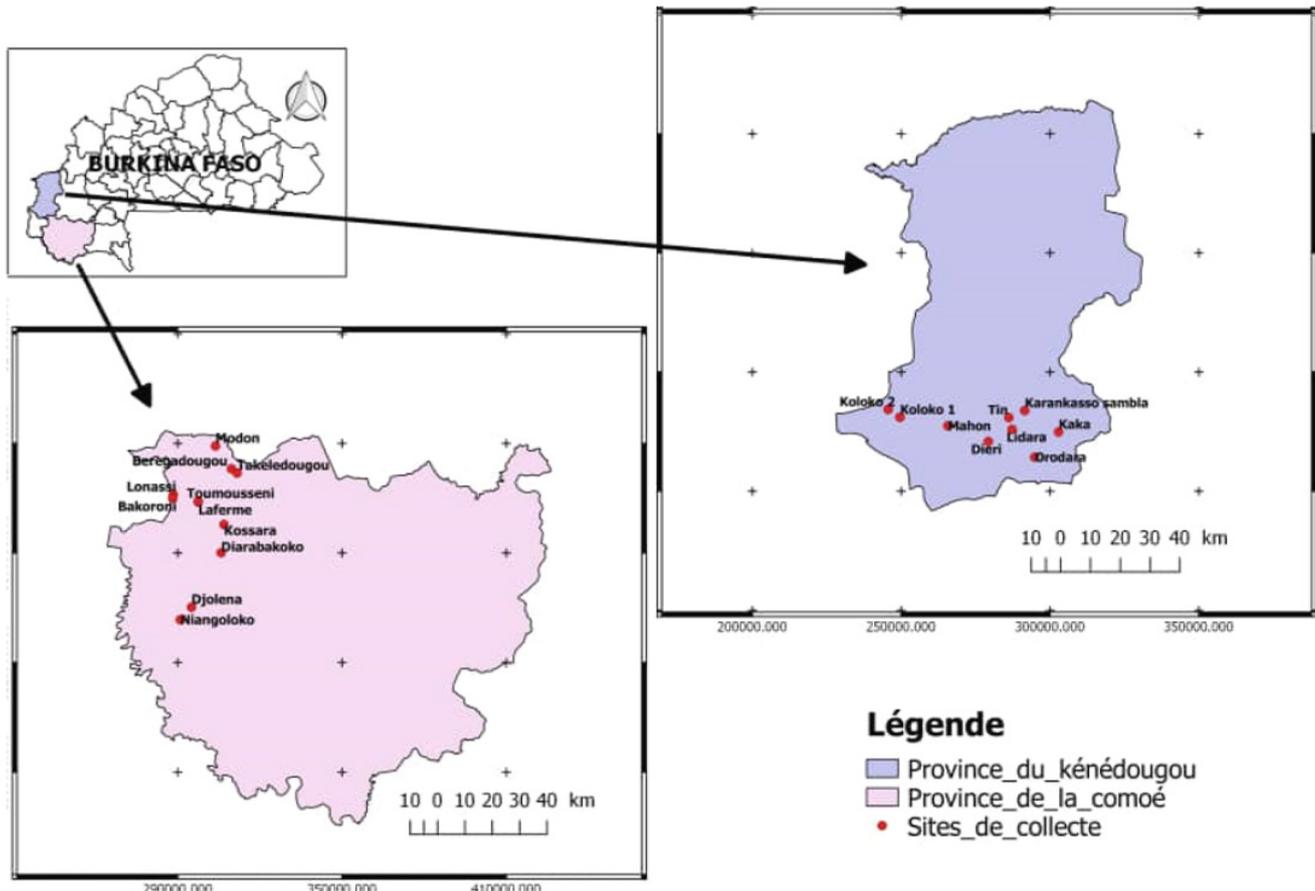


Figure 1: Carte des différentes zones d'étude

Is: indice de sévérité de la maladie sur le site;
Xi: sévérité *i* de la maladie sur l'arbre;
ni: nombre d'arbres de sévérité ;
N: nombre total d'arbres observés (N=50) ;
Z: échelle de sévérité la plus élevée (note 5).

Collecte des échantillons et caractérisation des champignons associés au dessèchement

Une fois sur un site, des organes (feuilles et tiges) symptomatiques ont été prélevés, étiquetés et conditionnés dans une glacière et transportés au laboratoire puis conservés au frigo à 4°C pour les isollements et la caractérisation. Les échantillons ont été traités et mise en incubation pour inventorier les espèces fongiques et leur fréquence associées à la maladie. En effet, la méthode de papier buvard humidifié (Dianda *et al.*, 2018) a été utilisée. Cela consiste à mettre des disques de papier buvard imbibés d'eau stérile dans des boîtes de Pétri stérile (BPS) avant de placer des fragments de 2 à 4 cm préalablement désinfectés à l'alcool (70 %) pendant 30 s ensuite à l'eau de Javel (1%) pendant 1 mn et enfin rincés à l'eau distillée stérile (EDS). Après désinfection, 4 morceaux par fragment ont été placés dans des BPS puis incubées pendant 12 h de lumière proche aux rayons ultra-violet alternée avec 12 h d'obscurité à la température ambiante du laboratoire (25 à 28°C) pendant sept (07) jours. Après ce temps d'incubation, les différentes boîtes ont été observées à la loupe binoculaire puis au microscope optique. Les structures microscopiques (pycnides, acervules et conidies) des champignons ont été identifiées à l'aide de la clé d'identification (Marthur et Kongsdal, 2003). Un crayon de lecture a servi pour répertorier les différentes espèces. La fréquence des espèces a été évaluée en fonction des types d'organes (feuilles et rameaux) à travers la formule suivante:

$$F(\%) = \frac{n}{N} \times 100$$

N: fréquence;
n: nombre total d'apparition d'un champignon identifié;
N: nombre total de boîtes de Pétri observées pour chaque organe conditionné.

Après avoir inventorié et déterminé la fréquence, des espèces fongiques ont ensuite été isolées sur du milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) à l'aide d'une pipette pasteur coudée. Les boîtesensemencées ont été bien celées et mises en incubation pendant 24 à 48 h en fonction de la croissance de chaque espèce à la température du laboratoire (25 à 28°C).

En effet, un repiquage à double répétitions pour chaque isolat a été réalisé jusqu'à la purification. Par la suite, l'espèce la plus fréquente a été caractérisée en analysant sa morphologie et sa pathogénicité.

Caractérisation morphologique

Les caractéristiques morphologiques portant sur la texture et la couleur du mycélium ont été décrites sept (07) jours après sur milieu de culture PDA. Pour l'évaluation de la croissance mycélienne, chaque isolat a été repiqué au centre de la BPS contenant un nouveau milieu de culture PDA suivant deux diamètres perpendiculaires tracés sur le revers de la BPS et répété cinq (05) fois par isolat. Les boîtes ont ensuite été mises en incubation à la température ambiante du laboratoire (25 à

28°C). La vitesse de croissance radiale a été mesurée le 3^{ème}, 5^{ème} et 7^{ème} jours après repiquage (JAR). Ainsi, la moyenne de la croissance mycélienne de chaque isolat a été calculée à partir des diamètres moyens (Dianda, 2019). La taille et la couleur des conidies ont été les principaux paramètres microscopiques évalués à l'aide d'une loupe binoculaire et d'un microscope optique muni d'une caméra (euromex, Holland) reliée au logiciel Image Focus Plus. Ainsi, des suspensions fongiques préalablement préparées à partir des feuilles inoculées *in vitro* ont été montées entre lame et lamelle pour déterminer la longueur et la largeur de cinquante (50) conidies choisies de façon aléatoire.

$$D = ((D1 + D2)) / 2$$

D: diamètre moyen de l'isolat dans une boîte;

D1 et D2: mesure des deux droites perpendiculaires.

Pouvoir pathogène *in vitro* et *in vivo*

En laboratoire, des jeunes feuilles de citronnier désinfectées et scarifiées au niveau de la nervure médiane ont été disposées sur de la gélose (Agar 1 %) précédemment préparée et coulée dans des BPS. Sur chaque feuille, un disque (5 mm) de gélose colonisée sur culture de 10 jours de croissance a été inoculé à l'aide d'une pipette pasteur coudée stérile sur la partie scarifiée. De même, des disques de gélose (Agar 1 %) de 5 mm de diamètre non colonisés ont été inoculés sur des feuilles témoins. La taille des lésions a été mesurée. Les boîtes ont ensuite été incubées pendant 10 jours à 25-28°C. Des observations périodiques ont été réalisées pour détecter l'apparition et l'évolution des lésions.

Ensuite, des mesures de lésion ont été effectuées le 3^{ème}, 5^{ème} et 7^{ème} jour après inoculation et la taille moyenne des lésions dans chaque boîte a été évaluée (Dianda, 2019).

$$D = ((d1 + d2)) / 2$$

D: diamètre moyen de la lésion dans une boîte;

d1 et d2: mesures des deux droites perpendiculaire.

In vivo, les isolats de champignon ont été inoculés sur des plants sains de citronnier, de tangelo et d'oranger. Au total, 33 plants ont été utilisés par espèce de Citrus. Les plants ont été placés de façon randomisée sous une serre.

Les parties supérieures des greffons ont été désinfectées à l'alcool (70 %) avant la scarification. Les ouvertures ont été inoculées avec un disque de 5 mm de diamètre de gélose PDA colonisée et provenant de culture de 10 jours. Un nombre égal de plant a été inoculé avec des disques de gélose Agar à 1 % non colonisée servant de témoins. Après 45 jours d'inoculation, la pathogénicité des isolats a été évaluée en mesurant à l'aide d'une règle graduée la longueur des lésions observées sur les parties inoculées. Les rameaux ont été coupés pour vérifier toute décoloration interne. Ensuite, ils ont été mis en incubation pendant sept (07) jours sous la température ambiante du laboratoire. Les champignons ont été re-isolés à partir des rameaux infectés et leurs caractéristiques morphologiques ont été comparées à celles qui ont servi à l'inoculation pour vérifier le postulat de Koch.

Analyse des données

Le tableur Excel 2021 a été utilisé pour la saisie et l'organisation des données collectées. Ensuite, les données ont été soumises à des analyses à l'aide du logiciel R version 4.2.1 au seuil de 5 %. Ainsi, les données dont la distribution ne suivait pas une loi normale ont été soumises à une analyse non paramétrique (Kruskal test). Pour ce cas de figure, un test de

comparaison multiple a été réalisé au seuil de probabilité de 5 % en cas de différence significatives entre les traitements (Pairwise test). Une analyse de variance a été faite pour les données dont la distribution suivait une loi normale.

RÉSULTATS

Symptomatologie du dessèchement des citrus au Burkina Faso

Les prospections dans les deux provinces du Burkina Faso ont permis d’inspecter 12 vergers et d’observer une diversité de symptômes externes du dessèchement des agrumes. Les symptômes se traduisent par des flétrissements de feuilles, notamment de nécroses rouge-briques marginales suivi du dessèchement des limbes foliaires, des rameaux puis d’une ou de deux branches (Figure 2A). Dans certains cas on observe une fissure au niveau du tronc (Figure 2B). Parfois, des taches noirâtres à grisâtres apparaissent au niveau de la base du tronc (Figure 2C). Les arbres sévèrement touchés par la maladie présentent un dessèchement partiel ou total de l’arbre (Figure 2D et 2E).

Incidence et sévérité du dessèchement des citrus au Burkina Faso

La figure 3 traduit l’incidence moyenne du dessèchement des Citrus dans les sites prospectés au Kéné Dougou et dans la Comoé. L’analyse statistique des données ne révèle pas de différence significative au seuil de 5 %. Cependant, la maladie a été variable en fonction des différents sites. Dans le Kéné Dougou, le taux d’incidence a été important avec des valeurs comprises entre 54 et 100 % selon les localités (Figure 3A). De même, pour la Comoé des forts taux d’incidence (80 et 100 %) ont été relevés en fonction des sites (Figure 3B).

En ce qui concerne la sévérité, l’analyse statistique des données montre également qu’il n’y a aucune différence significative entre les valeurs des deux provinces au seuil de 5 %. Dans le Kéné Dougou, le plus fort indice moyen (74,8%) a été relevé à Mondon et la plus faible valeur (33,6%) à Kartasso (Figure 4A). Dans la Comoé, le site de Toumousseni a enregistré la plus forte sévérité (92,8%) par rapport à Diarabakoko qui a été le moins sévèrement touché par la maladie avec un indice de sévérité de (42,8%) (Figure 4B).



Figure 2: Symptômes de dessèchement observés sur le citrus

A: flétrissement de feuilles; B: fissure au niveau du tronc; C: Taches noirâtres à grisâtres; D & E: Dessèchement partiel ou total de l’arbre avec ou sans défoliation

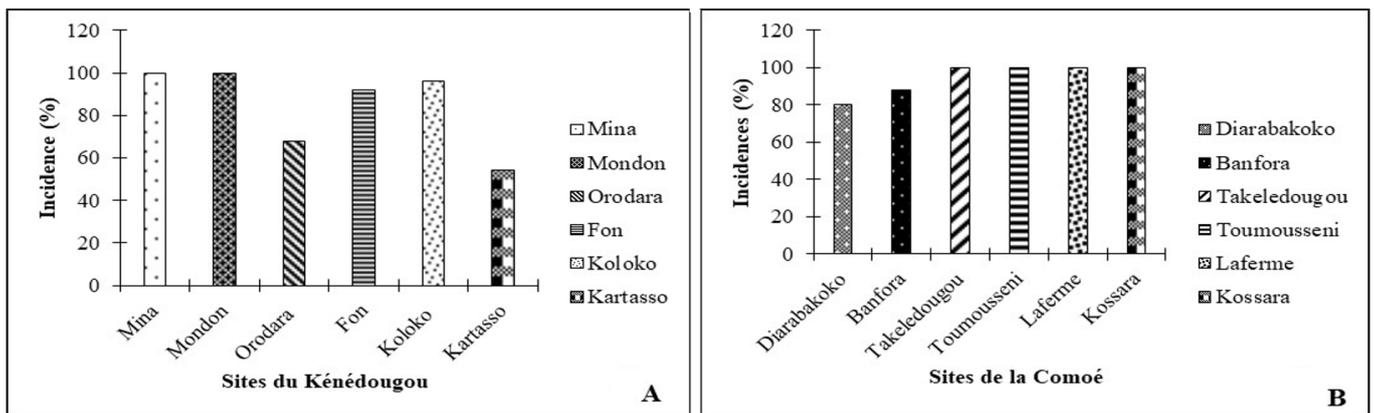


Figure 3: Incidence moyenne du dessèchement par site prospecté

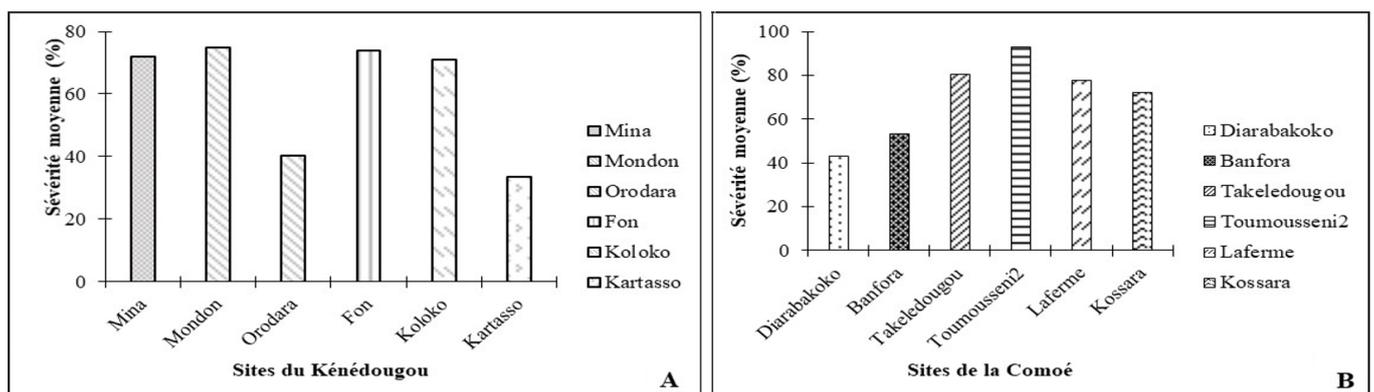


Figure 4: Sévérité moyenne du dessèchement des citruses dans les provinces du Kéné Dougou et de la Comoé

Espèces de champignons inventoriées sur le dessèchement des citrus

Au total six (06) espèces de champignons ont été inventoriées sur les organes malades de citrus. En effet, les espèces les plus observées sont *Colletotrichum* sp, *Lasiodiplodia* sp et *Fusarium* sp. Tandis que *Botrytis* sp, *Aspergillus* sp et *Pestalotiopsis* sp ont été des espèces occasionnellement rencontrées (Figure 5).

Fréquence des espèces de champignon associés au dessèchement des citrus

Les plus fortes fréquences (62 et 70%) ont été relevées sur *Colletotrichum* sp respectivement sur les rameaux et les feuilles de citrus malade. Tandis que les plus faibles valeurs (2 et 3%) ont été enregistrées respectivement par *Botrytis* sp sur les feuilles et *Aspergillus* sp sur les rameaux (Figure 6 A et B).

Caractéristiques morphologiques des isolats de *Colletotrichum* sp

Du point de vue macroscopique, les isolats ont présenté le même morphotype. En effet, les colonies mycéliennes sur le milieu PDA ont un aspect cotonneux peu dense de couleur blanchâtre dès le 3^{ème} JAR (Figure 8A). Au 5^{ème} JAR, la croissance du mycélium évoluait au fur et à mesure pour atteindre le bord des BPS avec une coloration rose-saumon à orange-pâle (Figure 7B). Le mycélium s'assombrit à partir du 10^{ème} JAR et devient blanc-terne (Figure 7C).

Le tableau 2 montre les résultats de la vitesse moyenne de la croissance radiale des isolats enregistrés au 3^{ème}, 5^{ème} et 7^{ème} JAR. Il existe une différence hautement significative entre les vitesses de croissance des différents isolats. En effet, les isolats CciCo6, CciCo4 et KciCo10 ont enregistré respectivement les plus fortes vitesses de croissance au

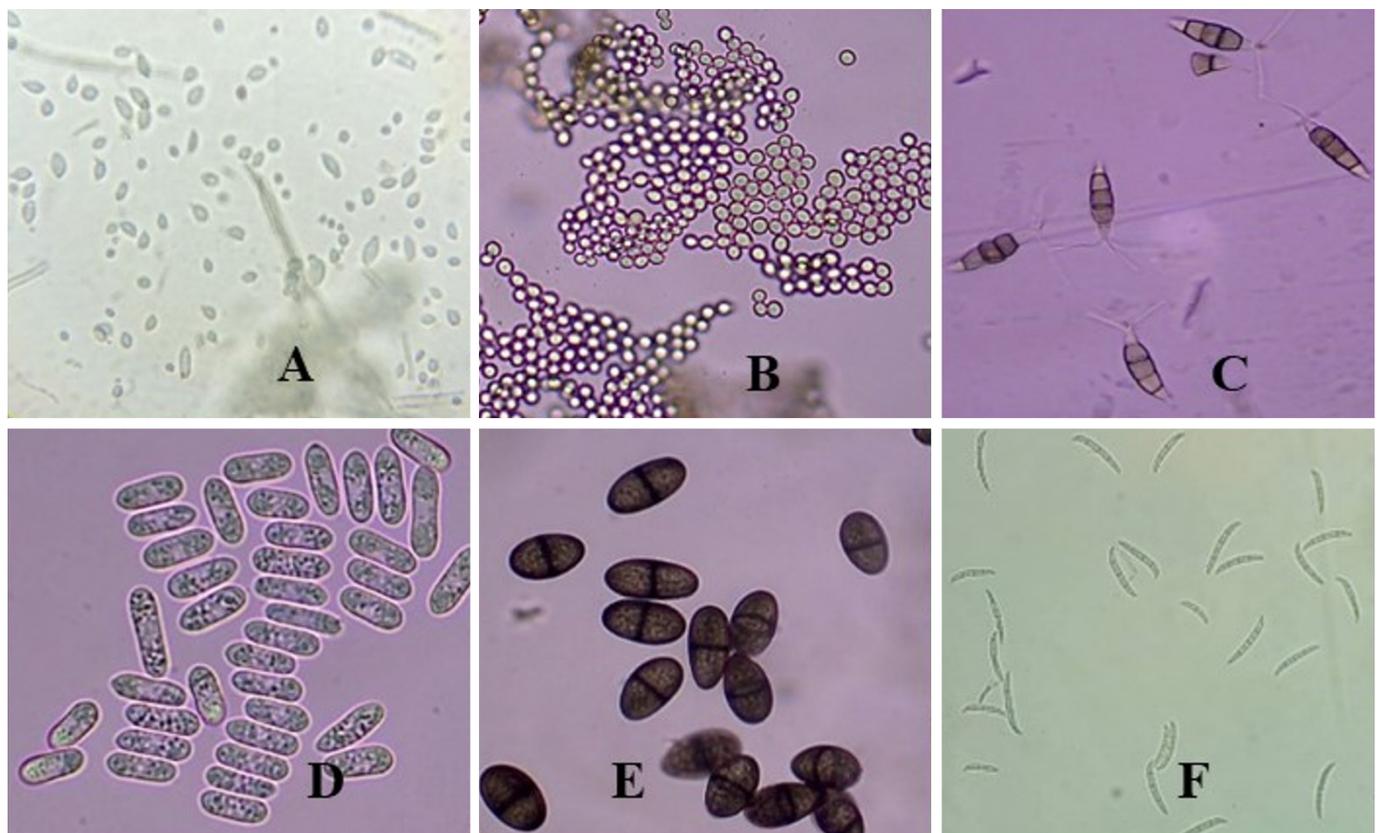


Figure 5: Espèces de champignons isolés

A: *Colletotrichum* sp; B: *Lasiodiplodia* sp; C: *Fusarium* sp); D: *Botrytis* sp; E: *Aspergillus* sp; F: *Pestalotiopsis* sp).

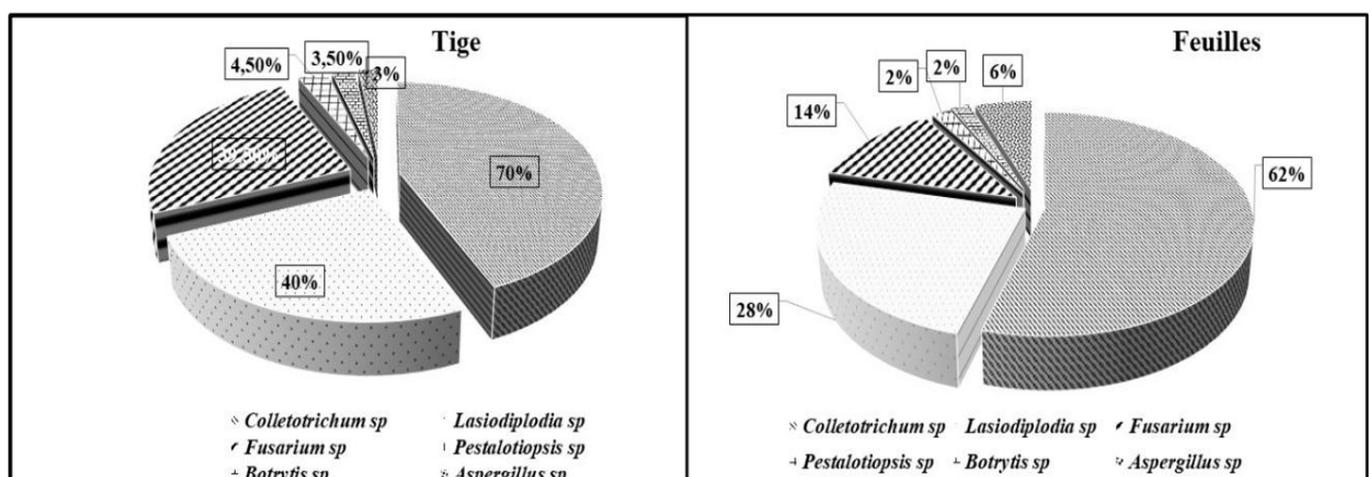


Figure 6: Fréquence moyenne des espèces fongiques observées sur les organes malades de Citrus

3^{ème}, 5^{ème} et 7^{ème} JAR. Par contre les isolats CciCo5 KciCo31 ont enregistrés les plus faibles vitesses de croissance mycélienne. Cependant, aucun isolat n'a pu atteindre sa croissance maximale ($8,50 \pm 0,00$ cm) au 7^{ème} JAR.

Du point microscopique, les conidies ont présenté les mêmes morphotypes. A la loupe des structures sous formes d'agrégats de couleurs orange ont été observées sur les organes mis en incubation (Figure 9A). Ces conidies sont unicellulaires de couleur hyaline et d'aspect lisse avec les deux extrémités arrondies donnant ainsi une forme cylindrique (Figure 8 B).

Les résultats du tableau 3 montre qu'il existe une différence significative entre les dimensions (longueur et largeur) des

conidies des isolats retenus. Les longueurs moyennes des conidies sont comprises entre 16,9 à 19,7 μ m. On distingue quatre groupes statistiques. Il s'agit de: groupe 1 (KciCo31, CciCo4); groupe 2 (CciCo1, CciCo2, KciCo9); groupe 3 (KciCo16, KciCo10, CciCo5) et groupe 4 (CciCo6, KciCo15). Les largeurs moyennes sont comprises entre 5,40 à 5,94 μ m avec également quatre (04) groupes. Il s'agit notamment de: groupe 1 (KciCo31); groupe 2 (CciCo1CciCo2, CciCo6, KciCo10, KciCo16, KciCo9); groupe 4 (CciCo4, CciCo5, KciCo15). Ces caractéristiques morphologiques sont proches de *Colletotrichum gloeosporioides*. Néanmoins, il y a un chevauchement entre les isolats dans les différents groupes pour les longueurs et



Figure 7: Caractéristiques macroscopiques de *Colletotrichum* sp

A: Aspect cotonneux de couleur blanchâtre; B: Évolution de la croissance mycélienne coloration rose-saumon à orange-pâle; C: Mycélium blanc-terne

Tableau 2: Croissance mycélienne des isolats de *Colletotrichum* sp.

Isolats	Moy \pm Écart type (cm) 3 JAR	Moy \pm Écart type (cm) 5 JAR	Moy \pm Écart type (cm) 7 JAR
CciCo1	2,94 \pm 0,23 b	4,96 \pm 0,41 b	7,28 \pm 0,20 c
CciCo2	2,82 \pm 0,16 ab	5,2 \pm 0,11 bc	7,14 \pm 0,21 c
CciCo4	3,38 \pm 0,12 cd	5,54 \pm 0,10 c	7,1 \pm 0,19 bc
CciCo5	2,48 \pm 0,10 a	4,24 \pm 0,19 a	6,34 \pm 0,21ab
CciCo6	3,52 \pm 0,16 d	5,32 \pm 0,23 bc	6,64 \pm 0,72 ac
KciCo10	3,1 \pm 0,09 bc	5,42 \pm 0,15 bc	7,34 \pm 0,23c
KciCo15	2,84 \pm 0,14 ab	5,22 \pm 0,17 bc	6,76 \pm 0,30 bc
KciCo16	3,42 \pm 0,31 cd	5,52 \pm 0,20 bc	7,26 \pm 0,17 c
KciCo31	2,52 \pm 0,16 a	4,16 \pm 0,31 a	5,88 \pm 0,31a
KciCo9	3,12 \pm 0,07 bc	5,06 \pm 0,34 bc	7,1 \pm 0,38 bc
Pr(>F)	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Signification	HS	HS	HS

JAR: Jours après repiquage; Pr: Probabilités; Moy: Moyenne; Cm: Centimètre; HS: Hautement significatif. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Tukey HSD.

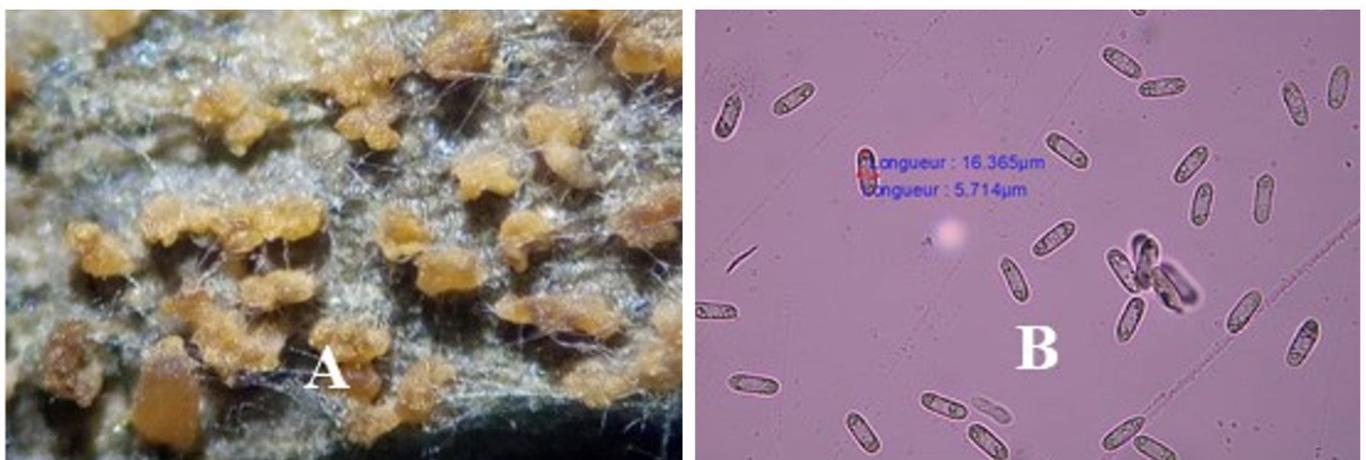


Figure 8: Structure microscopiques de *Colletotrichum* sp

A: Agrégats des acervules à 50X, B: Conidies vue à 40X

largeurs moyennes laissant croire une présence de diversité et présentant du coup les limites des caractéristiques morphologiques dans l'identification.

Pathogénicité des isolats de *Colletotrichum sp* in vitro sur des feuilles de citronnier

Tous les isolats inoculés sur les feuilles ont induit des lésions nécrotiques rouge-brique (Figure 9 A). Elles évoluent généralement le long de la nervure principale (Figure 9 B) avant de s'étendre à toute la surface foliaire avec un dépôt blanchâtre correspondant respectivement au mycélium et aux acervules du champignon à partir du 7^{ème} JAI (Figure 9 C). Aucun symptôme n'a été observé dans les boîtes témoins (Figure 9 D).

La figure 10 montre les diamètres moyens des lésions nécrotiques in vitro induit par les isolats sur les feuilles de citronnier. L'analyse statistique révèle des différences significatives de pouvoir pathogène entre les isolats au seuil de 5 %. En effet, à 3 JAI les souches KciCo16, KciCo15, KciCo9, CciCo4, CciCo2 et CciCo5 ont été les plus agressifs sur les feuilles. Les longueurs moyennes des lésions ont varié entre 2,34 et 2,78 cm. Par contre, les isolats KciCo10, CciCo6 et CciCo1 ont enregistré les plus faibles longueurs de lésion inférieure à 2 cm. Les lésions nécrotiques évoluent au fil du temps pour envahir toute la surface foliaire. Ainsi, les souches CciCo4 et KciCo16 ont provoquées les plus grandes lésions à 7 JAI.

Tableau 3: Taille des conidies des isolats de *Colletotrichum sp*.

Isolats	Longueur moyenne \pm Écart type (μm)	Largeur moyenne \pm Écart type (μm)
CciCo1	17,2 \pm 1,34 ab	5,79 \pm 0,70 ab
CciCo2	17,6 \pm 1,39 ac	5,80 \pm 0,71 ab
CciCo4	16,9 \pm 1,34 a	5,83 \pm 0,62 bc
CciCo5	18,2 \pm 1,45 c	5,94 \pm 0,79 bc
CciCo6	19,4 \pm 1,42 d	5,65 \pm 0,62 ab
KciCo10	18,1 \pm 1,75 c	5,74 \pm 0,63 ab
KciCo15	19,7 \pm 1,50 d	5,82 \pm 0,64 bc
KciCo16	18,0 \pm 1,46 bc	5,47 \pm 0,56 ab
KciCo31	16,9 \pm 1,36 a	5,40 \pm 0,47 a
KciCo9	17,7 \pm 1,39 ac	5,55 \pm 0,54 ab
Pr(>F)	0,0001	0,0001
Signification	HS	HS

K: Kéné Dougou, C: Comoé, Co: *Colletotrichum sp*, ci: Citrus; Pr: Probabilités; HS: Hautement significatif

Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Tukey HSD.

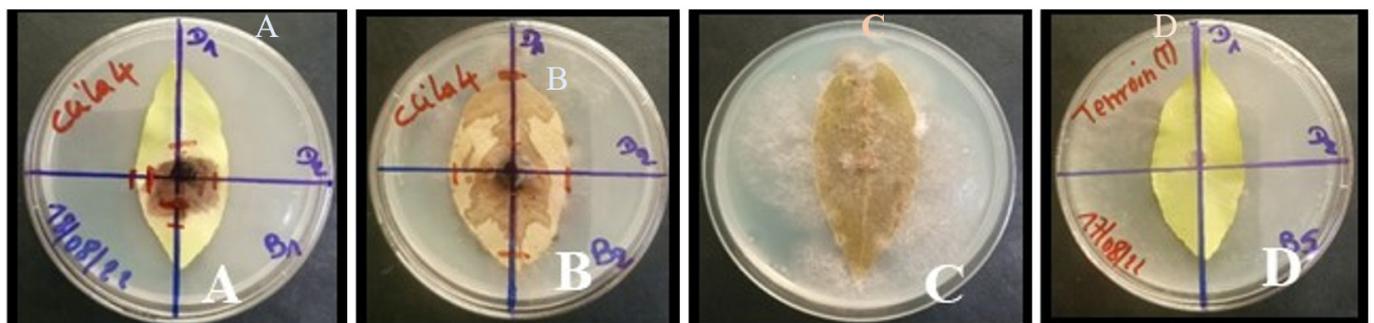


Figure 9: Symptômes induits par *Colletotrichum sp* sur des feuilles détachées de tangelo

A: Apparition des nécroses rouge-brique à 3 JAI; B: Évolution des nécroses entre 5 et 7 JAI; C: Dépôt blanchâtre correspondant respectivement au mycélium et aux acervules du champignon à partir du 7^{ème} JAI; D: Absence de nécroses au niveau du témoin 7 JAI

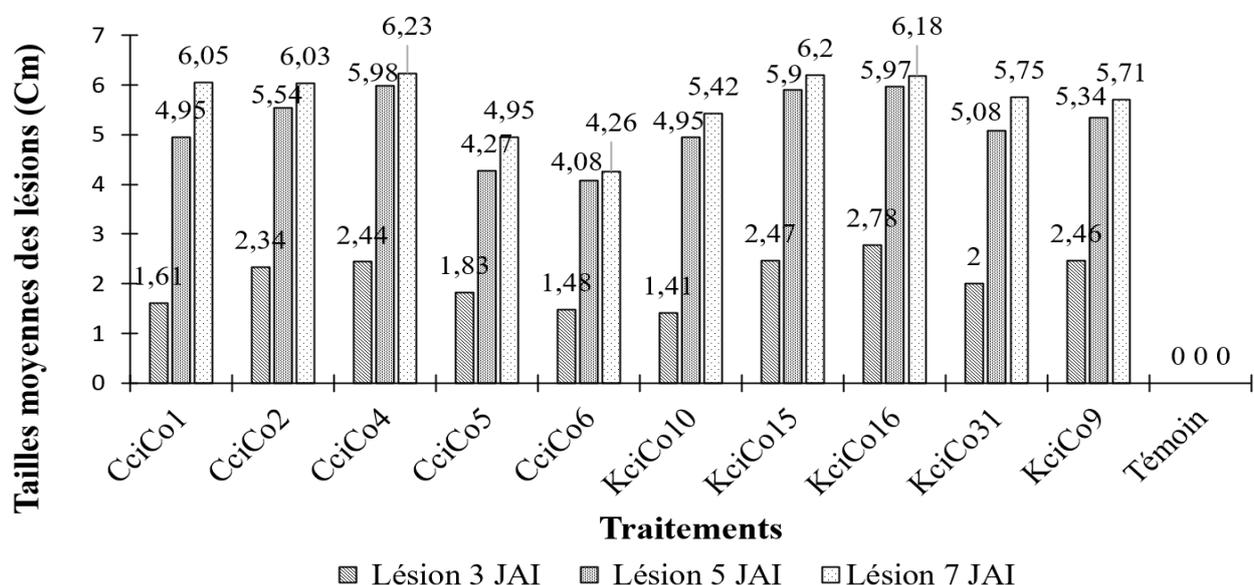


Figure 10: Diamètres moyens des lésions induites par les isolats de *Colletotrichum sp*

DISCUSSION

Cette étude préliminaire dans les vergers prospectés au Burkina Faso a permis de diagnostiquer plusieurs symptômes caractéristiques du dessèchement des citruses. Les symptômes observés et décrits dans les vergers prospectés sont similaires à ceux observés au Niger, au Togo, en Iran, en Albanie et au Sud de l'Italie (Haougui, 2013; Tedihou *et al.*, 2017; Espargham *et al.*, 2020; Riolo *et al.*, 2021). Le Burkina Faso tout comme ces pays, est confronté à cette maladie qui touche bon nombre de cultures fruitières notamment les agrumes, les manguiers et les anacardiens. En effet, la maladie a été diagnostiquée dans plusieurs vergers de mangouier. Les symptômes observés sur les arbres sont similaires aux symptômes du dessèchement des manguiers (Dianda *et al.*, 2018).

L'incidence et la sévérité du dessèchement varient peu suivant les zones prospectées au Burkina Faso. Les forts taux d'incidence et de sévérité enregistrés dans les deux (02) provinces productrices pourraient s'expliquer par divers facteurs tels que l'agressivité des agents pathogènes responsables, les conditions pédo-climatiques et les pratiques agricoles. Par ailleurs, des fortes incidences et de sévérités de la maladie avaient été signalées sur le mangouier dans les provinces ayant les plus faibles pluviométries avec des fortes températures (Dianda *et al.*, 2018). En outre, la présence de la maladie au Burkina Faso pourrait s'expliquer par une contamination à partir du matériel végétal introduit. Cependant, la maladie a été moins sévère dans le site de Diarabakoko par rapport aux autres sites. Cela s'explique par le fait que ce site a bénéficié des conditions favorables à travers la distribution d'eau et l'entretien des vergers. La faible pluviométrie enregistrée dans les deux (02) provinces a contribué à affaiblir les agrumes en les rendant vulnérables aux attaques de bioagresseurs et serait en partie responsable des forts taux de la maladie constatés en 2021. Des études similaires ont montré que la maladie peut être accentuée à cause de ces conditions défavorables. En effet, le stress hydrique favorise la manifestation et l'évolution du dessèchement sur les manguiers (Khanzada *et al.*, 2004) ce qui pourrait être de même sur les agrumes. Aussi, les températures moyennes annuelles ainsi que la variabilité des précipitations mensuelles contribuent plus au potentiel de distribution de la maladie (McDowell *et al.*, 2014; Galdino *et al.*, 2016).

Les isolements réalisés ont permis d'inventorier six (06) espèces de champignons. Ces espèces de champignons pathogènes présagent la présence d'un complexe de champignons associé au dessèchement des agrumes dans le Kéné Dougou et dans la Comoé. Cette complexité des espèces fongiques associées au dessèchement des agrumes a été également signalée par divers auteurs. Trois (03) espèces dont *Fusarium solani*, *Phoma glomerata* et *Lasiodiplodia theobromae* ont été isolées sur des agrumes au Togo (Tedihou *et al.*, 2017). En outre, deux (02) espèces à savoir *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. boninense*, et plusieurs isolats des espèces du genre *Phoma*, *Pestalotiopsis*, *Fusarium Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* et *Alternaria* ont été obtenues à partir d'arbres malades de Citrus en Iran (Espargham *et al.*, 2020). La maladie pourrait résulter de l'action isolée ou synergétique des champignons pathogènes (Tedihou *et al.*, 2017).

Parmi les six (06) espèces fongiques obtenues, *Colletotrichum* sp, *Lasiodiplodia* sp et *Fusarium* sp ont été les plus fréquentes. Ces espèces fréquemment observées ont été citées comme des agents pathogènes associés au dessèchement d'une diversité de plantes (agrumes, manguiers, bananiers, etc.) dans les régions tropicales et subtropicales (Zhang, 2014). En effet, des études ont révélé que des espèces comme *C. gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. karstii*, *C. siamense*, *L. theobromae*, *F. solani*, *F. sp.* et *Pestalotiopsis microspora* étaient non seulement responsables du dépérissement des agrumes, mais également responsables des maladies de taches foliaires et les pourritures des fruits de nombreuses espèces de plantes dans le monde (Lima *et al.*, 2011; Zhang 2014; Riolo *et al.*, 2021).

Les caractéristiques morphologiques macroscopiques et microscopiques des différents isolats de *Colletotrichum* sp observés ont été déjà signalées par diverses études. En effet, des souches de *Colletotrichum* obtenues sur le dépérissement des citruses en Italie avaient une croissance moins rapide et modérément dense de couleur blanc-orange à gris-orange pâle (Riolo *et al.*, 2021). En outre, des souches du champignon obtenues en Albanie présentaient par contre la même morphologie mais les colonies sur PDA étaient peu convexes à croissance rapide avec un mycélium aérien dense et cotonneux. Les caractéristiques microscopiques, notamment la couleur hyaline, avec une absence de septa ainsi que l'intervalle de la taille moyenne des conidies enregistrées sont en accord avec les résultats des études précédentes.

Les caractères ainsi décrits du champignon *Colletotrichum* sp, sont proches de l'espèce *Colletotrichum gloeosporioides*. Cependant, la longueur et la largeur des conidies est très variable, cela laisse penser à la présence d'une diversité de champignons de *Colletotrichum* sp.

Les inoculations de *Colletotrichum* sp sur les feuilles détachées de citronnier ont permis de constater des nécroses rouge-brique. Les lésions foliaires induites par ces isolats sont variables et quasi similaires aux symptômes rouge-brique observés sur des feuilles d'agrumes dans les vergers prospectés. Ces résultats sont en accord avec ceux des études précédentes (Riolo *et al.*, 2021). En effet, ils ont observé des lésions nécrotiques circulaires sur des jeunes feuilles et matures de deux cultivars d'oranges douces suite à des inoculations in vitro avec des conidies de *Colletotrichum* (*C. gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. karstii*) isolées à partir d'arbres symptomatiques. Par ailleurs, il y a des différences significatives entre les lésions induites par les isolats.

Ces résultats supposent qu'il existe une variabilité de la pathogénicité entre les isolats bien qu'ils soient du même genre. En effet, les résultats des études précédentes ont montré que la pathogénicité des isolats de *Colletotrichum* (*C. gloeosporioides*, *C. karstii*) peut varier même au sein des populations provenant de la même plante-hôte et de la même zone géographique (Riolo *et al.*, 2021).

CONCLUSION

La présente étude avait pour objectif général de faire un diagnostic du dessèchement des citruses au Burkina Faso. L'étude a permis d'apprécier l'importance de la maladie dans les deux principales zones de productions notamment le Kéné Dougou et la Comoé. En outre, elle a permis d'inventorier un complexe d'espèces de champignons associés

au dessèchement des agrumes et de déterminer leurs fréquences sur les organes infectés. Six (06) espèces ont été mises en évidence dont trois (03) sont fréquemment observées sur les différents organes infectés. *Colletotrichum gloeosporioides* a été identifié comme l'espèce majoritaire et potentiel pathogène responsable de la maladie à l'image de nombreux pays. Ces résultats constituent une source de connaissance sur la diversité des espèces fongiques associées au dessèchement des agrumes au Burkina Faso. De ce fait, des études phylogénétiques et pathogéniques doivent se poursuivre sur *Colletotrichum* spp ainsi que les autres espèces de champignons pour la mise en place de méthodes de lutte efficace contre cette maladie au regard de l'importance de la culture.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Fond National de la Recherche et de l'Innovation pour le Développement (FONRID) et l'Agence des États-Unis pour le développement international (USAID) pour leur contribution financière et technique dans la conduite des activités.

RÉFÉRENCES

- Carrico C., Okoko E., Klaver D.C. (2022). Étude exploratoire sur les fruits et légumes. Résultats du Burkina Faso. *Wageningen Economic Research*, Report 2021, 90 p.
- Cooke B.M. (2006). Disease assessment and yield loss. In *The epidemiology of plant diseases* (pp. 43-80). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Dianda Z.O. (2019). Caractérisation des agents pathogènes associés au dessèchement du manguier et essai de méthode de lutte contre la maladie au Burkina Faso. Thèse de doctorat de l'Université Joseph Kizerbo, Ouagadougou (Burkina Faso), 246 p.
- Dianda Z.O., Wonni I., Zombré C., Traoré O., Sérémé D., Boro F., Ouédraogo L. (2018). Prévalence du dessèchement du manguier et évaluation de la fréquence des champignons associés à la maladie au Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*, 126: 12686-12699.
- Espargham N, Mohammadi H, Gramaje D. (2020). A survey of trunk disease pathogens within citrus trees in Iran. *Plants*, 9:2-20.
- FAO (2016). Comité des produits, situation et perspectives à court terme des marchés des produits, 17 p.
- Galdino T.S., Kumar S.O., Leonardo S.S., Alfenas C.N., Sadi G.A.L., Picanço A.C.M. (2016). Mapping Global Potential Risk of Mango Sudden Decline Disease Caused by *Ceratocystis fimbriata*. *PLoS One*, 7: 1-18.
- Guinko S. (1984). Végétation de la Haute Volta. Université de Bordeaux III (France), 318 p.
- Haougui A. (2013). Le dépérissement des agrumes au Niger. RECA, 1 p.
- Khanzada M.A., Lhodi A.M., Shahzad S. (2004). Pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium solani* on mango. *Pakistan Journal of Botany*, 36:181-189.
- Lima W.G., Spósito M.B., Amorim L., Gonçalves F.P., De Filho P.A.M. (2011). *Colletotrichum gloeosporioides*, a new causal agent of citrus post-bloom fruit drop. *Eur. J. Plant Pathol.*, 131:157-165.
- MAAH (Ministère de l'agriculture et des aménagements hydro-agricoles) (2019). Programme d'activités 2020 du Ministère de l'Agriculture et des Aménagements Hydro-agricoles. Secrétariat Général, Ouagadougou (Burkina Faso), 102 p.
- Mathur S.B., Kongsdal O. (2003). Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. First edition, Kandrups Bogtrkkeri Publication, Denmark, 425p.
- McDowell W.G., Benson A.J., Byers J. (2014). Climate controls the distribution of a widespread invasive species: implications for future range expansion. *Freshwater Biology*, 4: 847-857.

Ramos L.J., Davenport T.L., Mcmillan J.R.T., Lara S.P. (1997). The resistance of mango (*Mangifera indica*) cultivars to tip dieback disease in Florida. *Plant Dis.*, 81: 509-514.

Riolo M., Aloï F., Pane A., Cara M., Cacciola S.O. (2021). Twig and shoot dieback of citrus, a new disease caused by *colletotrichum* species. *Cells*, 10 :2-23.

Tedihou E., Kpemoua K., Tounou A. (2017). Dépérissement des manguiers et citruses dans la région centrale du Togo et méthodes de lutte par des fongicides. *Journal des biosciences appliquées*, 119: 11829-11838.

Zhang J. (2014). *Lasiodiplodia theobromae* in citrus fruit (Diplodia Stem-End Rot). In *Postharvest decay: control strategies*. Elsevier, pp. 309-335.