



Faculté d'ingénierie biologique,
agronomique et environnementale

Earth and Life Institute
Environmental Sciences/Applied Microbiology
Soil Science/Phytopathology

Effet protecteur du silicium sur la tolérance du bananier à deux maladies fongiques

Thèse présentée par **Assia Lucie Kablan** en vue de l'obtention du
grade de Docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique

Membres du jury :

Président	Prof. Jacques Mahillon (UCL, Belgique)
Promoteurs	Prof. Bruno Delvaux (UCL, Belgique)
	Prof. Anne Legrève (UCL, Belgique)
Lecteurs	Prof. Rony Swennen (KULeuven, Belgique)
	Prof. Joseph Dufey (UCL, Belgique)
	Prof. Richard Bélanger (U.Laval, Canada)
	Prof. Xavier Draye (UCL, Belgique)

Louvain-la Neuve, Février 2012

**Tu es mon secours,
Et je suis dans l'allegresse à l'ombre de tes ailes**

Ps 63, 8

A ma famille

Remerciements

Arrivée au terme de cette aventure, voici venu le temps de remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ma thèse.

Mes premiers remerciements s'adressent au Professeur Bruno Delvaux qui m'a accueilli au sein du laboratoire des Sciences du Sol et fait bénéficier de son expérience. Vous avez eu confiance en mon travail et contribué à l'élargissement de mon horizon scientifique.

Ce projet de thèse n'aurait pas abouti sans la présence de ma co-promotrice, Professeur Anne Legrève du laboratoire de Phytopathologie. Madame, vous m'avez enseigné la rigueur scientifique, me permettant ainsi d'avancer tout en me remettant en question. Votre porte est restée toujours ouverte pour d'innombrables discussions et conseils sur le travail quotidien. Je vous remercie pour vos encouragements, et votre soutien à tout moment, pour votre disponibilité, pour votre continuelle et rassurante bonne humeur. Ça été un réel plaisir de travailler avec vous !

Je remercie cordialement le Professeur Rony Swennen, le Professeur Richard Bélanger, le Professeur Joseph Dufey et le Professeur Xavier Draye d'avoir accepté d'évaluer ma thèse et nourris des conseils constructifs lors de la défense préliminaire.

Je remercie tout particulièrement le Professeur Joseph Dufey pour ses nombreux conseils lors de l'élaboration du protocole, des traitements des données et de la rédaction du dernier chapitre de la thèse.

Je tiens à remercier le Professeur Henri Maraite qui m'a initié à l'amour de la phytopathologie lors de la réalisation de mon diplôme d'études approfondies.

Une grande partie de ce travail revient à Patrick Populaire qui a été toujours là pour me conseiller, m'aider et m'épauler dans la mise en place des mes différents dispositifs expérimentaux en phytotron et en serre.

Remerciements

Ce projet n'aurait pas pu prendre forme sans un bon environnement de travail. Premièrement au sein du laboratoire des Sciences du Sol, véritable lieu de rire et d'échanges ! Tout d'abord un grand merci à Françoise Hauwen pour son encadrement administratif, l'attention qu'elle porte à notre bien-être et à l'amitié qui est née. Merci à toi « Mémé Françoise » pour tous les « les petits paquets ». Merci à Anne Iserentant et Claudine Givron pour toutes les analyses effectuées, leurs nombreux conseils en laboratoire, leur bonne humeur, leur attention et leur amitié. Merci à vous deux pour le coup de main d'un week end !

Je tiens à remercier mes collègues de bureau Séverine, Jean-Thomas, Sophie et Hugues pour la formidable ambiance de travail, ainsi que tous mes collègues Solistes pour les bons moments partagés : Isabelle Caignet, Jean-Thomas Cornelis, Eléonore Couder, Pierre Delmelle, Séverine Delstanche, Océane Derzelle, Koffi Folly, Claudine Givron, Françoise Hauwen, Céline Henriët, Anne Iserentant, Céline Meunier, Sophie Opfergelt, Florence Trum, Thomas Delfosse, Bruno Delvaux, Joseph Dufey, David Houben, André Lannoye, Benoît Pereira, Patrick Populaire, Hugues Titeux, Arnaud Schneider, et Philippe Sonnet.

Mon temps durant la thèse était également partagé au laboratoire de Phytopathologie (UCL). Je tiens à remercier tous les collègues pour leur formidable accueil et la bonne ambiance dans le laboratoire. Je remercie particulièrement Christine Bousmanne, Claude Bragard, Samuel Carrola Aurélie Clinckemaillie, François Crutzen, Géraldine Dedeurwaerder, Nicolas Desoignies, Yann Galein, Véronique Genin, Jean-marie Gerard, Laurence Janssens, Anne Legrève, Henri Maraite, Virgine Moreau, Pierre Noël, Marie Eve Renard, Fabienne Richard, Nadine Vanemmerik, Viviane Vanhese, Brigitte Vanpee et Jeannine Weyns,

Et puis une collaboration avec le Professeur Sonia Collin m'a permis de partager quelques mois au laboratoire de Brasserie (UCL). Je tiens à l'en remercier et je remercie tout particulièrement Meike Brohan pour son aide et ses nombreux conseils.

Une partie de ce travail de thèse a été réalisée au CIRAD de Guadeloupe. Je remercie Marc Dorel pour l'aspect pédologique et son

Remerciements

expérience de terrain et Jean-Michel Risède pour l'aspect phytopathologique.

Je tiens à remercier spécialement Marie-Liesse Vermeire et Audrey Lagauche qui ont réalisé leur mémoire dans le cadre de ma thèse, et ainsi largement contribué aux résultats obtenus.

Je remercie l'Etat de Côte d'Ivoire de m'avoir octroyé une bourse depuis octobre 2004 pour faire un DEA et ensuite une thèse. Merci également à l'Université catholique de Louvain (UCL) de m'avoir octroyé une bourse pour les quatre derniers mois de la thèse.

Je remercie tous les membres de l'Eglise Protestante Baptiste de Louvain-la-Neuve pour leur soutien et leurs prières. Je me suis sentie en famille au milieu de vous.

Je remercie mes amies et sœurs pour leur soutien tout au long de ce travail de thèse. Je pense à Jeanne Bongoua, Felixine Akélé, Elise N'Guessan, Ines Alida, Michelle Sibahi. Je remercie aussi Aremou Ismaël, Olivier Dévisme et Olivier N'Guessan pour leurs nombreux coups de main. Je remercie tous ceux qui de près ou de loin n'ont cessé de m'encourager. J'ai une pensée profonde et emue pour « Feu » Prof. Assa Ayemou et Prof. Pothin Kabran qui n'ont pu assister à l'aboutissement de cette thèse.

Je remercie du fond du cœur mes parents, ma sœur jumelle, Madeleine et Isabelle pour leur soutien. Je remercie également mes beaux-parents et Prisca Amon pour leurs encouragements. Finalement pour terminer, je remercie Nestor, mon mari, qui m'a encouragé à mener à terme l'objectif que je m'étais fixé. Tu as été à mes côtés durant toute ma thèse, et tu m'as épaulé dans les hauts et les bas. Les derniers moments de la rédaction n'ont certes pas été faciles compte tenu de la distance qui nous séparait, mais tu n'as cessé d'être présent par tes nombreux appels téléphoniques. Merci à Yann-Emmanuel et Orlia pour leur présence et leur sourire radieux qui ont motivé leur maman à mener à bien ce projet.

Louvain-la-Neuve le 07 février 2012

Remerciements

Table des matières

<i>A ma famille</i>	<i>iv</i>
<i>Remerciements</i>	<i>i</i>
<i>Table des matières</i>	<i>v</i>
<i>Résumé</i>	<i>ix</i>
<i>Introduction générale et objectifs</i>	<i>1</i>
Introduction générale	3
Objectifs de la thèse	6
<i>Première partie</i>	<i>9</i>
<i>Revue bibliographique</i>	<i>9</i>
Chapitre 1. Le silicium dans l'agriculture	11
1.1 Le cycle global du silicium	11
1.2.1 Le silicium dans la phase solide du sol	13
1.2.2 Le silicium dans la solution du sol	15
1.3 Le silicium dans la plante	16
1.3.1 Prélèvement et teneur du silicium dans les plantes	16
1.3.2 Transport et accumulation	18
1.3.3 Les sources de silicium et les modes d'amendement	18
1.4 Les effets bénéfiques du silicium	20
1.4.1 Effet sur la croissance	20
1.5.2 Résistance aux stress abiotiques	21
1.5.3 Résistance aux stress biotiques	22
1.5.4 Mécanismes de défense des plantes	25
Chapitre 2. Le bananier, plante accumulatrice de silicium	31
2.1 Origine et classification	31
2.2 Morphologie de la plante	32
2.3 Importance socio-économique de la culture	33
2.4 Exigences écologiques	34
2.4.1 Facteurs climatiques	34
2.4.2 Facteurs édaphiques	35
2.5 Maladies et ravageurs du bananier	36
2.5.1 Maladies bactériennes	36
2.5.2 Maladies virales	37
2.5.3 Ravageurs	37
2.5.4 Les maladies fongiques	38

Table des matières

Deuxième partie	65
<i>Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du bananier en conditions contrôlées</i>	65
Chapitre 3	67
Protective role of silicon in the banana - <i>Cylindrocladium spathiphylli</i> pathosystem	67
3.1 Abstract	71
3.2 Introduction	72
3.3 Materials and methods	75
3.3.1 Soil materials	75
3.3.2 Plant material and weaning	76
3.3.3 Si solution production	76
3.3.4 Inoculum production	77
3.3.5 Inoculation procedure	78
3.3.6 Growth conditions after inoculation	78
3.3.7 Disease assessment	79
3.3.8 Growth assessment and mineral analysis	80
3.3.9 Statistical tests	80
3.4 Results	81
3.4.1 Silicon content	81
3.4.2 Root-rot severity	82
3.4.3 Plant growth parameters	85
3.5 Discussion	88
Chapitre 4	93
Silicon reduces black sigatoka development in banana	93
4.1 Abstract	97
4.2 Introduction	98
4.3 Materials and methods	100
4.3.1 Plants materials and growth conditions	100
4.3.2 Inoculum production	102
4.3.3 Inoculation procedure	102
4.3.4 Assessment of disease progress and image analysis	103
4.3.5 Determination of silicon content in plants	105
4.3.6 Data analysis	105
4.4 Results	106
4.4.1 Effect of Si amendment on banana plants grown in hydroponic conditions	106
4.4.2 Effect of Si amendment on banana plants grown in compost.	115
4.5 Discussion	119

Table des matières

Chapitre 5	Erreur ! Signet non défini.
Assessment of total polyphenols and antioxidant activity in <i>Mycosphaerella fijiensis</i> infected banana amended or not with silicon	Erreur ! Signet non défini.
5.1 Abstract	Erreur ! Signet non défini.
5.2 Introduction	Erreur ! Signet non défini.
5.3 Materials and Methods	Erreur ! Signet non défini.
5.3.1 Plant material, Si amendment and inoculation	Erreur ! Signet non défini.
5.3.2 Banana leaf samples	Erreur ! Signet non défini.
5.3.3 Determination of total polyphenols	Erreur ! Signet non défini.
5.3.4 Antioxidant activity measurement – Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Assay	Erreur ! Signet non défini.
5.4 Results and Discussion	Erreur ! Signet non défini.
5.4.1 Si content and disease progress	Erreur ! Signet non défini.
5.4.2 Effect of Si on total polyphenol content and antioxidant activity	Erreur ! Signet non défini.
Troisième Partie	Erreur ! Signet non défini.
<i>Etude de la disponibilité en Si pour le bananier suite à un amendement de silicate de calcium</i>	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre 6	Erreur ! Signet non défini.
Silicon availability for banana plants (<i>Musa acuminata</i>) in response to calcium silicate amendment	Erreur ! Signet non défini.
6.1 Abstract	Erreur ! Signet non défini.
6.2 Introduction	Erreur ! Signet non défini.
6.3 Materials and methods	Erreur ! Signet non défini.
6.3.1 Total elemental analysis of wollastonite	Erreur ! Signet non défini.
6.3.2 Wollastonite solubility	Erreur ! Signet non défini.
6.3.4 Plant growth experiment	Erreur ! Signet non défini.
6.3.5 Growth parameters and Si concentration in plants	Erreur ! Signet non défini.
6.3.6 Substrate analysis at harvest	Erreur ! Signet non défini.
6.3.7 Data analysis	Erreur ! Signet non défini.
6.4 Results and discussion	Erreur ! Signet non défini.
6.4.1 Wollastonite characterization	Erreur ! Signet non défini.
6.4.2 Substrate analysis at harvest	Erreur ! Signet non défini.
6.4.3 Uptake of Si by banana plants	Erreur ! Signet non défini.

Table des matières

6.4.4 Effect of wollastonite amendment on plant growth	Erreur ! Signet non défini.
6.5 Conclusion	Erreur ! Signet non défini.

Table des matières

<i>Discussion generale</i>	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
Stratégies expérimentales	Erreur ! Signet non défini.
Confirmation du prélèvement du Si par le bananier	Erreur ! Signet non défini.
Réduction du développement des maladies fongiques en présence du Si	Erreur ! Signet non défini.
Utilisation du silicate de calcium (wollastonite) comme source du Si	Erreur ! Signet non défini.
Conclusions et perspectives générales	Erreur ! Signet non défini.
<i>Références</i>	199
<i>Liste de publications scientifiques</i>	237
Articles publiés dans des revues internationales à comité de lecture	237
Participation à des congrès internationaux	237

Résumé

La banane représente une grande part des productions agricoles des pays tropicaux. Dans le contexte évolutif de la réglementation sur l'utilisation des produits phytosanitaires et dans la perspective de développer des systèmes de culture durables, il importe de concevoir de nouvelles stratégies pour lutter contre les maladies. Le silicium (Si) se révèle avoir un effet positif sur la résistance de plantes aux maladies. Le bananier étant une plante accumulatrice du Si, la question de l'effet protecteur du silicium sur cette culture méritait d'être posée.

L'objectif principal de cette thèse a été d'évaluer si l'accumulation de Si chez le bananier (*Musa acuminata* cv. Grande Naine) s'accompagnait d'une meilleure résistance aux stress biotiques. Des essais en conditions contrôlées dans des systèmes de culture distincts ont été mis en place, afin de comparer la dynamique de progression du pathogène racinaire *Cylindrocladium spathiphylli* et du pathogène foliaire *Mycosphaerella fijiensis* selon le niveau d'amendement en Si. L'apport du Si sous forme d'acide silicique (1,7 à 2 mM) a permis une accumulation en Si dans les feuilles de bananier jusqu'à des teneurs de 1% à 3% du poids sec et a entraîné la réduction des dégâts causés par *C. spathiphylli* deux semaines après inoculation. Il a également permis d'augmenter le poids sec des racines saines des plantes inoculées. Une réduction de l'infection des feuilles par *M. fijiensis* et un retard du développement de la maladie associés à l'accumulation de Si dans les

Résumé

feuilles ont aussi été observés. Ces résultats révélèrent l'intérêt tout particulier que peut représenter le Si dans la gestion intégrée des systèmes de production du bananier.

La compréhension du mode d'action du Si dans la résistance du bananier aux stress biotiques a été abordée au travers de l'analyse biochimique d'extraits de feuilles inoculées par *M. fijiensis*. Une augmentation de la teneur en polyphénols totaux et de l'activité antioxydante en présence de silicium suggère que ces deux éléments, très souvent associés, pourraient expliquer l'effet protecteur du Si.

Dans la perspective d'un enrichissement du sol en silicium en systèmes de culture, l'apport du silicate de calcium sous forme de wollastonite a été testé en conditions contrôlées sur un mélange de sable et de tourbe. Ce type d'apport s'est révélé constituer une source de Si disponible à la plante puisqu'une augmentation de la teneur en Si dans les feuilles sur un substrat amendé a été observée.

Résumé

Ce travail démontre un effet protecteur du Si au bananier par rapport à des pathologies fongiques et révèle que l'accumulation du Si et des composés phénoliques dans les tissus peuvent être impliqués dans ce phénomène. En révélant une source de Si potentiellement utilisable en conditions naturelles, il ouvre de nouvelles perspectives en matière de lutte contre la cercosporiose noire du bananier dans les systèmes de production intégrée.

Introduction générale et objectifs

Introduction générale

Introduction générale

Le silicium (Si) (31%) représente, après l'oxygène (49%), l'élément le plus abondant en masse de la lithosphère (Jones *et al.* 1967 ; Epstein 1999). Sa concentration dans les tissus végétaux est souvent supérieure à celle de l'azote et du potassium (Epstein 1999). Il est absorbé par les plantes sous forme d'acide monosilicique non chargé (H_4SiO_4), présent dans la phase aqueuse du sol. Il transite des racines au feuillage par l'apoplasme suivant le flux de transpiration, pour polymériser essentiellement sous forme de phytolithe ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) dans les espaces extracellulaires et dans les cellules épidermiques des feuilles (Jones and Handreck 1967).

Élément peu réactif et non toxique, le silicium a longtemps été considéré comme n'ayant aucune influence spécifique ou essentielle sur les fonctions métaboliques des êtres vivants (Fawe 1997). Seuls deux groupes de plantes sont connus pour avoir un besoin absolu et quantitatif en Si : les diatomées et autres algues appartenant aux *Chrystophyceae* et les plantes terrestres appartenant aux *Equisitaceae* (Epstein 1999). Le Si n'est pas considéré comme un élément essentiel pour les plantes supérieures (Epstein 1999). Cet attribut fait toutefois l'objet d'un débat scientifique (Epstein 1999), car l'alimentation en Si génère des effets positifs sur la croissance, le rendement et les propriétés mécaniques de nombreuses plantes telles que le riz, le blé, l'orge et le concombre (Ma et al. 2001 ; Ma and Takahashi 2002). De nombreuses études ont montré que le Si améliore la résistance des

plantes aux stress abiotiques et biotiques. Les stress abiotiques comprennent les stress liés aux conditions climatiques comme le gel, les problèmes de verse, la transpiration cuticulaire, mais aussi les stress minéraux tels que les toxicités métalliques ou stress salin. Au niveau des stress biotiques plusieurs études ont montré l'effet positif du Si sur la résistance des plantes à des maladies fongiques importantes telles que par exemple la pyriculariose du riz (Rodrigues et al. 2003) ou l'oïdium chez le concombre et le blé (Menzies et al. 1991a; Liang et al. 2005).

Bien que le silicium ait la capacité de diminuer la susceptibilité des plantes à différents agents pathogènes, les mécanismes d'action sont peu connus. Le rôle de barrière mécanique à la pénétration des agents pathogènes a été la première hypothèse (Kim et al. 2002). D'autres études suggèrent que le Si agisse sous forme soluble comme activateur des réactions de défense de la plante, incluant la synthèse de phytoalexines (Fawe et al. 2001).

Les effets bénéfiques du Si sont plus marqués sur les plantes qui accumulent activement le silicium telles que les monocotylédones dont le riz (Ma et al. 2001).

Comme de nombreuses monocotylédones, le bananier est une plante accumulatrice de silicium. Cette espèce joue un rôle important dans le monde, particulièrement dans les pays en voie de développement. La banane constitue un aliment de base et une source de revenus critique

pour quelque 400 millions d'habitants à travers le monde (N'Dabalishye 1995 ; Abadie et al. 2001). Dans les pays tropicaux, et surtout en Afrique occidentale, la banane et la banane plantain occupent une place prépondérante dans l'alimentation des populations. Les maladies et ravageurs demeurent les principaux facteurs limitant la production de banane à travers le monde (Thurson 1998). Les maladies foliaires dues aux *Mycosphaerella* constituent le groupe de pathologies causant les dégâts les plus importants chez les bananiers (Ploetz et al. 2003). *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agent responsable de la maladie des raies noires, est reconnu pour être l'espèce la plus agressive au sein du genre *Mycosphaerella* associé au bananier (Churchill 2011). *M. fijiensis* est un champignon hémibiotrophe (Carlier et al. 1996) qui provoque une réduction du rendement allant de 30 à 50% et une maturation prématurée des fruits (Swennen et Rosales 1994). Ce pathogène produit des phytotoxines qui, à faibles doses, s'avèrent nocives pour la plante hôte. Ces métabolites peuvent diffuser à partir du site d'infection vers les tissus adjacents et provoquer, chez un hôte sensible, des nécroses, des chloroses, un flétrissement ou une combinaison de ces symptômes. La culture bananière est aussi soumise à de fortes pressions parasitaires au niveau des racines causées par exemple par *Cylindrocladium spathiphylli*, un pathogène fongique tellurique (Risède et Simoneau 2004). Ce pathogène forme un complexe parasitaire avec le nématode *Radopholus similis* (Loridat 1989). *C. spathiphylli* est reconnu comme l'une des espèces les plus agressives

pour le bananier (Risède et Simoneau 2004). Les méthodes de lutte contre les maladies et ravageurs du bananier sont essentiellement chimiques et consistent en l'application de différents fongicides. Dans le cas d'une infection fongique par *Mycosphaerella fijiensis*, on peut aller jusqu'à 50 applications de fongicide par année pour une exploitation (Lassoudière 2007).

Les coûts économiques engendrés par l'utilisation des fongicides pour contrôler ces maladies entraînent des coûts économiques importants pour la majorité des producteurs, mais aussi des coûts écologiques pour l'environnement sont élevés.

Objectifs de la thèse

Sur base de la capacité du bananier à bioaccumuler le silicium et du rôle potentiel que cet élément joue dans les mécanismes de défense de la plante, ce travail de thèse vise tout d'abord à étudier l'impact de l'alimentation en silicium chez le bananier sur sa tolérance à deux maladies fongiques dans l'optique de développer une stratégie de lutte respectueuse de l'environnement. Les pathologies fongiques étudiées sont la cercosporiose noire du bananier, une maladie foliaire causée par *Mycosphaerella fijiensis* et la nécrose racinaire causée par *Cylindrocladium spathiphylli*.

Dans une perspective plus appliquée, le second objectif de ce travail de recherche est d'étudier la disponibilité en Si pour le bananier suite à un amendement de silicate de calcium.

Cette thèse rédigée sous forme d'articles est présentée en 6 chapitres regroupés en 3 parties.

La première partie présente une revue bibliographique faisant état des connaissances sur le silicium dans l'agriculture (*Chapitre 1*) et les caractéristiques principales du bananier ainsi que celles des pathogènes étudiés (*Chapitre 2*).

La deuxième partie porte sur l'étude de l'effet du silicium sur la résistance du bananier à des stress biotiques en conditions contrôlées et sur l'étude du mécanisme d'action potentiel. Le *chapitre 3* est consacré aux résultats de l'étude menée en conditions contrôlées en Guadeloupe visant à étudier l'effet d'un traitement en silicium sur la tolérance du bananier à la maladie racinaire causée par *Cylindrocladium spathiphylli*. Dans le *chapitre 4*, l'effet du silicium sur la susceptibilité du bananier à *Mycosphaerella fijiensis* est évalué. Le *chapitre 5* ébauche une première explication du mécanisme d'action du silicium par l'analyse des teneurs en polyphénols totaux et de l'activité antioxydante des feuilles de bananier.

La troisième partie est constituée d'un seul chapitre, le *chapitre 6* qui rapporte les résultats d'un essai qui visait à tester la disponibilité du Si pour le bananier suite à un amendement de silicate de calcium sous forme de wollastonite.

Introduction générale

Les principales avancées et les perspectives potentielles résultant de ce travail en matière de contrôle des maladies du bananier par le silicium font l'objet d'une discussion générale qui clôture cette thèse.

Première partie
Revue bibliographique

Chapitre 1. Le silicium dans l'agriculture

1.1 Le cycle global du silicium

Le silicium (Si) représente, après l'oxygène, l'élément le plus abondant de la lithosphère (31%). Le cycle global du Si joue un rôle important dans de nombreux processus biogéochimiques tels que la régulation du CO₂ atmosphérique via la nutrition des organismes aquatiques (Sommer et al. 2006). Le cycle du silicium se divise en un cycle continental et un cycle marin (Exley 1998). Le stock continental a été estimé à environ $3,8.10^{17}$ kg et le stock océanique à environ $2,5.10^{15}$ kg (Lucas 2007).

Dans le cycle continental, le silicium présent dans les minéraux primaires est libéré sous forme d'acide monosilicique (H₄SiO₄) dans la solution du sol via l'altération. Cette forme de silicium soluble peut conduire à la formation de minéraux secondaires, l'adsorption sur des oxydes, des précipités ou être lessivée vers les nappes souterraines (McKeague and Kline 1963) (Figure 1.1). Les végétaux participent également au cycle du Si (Meunier 2003). Ils absorbent le Si présent dans la solution du sol qui se précipite dans les organes en silicium phytogéniques (phytolites) puis est restitué au sol par la dégradation des tissus végétaux et par dissolution (Meunier 2003 ; Epstein 1999). Les phénomènes de dégradation et d'absorption confèrent à la plante une importance primordiale dans le cycle du Si (Alexandre et al. 1997).

Le cycle terrestre alimente le cycle marin en silicium soluble via les rivières (Exley 1998). En effet, au cours du développement du sol, une partie du silicium peut être lessivée et se retrouver dans les eaux de surface ou souterraines.

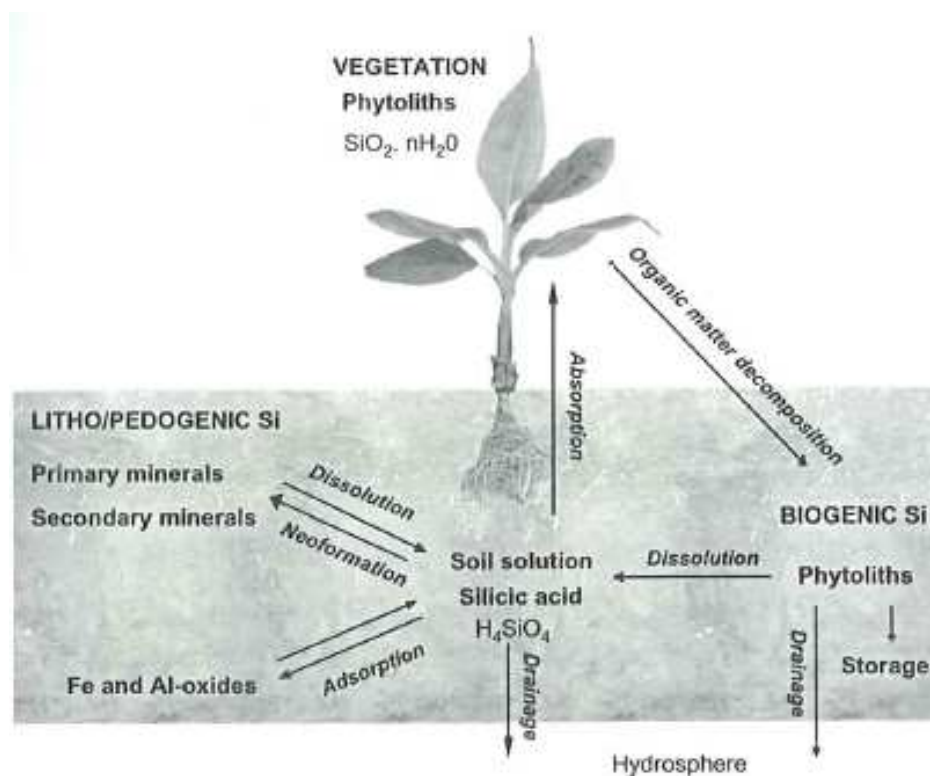


Figure 1.1. Cycle continental du silicium dans le système sol-plante (adapté de Opfergelt 2008)

1.2 Le silicium dans le sol

1.2.1 Le silicium dans la phase solide du sol

Le silicium dans la phase solide du sol peut être subdivisé en trois catégories : minéraux primaires issus du matériau parental, minéraux secondaires (phase cristalline) développés lors de la formation du sol principalement les minéraux argileux et les microcristaux secondaires (quartz secondaire, Opal CT, allophane, imogolite) qui sont aussi le résultat de la formation du sol (Sommer et al. 2006). La formation des minéraux secondaires est influencée par le pH du sol, la température, la présence de cations et des composés organiques en solution. L'acidification entraîne la désintégration des minéraux argileux et constitue une source de Si, ce phénomène est observé dans les sols très acides (Figure 1.2). Le silicium est aussi adsorbé à la surface des constituants du sol tels que les carbonates, les hydroxydes d'aluminium et les oxydes de fer (Sommer et al. 2006, Dietzel 2002).

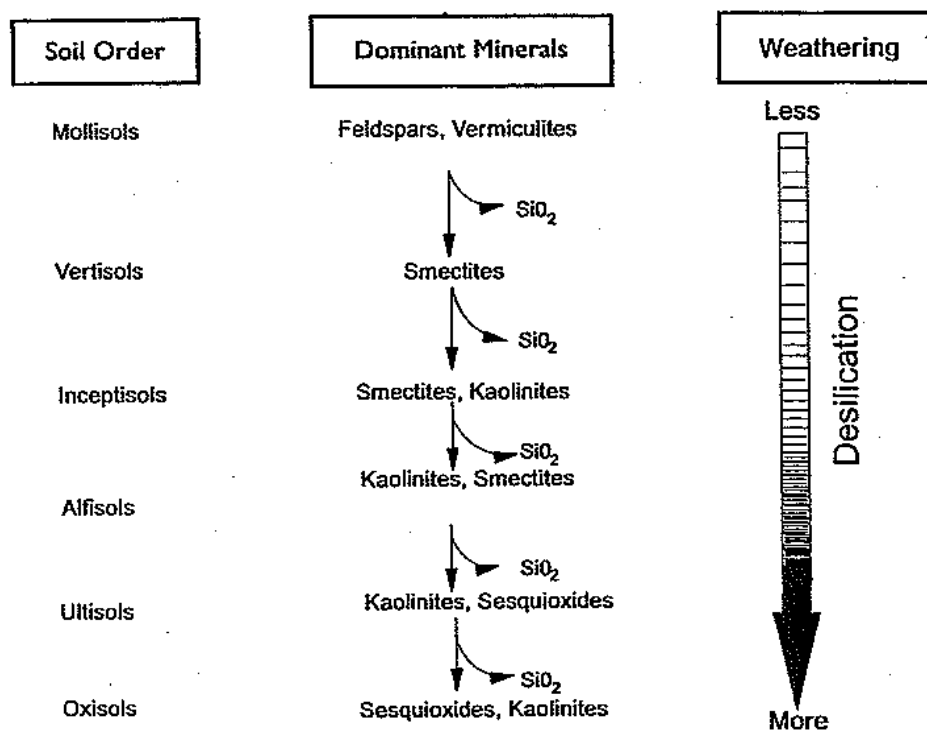
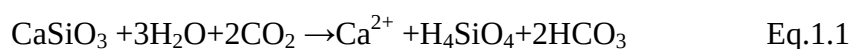


Figure 1.2. Séquence d'altération du sol (adapté de Epstein 2001)

1.2.2 Le silicium dans la solution du sol

Le silicium est présent dans la solution du sol sous forme d'acide silicique monomérique (H_4SiO_4) (Faure 1991). Il dérive de la dissolution des minéraux silicatés du sol tel que présenté par l'équation :



L'acide silicique monomérique peut être transformé en acide silicique polymérique sous des conditions très alcalines (Dietzel, 2002).

La concentration du Si dans la solution du sol est fonction de la solubilité des minéraux primaires et secondaires du sol. Celle-ci est fonction de la température, de la taille des particules et de leur composition chimique (Drees et al. 1989). La solubilité de la silice amorphe ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ou opale) est influencée par le pH du sol. Elle est essentiellement constante entre pH 2 et 8.5 mais augmente rapidement à pH 9. A l'équilibre, la concentration de l'acide silicique en contact avec la silice amorphe est de 1.8 mM. Mais les concentrations en acide silicique dans la solution du sol sont généralement comprises entre 0.1 et 0.6 mM (Epstein 1994).

Le matériau parental et notamment la teneur en minéraux altérables, le stade de développement du sol et la température sont les facteurs importants qui agissent sur la concentration du silicium dans le sol (Sommer et al. 2006).

1.3 Le silicium dans la plante

1.3.1 Prélèvement et teneur du silicium dans les plantes

La teneur en Si dans les plantes peut être comprise entre 1 à 100 g/kg de poids sec et donc varier d'un facteur 100 en fonction du type de plantes et du milieu de croissance (Meunier 2003). Les teneurs sont parfois équivalentes à celles de certains macronutriments comme le calcium (Ca), le magnésium (Mg) ou le phosphore (P).

Le Si est prélevé par les plantes sous forme d'acide monosilicique non chargé (H_4SiO_4) présent dans la phase aqueuse du sol lorsque le pH est inférieur à 9 (Ma et al. 2001 ; Ma et Takahashi 2002). Selon le mode de prélèvement en Si et le ratio Si/Ca - le prélèvement du Ca étant considéré comme critère de prélèvement passif, les espèces végétales sont classées en trois catégories (Epstein 1999 ; Takahashi et al. 1990, Ma et Takahashi 2002) :

- (1) Les espèces végétales non accumulatrices avec un mode de prélèvement avec rejet de Si : elles ont un contenu en Si inférieur à 0,5%, un ratio Si/Ca inférieur à 0.5 et prélèvent le silicium en quantité inférieure à celle estimée par flux de masse. Les plantes non accumulatrices réunissent les dicotylédones, les Gymnospermes.
- (2) Les espèces végétales intermédiaires avec un mode de prélèvement passif : elles ont un contenu en Si proche de 0,5% et un ratio Si/Ca compris entre 0,5 et 1, en raison du fait qu'elles prélèvent le silicium de manière passive, par diffusion

et flux de masse. Les plantes intermédiaires comprennent les Cucurbitales et les Urticales.

- (3) Les espèces végétales accumulatrices avec un mode de prélèvement actif : elles ont un contenu en Si supérieur à 0,5% et un ratio Si/Ca supérieur à 1. Ces plantes prélèvent le silicium en quantité supérieure à celle estimée par le flux de masse. Les plantes accumulatrices comprennent surtout les graminées de marais, les Equisétacées et les Cypéracées, les Graminées, les Musacées. Dans ces plantes, la teneur en Si peut atteindre 10-15% Si en poids sec.

De récentes études ont montré que le mode de prélèvement actif du Si et son transport dans la plante sont sous contrôle métabolique (Ma et al. 2004). Des transporteurs de Si responsables du mode de prélèvement actif ont été identifiés dans les racines (Lsi1 et Lsi2) et dans les parties foliaires (Lsi6) chez le riz (Ma et al. 2006, 2007 ; Yamaji et al. 2008). Ces transporteurs sont présents au niveau de l'endoderme et du site de chargement du xylème. La teneur en Si des plantes peut être influencée par différents facteurs tels que les minéraux altérables, le contenu en oxydes d'Al et de Fe, le contenu en eau et le pH, la fertilisation en azote et en phosphore et la transpiration des plantes (Henriet et al. 2008a, 2008b ; Jones et Handreck 1967 ; Ma et Takahashi 2002).

1.3.2 Transport et accumulation

Le transport de l'acide monosilicique à travers les tissus a lieu dans l'apoplasme (les parois cellulaires et les espaces intercellulaires), mais aussi les vaisseaux du xylème et le symplasme (le cytosol et les cellules conductrices du phloème) (Raven 2001). Le transport du Si se fait par diffusion et flux de masse d'eau (Raven 2001). Le silicium précipite dans les parties aériennes de la plante sous la forme de particules d'opales A, amorphe, appelées phytolithe ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), lorsque la concentration dépasse le niveau critique de 2 mM à 25°C (Jones and Handreck 1967 ; Ma et Yamaji 2006). Une fois déposé, le Si n'est plus disponible pour les autres parties de la plante. La plus grande partie du Si de la plante, soit 90% se trouve sous forme polymérisée (Fawe et al. 2001). La taille et la forme des phytolithes varient selon l'espèce et les conditions physico-chimiques lors de leur formation (Prychid et al. 2004).

Plusieurs sites de silicification ont été identifiés : (1) les parois cellulaires, (2) les vides cellulaires et (3) les espaces intercellulaires (Piperno 1988). Le silicium se localise principalement dans les sites majeurs de transpiration et se concentre dans les tissus âgés (Ma et Yamaji 2006).

1.3.3 Les sources de silicium et les modes d'amendement

Une source de silicium acceptable exige différentes caractéristiques, à savoir une teneur élevée en silicium soluble, une disponibilité rapide, des propriétés physiques permettant une application mécanisée et un

faible coût (Gascho 2001). Quelques sources sont solubles, mais très coûteuses pour les agriculteurs à faibles revenus. Tel est le cas du silicate de potassium (K_2SiO_3) qui est utilisé comme amendement dans la lutte contre certaines maladies du riz (Ma and Takahashi 2002). Le silicate de potassium est aussi utilisé dans les solutions nutritives chez la tomate et le concombre pour lutter contre la maladie causée par *Pythium* (Gascho 2001). Le silicate de sodium (Na_2SiO_3) constitue une seconde source et est utilisé pour les applications foliaires et racinaires. Mais il apparaît moins économique en application au sol car il nécessite une quantité élevée et le Na n'est pas profitable pour les plantes. Les silicates de calcium ($CaSiO_3$) sont apparus comme les sources les plus importantes pour les applications au sol (Savant et al. 1999 ; Gascho 2001). Ils sont appliqués sous forme de scories de sidérurgie. Cette source présente l'avantage d'être peu coûteuse.

Les résidus de plantes tels que la bagasse de canne à sucre (*Saccharum spp.*) contiennent une concentration considérable en silicium. Leurs applications à des taux élevés permettent un apport en silicium, mais la demande pour la fertilisation en silicium est supérieure à la production des résidus de récoltes (Gascho 2001).

Les quantités appliquées en silicium sont influencées par la composition chimique de la source, la teneur du silicium dans le sol et dans la plante (Savant et al. 1999). Chez le riz, l'application de silicate à des quantités optimales de 1,5-3 tonnes par hectare est largement pratiquée au Japon (Ma et Takahashi 2002). Selon Datnoff et al.

(1997), le silicium est appliqué au sol sous forme de silicate de calcium à raison de 5 tonnes par ha (1 tonne de Si ha⁻¹).

Pour la canne à sucre, de nombreuses études réalisées en Floride et en Hawaï ont recommandé une application de 7 à 9 tonnes de silicate par hectare (Savant et al. 1999). Cette quantité est suffisante pour apporter assez de silicium à la plante, ce qui permet aux tissus de contenir entre 3 et 5%. C'est à cette concentration que les plantes résistent le mieux contre les différentes infections. Généralement chez le riz et la canne à sucre, tout le silicium est appliqué au sol avant plantation.

Les résidus de plantes tels que la bagasse de canne à sucre (*Saccharum spp.*) contiennent une concentration considérable en silicium. Leurs applications à des taux élevés permettent un apport en silicium, mais la demande pour la fertilisation en silicium est supérieure à la production des résidus de récoltes (Gascho 2001).

1.4 Les effets bénéfiques du silicium

Le Si est un élément majeur des tissus des plantes, mais il n'est pas considéré comme essentiel car aucune liaison de type Si–O–C ou Si–C n'a été observée jusqu'à présent (Exley 1998). Cette notion d'essentialité est néanmoins contestée (Epstein 1999), car l'alimentation en Si génère de nombreux effets positifs.

1.4.1 Effet sur la croissance

Le Si soluble améliore la croissance, le développement et le rendement de nombreuses plantes telles que le riz (*Oryza sativa* L.), la

canne à sucre (*Saccharum officinarum* L.) et de nombreuses céréales (Jones et Handreck 1967 ; Savant et al. 1999 ; Datnoff et al. 2001; Ma et Takahashi 2002). Chez le riz, un apport du Si permet une augmentation des rendements et de la qualité des grains (Ma et Takahashi 2002). Il agit de manière positive sur la croissance du riz en diminuant la transpiration excessive, un excès de transpiration entraînant la fermeture des stomates et une diminution de la photosynthèse. (Ma et Takahashi 2002).

Les effets positifs du Si ont aussi été observés sur d'autres plantes telles que la tomate, le concombre, le soja, le fraisier, l'orge et le bambou (Okuda et Takahashi 1961 ; Ma et Takahashi 2002). Tous ces effets positifs du Si sur la croissance des plantes sont dus au dépôt du silicium dans les parois cellulaires qui confère une meilleure solidité aux tissus. Le Si favorise la stature, la pénétration du sol par les racines, l'exposition des feuilles à la lumière, la résistance à la verse de nombreuses plantes. Il stimule la photosynthèse en améliorant l'efficacité de l'utilisation de la lumière (Ma et Yamaji 2008, Ma et Takahashi 2002).

Le Si a certes de nombreux effets bénéfiques pour la plante, cependant, ceux-ci ne s'expriment mieux qu'en conditions de stress, et non en conditions optimales (Epstein 1994).

1.5.2 Résistance aux stress abiotiques

L'alimentation en Si entraîne la réduction du taux de transpiration, la résistance à la sécheresse, la résistance à la salinité, la résistance aux

toxicités métalliques, l'effet sur certaines activités enzymatiques (Epstein 1994, 1999, Ma et Takahashi 2002). Le Si augmente la résistance des plantes aux typhons, radiations excessives, UV et au gel (Hodson et Sangster 2002). Le Si réduit la disponibilité en éléments toxiques des racines des plantes telles que le riz et la canne à sucre (Savant et al. 1997). En effet, il agit sur le pouvoir oxydant des racines, permettant ainsi à la plante de réduire le prélèvement des ions métalliques tels que le manganèse (Mn), le fer (Fe) et l'aluminium (Al). Le Si favorise une meilleure distribution de ces ions dans les feuilles où leur stockage est sous une forme métaboliquement inactive (Ma et al. 2001). Le Si augmente la résistance du riz et de l'orge au stress salin (Liang et al 1996 ; Savant et al. 1997). En effet, il diminue la transpiration et la translocation du Na des racines vers les feuilles (Epstein 1999 ; Rice 2007).

1.5.3 Résistance aux stress biotiques

De nombreuses études ont démontré l'effet positif du silicium sur la résistance des maladies et ravageurs chez plusieurs plantes telles que le riz, les cucurbitacées, le raisin, le blé, le maïs, le sorgho et le gazon (turfgrass) (Datnoff et al. 2007). Les effets du traitement en Si se traduisent par une diminution du nombre de lésions, une réduction de la surface couverte par les colonies, une baisse de la germination des colonies, une diminution des symptômes de la maladie et donc une réduction du taux de mortalité des plantes et des pertes de rendement.

1.5.3.1 Silicium et maladies du riz

La plupart des études mettant en évidence l'impact positif du Si face aux maladies ont été réalisées sur le riz. En effet, l'application du silicium réduit la sévérité de maladies fongiques telles que la pyriculariose du riz causée par *Magnaporthe grisea* (Anamorphe= *Pyricularia oryzae* T. T. Hebert) (Datnoff et al. 2007). Le silicium réduit l'intensité du rhizoctone (sheath blight) causé par *Thanatephorus cucumeris* (A. B. Frank), de la maladie des taches brunes (Brown spot) causée par *Cochliobolus miyabeanus*, la pourriture de la tige causée par *Magnaporthe salvinii*, de l'échaudure des feuilles (leaf scald) causée par *Monographella albescens* et de la décoloration du grain (Grain discoloration) causée par un complexe d'insectes et de champignons (Datnoff et al. 1990,1991 ; Savant et al. 1997 ; Korndöfer et al. 1999 ; Seebold et al. 2000 ; Datnoff et al. 2007). Au niveau des maladies bactériennes du riz, Chang et al. (2002) ont montré une réduction significative (de 5 à 22 %) de la longueur des lésions du flétrissement bactérien causé par *Xanthomonas oryzae* en présence du Si.

1.5.3.2 Silicium et maladies des cucurbitacées

Chez les cucurbitacées, l'étude de l'effet du Si a principalement porté sur le concombre. Les maladies fongiques du concombre contrôlées par le Si incluent l'oïdium causée par *Sphaerotheca fuligenae* (Miyaki et Takahashi 1983 ; Menzies et al. 1991b), les pourritures de racines causées par *Pythium ultimum* et *P. aphanidermatum* (Chérif et al.

1992a, 1994 ; Chérif et Bélanger 1992). Le Si diminue le taux de mortalité des plantes, la pourriture des racines, et la perte de rendement causée par les pathogènes.

La pulvérisation foliaire du silicate de potassium à des concentrations de 17 mM s'est aussi révélée positive pour le contrôle de l'oïdium chez le melon et la courge (Menzies et al. 1992).

1.5.3.3 Silicium et autres pathosystèmes

Chez le blé, l'application racinaire du Si diminue l'incidence de plusieurs maladies telles que l'oïdium causée par *Blumeria graminis* (Bélanger et al. 2003 ; Guével et al. 2007), les taches des feuilles causée par *Mycosphaerella graminicola* et *Stagonospora nodorum* (Rodgers-Gray et Shaw 2004).

L'application racinaire du Si induit un effet protecteur chez bien d'autres plantes, telles que l'Arabidopsis (Fauteux et al. 2006), l'avoine (Carver et al. 1998), le caféier (Martinati et al. 2008), le fraisier (Kanto 2002), le maïs (Sun et al. 1994), le soja (Arsenault-Labrecque et al. 2011), le tabac (Zellner et al. 2011), la tomate (Ghareeb et al. 2011a).

Chez la vigne, l'application foliaire du Si empêche le développement de l'oïdium causé par *Uncinula necator* (Bowen et al. 1992).

Outre les maladies fongiques, l'application du Si entraîne aussi une augmentation de résistance aux nématodes (Swain and Prasad 1988), aux insectes herbivores (Reynolds et al. 2009) et aux plantes parasites (El Hiweris 1987).

1.5.4 Mécanismes de défense des plantes

Bien que le silicium ait la capacité de diminuer la susceptibilité des plantes à différents pathogènes, les mécanismes d'action *in planta* sont encore peu connus (Fawe et al. 2001). Il agirait à trois niveaux différents dans la plante en produisant une barrière physique, en interférant avec certains mécanismes biochimiques et moléculaires.

1.5.4.1 Barrière physique

Les barrières physiques, constitutives ou induites jouent un rôle important dans la résistance des plantes (Raid et al. 1992 ; Fawe et al. 2001). La première hypothèse sur l'implication du silicium dans l'augmentation de résistance des plantes aux maladies a été de considérer un rôle de barrière mécanique à la pénétration du pathogène (Wagner 1940 ; Bélanger et al. 1995). En effet, le Si polymérise de manière préférentielle dans les parois cellulaires et dans les vaisseaux du xylème qui représentent certaines voies d'infections privilégiées par les agents pathogènes (Fawe et al. 2001).

Le Si polymérisé permet de renforcer les parois cellulaires et agit comme barrière mécanique s'opposant à la pénétration physique et/ou rendant la cellule végétale moins susceptible à la dégradation enzymatique par le pathogène (Ma et Takahashi, 2002). Le concept de barrière physique joué par le Si a été étudié chez le riz (Yoshida et al. 1962 ; Ishiguro 2001), le concombre (Samuels et al. 1991) et le blé

(Wiese et al. 2005). Chez le riz, le Si polymérisé est localisé sous la cuticule des cellules épidermiques où il forme une barrière empêchant la pénétration de *Magnaporthe grisea* (Anamorphe: *Pyricularia oryzae*) agent de la pyriculariose du riz (Yoshida et al. 1962 ; Fawe et al. 2001). Selon Volk et al. (1958), le Si formerait un complexe avec les composés organiques au niveau des parois des cellules épidermiques, augmentant ainsi leur résistance à la dégradation des enzymes libérés par *M. grisea*.

Cependant, bien que le Si soit effectivement déposé préférentiellement aux sites de pénétrations, et qu'il soit déposé à des taux plus élevés après la pénétration, l'hypothèse du renforcement de parois cellulaires par le Si pour expliquer la résistance accrue des plantes contre les mycètes pathogènes a été fortement contestée au cours des dernières années (Fauteux 2006). La première contradiction est venue de Samuels et al. (1991). Ces auteurs ont prouvé que l'arrêt du traitement en Si entraîne la perte des effets prophylactiques. Ainsi, l'interruption de l'alimentation en Si entraîne une perte de résistance bien que l'opale soit accumulée irréversiblement. Chérif et al. (1992b) lors d'une étude sur le pathosystème *Pythium ultimum* sur le concombre ont montré que l'accumulation du silicium dans les tissus au niveau des sites de pénétration du champignon ou dans les parois cellulaires épidermiques ne joue pas le rôle de barrière physique contre l'attaque fongique. De même Heine et al. (2007) ont montré que l'accumulation du Si dans les parois cellulaires des racines ne représentait pas une

barrière physique à la propagation de *Pythium aphanidermatum* dans les racines de courge et de la tomate.

1.5.4.2 Mécanisme biochimique

Lorsque des plantes sont infectées par certains pathogènes, elles peuvent développer une résistance accrue à l'encontre d'infections futures. Ce phénomène de défense naturelle des plantes est appelé résistance systémique acquise (SAR : systemic acquired resistance) (Conrath 2006). Si induit des réponses de défense qui sont fonctionnellement similaires à la SAR : l'activité enzymatique antioxydante et la production de composés antifongiques comme les phénols, les phytoalexines et les protéines Pr sont augmentées chez les plantes traitées au Si (Cai et al. 2008, 2009). Plusieurs études ont montré que la diminution de la sévérité de la maladie dans les plantes traitées avec du Si était liée à une augmentation de l'activité des enzymes de protection (peroxydase, polyphénol oxydase et phénylalanine ammonia-lyase) dans les feuilles de riz (Cai et al. 2008), dans le blé (Yang et al. 2003) et chez le concombre (Liang et al. 2005 ; Chérif et al. 1994). Menzies et al. (1991) ont montré que le Si agissait de manière active sur le métabolisme de la plante, en stimulant ses voies de défense naturelles. En effet, une étude réalisée par ces auteurs sur le métabolisme d'infection du concombre par *Sphaerotheca fuliginea* a permis de montrer que le Si accumulé au point d'infection est impliqué dans les réactions de défense de l'hôte, en particulier dans la production de composés phénoliques (phenolic-

like compounds). Chez le blé (Bélanger et al. 2003), le concombre (Menzies et al. 1991) et le riz (Rodriguez et al. 2003), l'apport du Si stimule l'accumulation de composés phénoliques dans les cellules infectées.

Cette théorie est confirmée par les travaux de Cherif et al. (1992a, 1992b, 1994). Selon ces auteurs, la présence de silicium est associée à l'augmentation de l'activité de la phénylalanine ammonia-lyase, des chitinases, des peroxydases et de la polyphénoloxydase, des enzymes impliquées dans les mécanismes de défense des plantes, chez le concombre, contre *Pythium ultimum*. Ces enzymes jouent un rôle important dans la régulation, la production et l'accumulation des composés antifongiques tels que la lignine, les phytoalexines. L'apport du silicium entraîne la production de composés antifongiques après la pénétration du champignon dans les cellules épidermiques (Fawe et al. 1998 ; Rodrigues et al. 2004 ; Rémus-Borel et al. 2005). Fawe et al. (1998) ont révélé la présence de flavonoïdes de phénols acides et une grande accumulation de phytoalexines dans des plantes de concombre alimentées en Si et inoculées avec *S. fuliginea*. Bélanger *et al.* (2003) en utilisant le système blé-*Blumeria graminis*, ont démontré grâce à des analyses histologiques et ultra structurales que les cellules épidermiques des plantes traitées au silicium réagissaient par une augmentation des réactions de défense telles que la formation de papilles, la production de callose et la production de composés phénoliques glycosilés.

Dans de nombreux tissus végétaux, l'activité antioxydante est liée à la teneur totale de composés polyphénoliques. Leur effet bénéfique est souvent attribué à cette exceptionnelle activité antioxydante (Heim et al. 2002). Dans la plupart des pathosystèmes, l'une des premières réactions des cellules végétales en réponse à une attaque d'agents pathogènes est l'accumulation de dérivés réactifs d'oxygène (ROS : Reactive oxygen species) tels que les superoxydes ($O_2^{\cdot -}$) et les peroxydes d'hydrogène (H_2O_2) (Cavalcante et al. 2011). La production rapide des ROS est induite par l'attaque d'agents pathogènes et conduit à la décomposition des tissus végétaux. Selon plusieurs auteurs, cette production de ROS jouerait un rôle important dans l'inhibition de l'infection après la reconnaissance de l'agent pathogène.

Le Si peut augmenter l'activité antioxydante des plantes en présence de stress abiotiques et biotiques (Liu et al. 2009). Le Si agit en atténuant les dommages causés par les ROS (Reactive Oxygen Species) induits par des stress tels que le stress salin (Liang 1999 ; Liang et al. 2003), la sécheresse (Gong et al. 2005) et l'attaque par l'oïdium (Wei et al. 2004).

1.5.4.3 Mécanisme moléculaire

Le silicium affecte l'expression des gènes lorsque la plante est en présence de stress (Watanabe et al. 2004). Une étude réalisée par Fauteux et al. (2006) sur l'interaction silicium- *Arabidopsis thaliana*-*Erysiphe cichoracearum* a montré que de nombreux gènes liés au

système de défense de la plante ont été activés en présence du champignon, mais grâce au silicium, la plante a subi moins de stress. Chez le riz, Watanabe et al. (2004) ont rapporté que plusieurs gènes ont été régulés par le Si. Ces auteurs ont démontré que le gène AU068650, un homologue du 'zinc finger protein' est mieux exprimé en présence du Si. Lors d'une étude sur l'interaction tomate-*Ralstonia solanacearum*, Ghareeb et al. (2011) ont montré que l'application du Si entraînait une meilleure stabilité dans l'expression des gènes, confirmant ainsi l'idée selon laquelle les effets bénéfiques du silicium sont attribuables à l'atténuation des effets délétères du stress. Le silicium agirait sur l'expression des gènes en modulant la transduction du signal intracellulaire post-élicitation (Fauteux et al. 2005). Selon ces auteurs, le silicium pourrait améliorer les réactions de la plante indirectement en séquestrant des cations métalliques (connus pour jouer un rôle structural dans nombre d'enzymes), ou directement en modulant l'activité des protéines impliquées dans la transduction du signal. Le silicium pourrait jouer un rôle positif dans la résistance locale et systémique en agissant sur les événements de signalisation menant entre autres à la synthèse d'acide salicylique, d'acide jasmonique et d'éthylènes qui sont des composés participant à la transmission de l'information dans les cellules, mais également des signaux systémiques de stress (Fauteux et al. 2005).

Chapitre 2. Le bananier, plante accumulatrice de silicium

2.1 Origine et classification

Le bananier est originaire de l'Asie du Sud-Est. Il est cultivé dans de nombreuses régions du monde, principalement en Amérique latine et en Afrique (Swennen and Vuylsteke 2001).

Les bananiers sont des monocotylédones de l'ordre des scitaminales ou zingibérales appartenant à la famille des *Musaceae*. Cette famille comporte trois genres: *Musella*, *Ensete*, *Musa*, présentant une forte variabilité (Lassoudière 2007). Le genre *Musa* a été divisé en quatre sections sur base du nombre de chromosomes et de caractéristiques morphologiques. Des différentes sections, seule la section *Eumusa* (n=11) a donné des espèces parthénocarpiques. Cette section comprend 10 espèces. Les deux espèces principales de cette section sont *Musa acuminata* (AA) et *Musa balbisiana* (BB). La contribution haploïde de *M. acuminata* et de *M. balbisiana* aux bananiers est indiqué respectivement par A et B (Lassois et al. 2009; Simmonds et Shepherd 1955). *M. acuminata* est à l'origine de tous les bananiers à fruit parthénocarpiques, seul ou avec la participation de *M. balbisiana* (Lassoudière 2007).

D'un point de vue botanique, le genre *Musa* se divise en deux grands types : Les variétés non comestibles et les variétés comestibles. Les espèces à fruits non comestibles ou sauvages utilisables à d'autres fins, fibres, alimentation du bétail (Lassoudière 2007). Ces espèces

sont toutes diploïdes (AA et BB) et souvent utilisées en amélioration végétale pour leur résistance aux maladies et leur fertilité. Actuellement, on compte environ 180 variétés, toutes originaires d'Asie du Sud-est (Lassois et al. 2009)

Les variétés comestibles à fruits charnus et sans graines sont au nombre de 1200 environ. Ces variétés sont réparties en cinq groupes suivant leur niveau de ploïdie et leur constitution : les groupes diploïdes AA et AB, les groupes triploïdes AAA, comprenant la majorité des cultivars à fruits destinés à l'exportation, dont les sous-groupes Gros Michel, Cavendish, Yangambi Km 5, AAB constitué essentiellement des bananes à cuire avec une prédominance des plantains et ABB, comprenant des bananiers rustiques donnant des fruits à consommer cuits (Lassoudière 2007).

2.2 Morphologie de la plante

Le bananier est une herbe géante de 1.5 à 8 m de hauteur dont le pseudo-tronc est formé par l'emboîtement des gaines foliaires. Les feuilles sont émises par le méristème terminal de la tige vraie souterraine appelée « bulbe » (Lassois et al. 2009). Cette tige souterraine est le centre vital du bananier, la plaque tournante du développement de la plante et de tous les échanges nutritionnels. Elle constitue le lieu de formation des racines, des feuilles et de l'inflorescence (Lassoudière 2007).

Les feuilles de bananier sont composées d'une gaine, d'un pétiole et d'un limbe avec des nervures centrales parallèles. Les nouvelles feuilles se déroulent au sommet du pseudo-tronc. Par convention, elles sont numérotées de la plus jeune à la plus âgée (Bakry et al. 1997). Une nouvelle feuille est formée tous les 7 à 10 jours, cependant cette période est allongée lorsque les conditions de croissance ne sont pas optimales. Le nombre de feuilles varie selon le cultivar et les conditions environnementales (Jones 2000). Un bananier porte environ 10-15 feuilles fonctionnelles au moment de la sortie de l'inflorescence (Lassoudière 2007).

2.3 Importance socio-économique de la culture

Le bananier constitue le quatrième produit agricole en termes de production mondiale après le riz, le blé et le maïs. Il occupe le premier rang de la production fruitière, avec un peu plus de 117 millions de tonnes produites annuellement à l'échelle mondiale (Ganry et al. 2012). Il est cultivé dans plus de 120 pays sur les 5 continents et sur plus de 10 millions d'hectares (Bakry et al. 1997 ; Lassoudière 2007 ; Lassois et al. 2009). Près de 90% de la production sont issus de petits agriculteurs, produisant pour la consommation domestique et les marchés locaux. Seuls 10% de la production mondiale sont destinés à l'exportation (Lassois 2009). Les bananes à cuire correspondent à 43% de la production mondiale. Les bananes dessert représentent 57% de la production mondiale, avec la majorité issue du groupe

Cavendish. L'Inde est le plus grand producteur, suivie de l'Équateur, de la Chine, de la Colombie et du Costa Rica (Lassoudière 2007).

Les bananes et les bananes plantains jouent un rôle majeur dans la nutrition, le bien-être et la vie culturelle de millions de personnes. Elles sont consommées principalement sous forme de produit frais ou comme légume cuit ou frit, mais font également l'objet de nombreuses transformations : chips, frites, beignets, purée, confiture, ketchup, alcool, vin, bière, etc. (Lassois 2009). D'autres parties de la plante sont utilisées comme fibre textile, pour la construction d'abris, la fabrication de couvertures ou comme emballage de cuisson.

La banane est riche en glucides (22 %) dont : glucose (20 %), saccharose (65 %) et fructose (15 %). Les teneurs en protéines (1.0 %), lipides (0.5 %) sont insignifiantes. La banane apporte près du double de l'énergie fournie par la pomme et trois fois celle des agrumes. Elle est riche en potassium mais pauvre en calcium, fer et sodium. C'est une bonne source de vitamines A, B et C (Lassoudière 2007).

2.4 Exigences écologiques

2.4.1 Facteurs climatiques

La température et le rayonnement sont les facteurs essentiels qui jouent sur la croissance de la plante en intervenant dans le métabolisme via la photosynthèse et la transpiration (Lassoudière 2007). Les bananiers sont généralement cultivés entre 19°C et 33°C

(Swennen et Vuylsteke 2001). La température minimale pour l'émergence d'une feuille est de 16°C, avec un arrêt de la croissance en dessous de 14°C. Exposés à moins de 0°C, les bananiers périssent (Swennen et Vuylsteke 2001). L'influence du rayonnement se fait par l'intermédiaire de la température. Les fortes insulations n'ont pas d'action néfaste sur les plantes adultes. Le manque de lumière agit sur la hauteur des plantes et peut faire « filer » les rejets (Lassoudière 2007). Les bananiers à fruits de dessert et plantains ont un besoin en eau relativement important. Ils sont cultivés dans un environnement humide à hygrométrie élevée de 60 à 100%. Les bananiers requièrent 25 à 70 mm d'eau par semaine (ou 1300 à 3600 mm par an) en fonction du taux d'évapotranspiration (Swennen et Vuylsteke 2001).

2.4.2 Facteurs édaphiques

Les bananiers et plantains sont cultivés sur différents types de sols. Les bananiers pour l'exportation sont cultivés en système intensif souvent sur des andosols d'origine volcanique (Rufyikiri 2000). En milieu tropical, le bananier se développe sur des sols profonds, bien drainés, avec une teneur en matière organique élevée (Swennen et Vuylsteke 2001). La croissance et le rendement de la plante dépendent largement de la fertilité du sol.

Le bananier est une plante exigeante en éléments minéraux. Les éléments minéraux indispensables au bon développement de la plante sont l'azote, le phosphore, le potassium, le calcium et le magnésium. Les besoins en potassium sont particulièrement importants (Delvaux

1995). Le bananier requiert des conditions neutres à modérément acides, cependant il peut se développer dans une gamme de pH de 4.5 à 8.5 (Delvaux 1995).

2.5 Maladies et ravageurs du bananier

Il existe une diversité importante de parasites du bananier dans le monde (Lassoudière 2007).

2.5.1 Maladies bactériennes

L'une des maladies bactériennes la plus importante est la maladie de Moko, causée par *Ralstonia solanacearum* Smith. Cette maladie entraîne le nanisme, la malformation d'organes et le flétrissement vasculaire de la plante. L'agent pathogène en cause a conduit à l'élimination du cultivar Bluggoe (ABB) dans de nombreuses régions. Parmi les maladies bactériennes, on retrouve aussi les pourritures de la tige souterraine, causées par *Erwinia spp.* Elles sont très largement répandues mais ne présentent pas d'incidence majeure (Lassoudière 2007). Leur impact sur les cultures est facilement limité en utilisant du matériel sain et en assainissant le sol.

Le flétrissement bactérien du bananier dû à une bactérie du genre *Xanthomonas* et détecté pour la première fois en Ouganda en 2001, s'est depuis propagé rapidement (Smith 2006). Cette maladie bactérienne rend les fruits non comestibles et tue les plantes. La propagation de cette maladie est faite par des insectes. Ils déplacent la bactérie des bourgeons mâles d'une plante malade vers l'inflorescence

d'une plante saine. Les moyens de lutte sont la prévention et le contrôle de la maladie (Smith 2006).

2.5.2 Maladies virales

Plusieurs maladies virales sont rapportées les bananiers, elles sont souvent liées aux infections généralisées de la plante, excepté le méristème (Lassoudière 2007). La mosaïque en plage (causée par le *Cucumber mosaic virus*) et la mosaïque en tirets (causée par le *banana streak virus*) représentent les virus les plus répandus. Elles sont souvent transmises par les pucerons ou les cochenilles (Swennen et Vuylsteke 2001). Le Bunchy top virus causé par le *Banana bunchy top virus* est un virus limité dans sa distribution géographique, mais dont les conséquences sont très graves sur la production (Lassoudière 2007). La mosaïque des bractées due à *Banana bract mosaic*, provoque des symptômes caractéristiques sur les bractées et parfois sur le pseudo tronc (Jones 2000).

2.5.3 Ravageurs

Le charançon noir, *Cosmopolites sordidus*, est le ravageur d'importance mondiale du bananier (Lassoudière 2007). Il provoque des pertes de rendement de l'ordre de 70% en l'absence de contrôle chimique (Ganry 2004).

Les nématodes sont également des ravageurs très répandus. Le principal est *Radopholus similis*, suivi de *Pratylenchus coffae* et de *Pratylenchus goodei* (Lassoudière 2007). Ils endommagent les

racines du bananier, seuls ou associés à des champignons des genres *Cylindrocladium*, *Fusarium* ou *Rhizoctonia* (Loridat 1989) en formant un complexe parasitaire racinaire (Risède 2002).

2.5.4 Les maladies fongiques

Ce travail de thèse s'intéressant principalement à deux maladies fongiques : *Mycosphaerella fijiensis* et *Cylindrocladium spathiphylli*, leur description fera l'objet de paragraphe particulier.

2.5.4.1 Les cercosporioses

Les principales contraintes parasitaires du bananier sont des attaques fongiques aériennes liées à trois espèces du genre *Mycosphaerella* : *M. musicola* (anamorphe : *Pseudocercospora musae*), l'agent causal de la maladie de Sigatoka, encore appelée cercosporiose jaune ou yellow Sigatoka (MS) et *M. fijiensis* (anamorphe : *Paracercospora fijiensis*), l'agent causal de la maladie des raies noires ou cercosporiose noire (MRN) et *M. eumusae* (anamorphe : *Pseudocercospora eumusea*), agent causal de la maladie des taches foliaires (Mulder et Stover 1976 ; Fouré et Mouliom Pefoura 1988).

2.5.4.1.1 Sigatoka jaune

Les contraintes fongiques causées par *M. musicola* et par *M. fijiensis* représentent les problèmes phytopathologiques les plus importants des productions bananières au niveau mondial. Ces maladies entraînent

des pertes économiques estimées, au niveau mondial, supérieures à 50% de la production (Burt et al. 1997).

Les attaques foliaires engendrées par ces agents entraînent une nécrose, une diminution de la photosynthèse des tissus et une grande perte du rendement. La maladie accélère aussi la maturation des fruits entraînant leur mûrissement prématuré résultant en une perte nette du rendement (Pasberg-Gauhl et al. 2000).

La Sigatoka jaune est apparue la première fois à Java en 1902 (Jones 1999) et dans la vallée de Sigatoka (d'où le nom de maladie de Sigatoka) aux îles Fiji (Masse 1914). La première grande étape de la Sigatoka jaune a été observée en 1913 (Masse 1914). La maladie s'est introduite en Afrique de l'Ouest dans les années 1940.

M. fijiensis et *M. musicola* sont strictement inféodés au genre *Musa*. *M. fijiensis* se distingue de *M. musicola* par son activité pathogène très supérieure et par le fait qu'il peut s'attaquer avec succès à un spectre plus large de variétés de bananiers plantains et autres bananes à cuire (AAB, ABB) (Mourichon et al. 1987). Cette espèce est en pleine expansion et remplace progressivement *M. musicola* dans la plupart des zones de production (Mourichon et Fullerton 1990). En Asie et en Amérique centrale, *M. fijiensis* a progressivement remplacé *M. musicola* là où les cercosporioses jaunes et noires coexistaient (Carlier et al. 2000). La dominance d'une espèce sur l'autre est fonction de la température. La cercosporiose jaune se développe à des températures plus fraîches que la cercosporiose noire. Une plus forte sensibilité de *M. fijiensis* aux températures inférieures à 20°C est

observée (Mourichon 2003). La croissance du tube germinatif de *M. musicola* est plus rapide à 17°C que celle de *M. fijiensis*. La maladie de Sigatoka se maintient dans les seules régions d'altitude (Mouliom Pefoura et Mourichon 1990). En Afrique, elle cause des dommages considérables dans les régions de hautes altitudes (régions montagneuses) sur les cultivars Cavendish, Pome et aussi sur le plantain qui est un hôte résistant à basse altitude. Elle est aussi présente dans les Antilles françaises notamment en Guadeloupe.

2.5.4.1.2 Les cercosporioses noires

❖ Historique et répartition géographique

La cercosporiose noire ou maladie des raies noires (MRN), causée par *Mycosphaerella fijiensis* est apparue pour la première fois aux îles Fiji en 1963 tout comme *M. musicola* dans la vallée de Sigatoka (Rhodes 1964). Elle est depuis largement distribuée en Asie du Sud-est, dans le Pacifique, en Amérique centrale et en Afrique. En Afrique, la première description a été faite pour la première fois en Zambie en 1973 et au Gabon en 1978. Elle s'est répandue le long de la côte occidentale vers le Cameroun, le Nigeria, le Bénin, le Togo, le Ghana, la République Démocratique du Congo et la Côte d'Ivoire. Dans les Antilles françaises, seules la Guadeloupe et la Dominique sont indemnes de cette maladie.

La maladie des raies noires est considérée aujourd'hui comme l'un des principaux facteurs limitant pour la culture des bananiers, plantains et autres bananes à cuire (Mourichon et al. 1987). La MRN cause des

dégâts importants dans les cultures de bananiers et plantains dans le monde. Cela se traduit par des pertes de rendement de 30 à 50% de la production (Stover 1989 ; Ganry 1992 ; Gauhl et al. 1993).

❖ Symptômes

Il est parfois difficile d'établir la différence entre les symptômes de la maladie des raies noire et ceux de la maladie de Sigatoka. Les premiers symptômes causés par *M. fijiensis* ne sont pas visibles en lumière transmise, apparaissent sur la face inférieure de la feuille et correspondent à de petits points marron foncés mesurant 1 à 2 mm de diamètre (Fouré et al. 1984). Ces points évoluent ensuite en raies de couleur brune à noire. Ces raies s'élargissent pour former des lésions nécrotiques à halo jaune et centre gris clair (Mourichon et al. 1997). Les lésions peuvent devenir coalescentes et détruire de vastes portions de tissus foliaires. Généralement, la feuille noircit et meurt entre 3 à 4 semaines (Suman 1996). L'évolution des symptômes dépend du cultivar, de la quantité d'inoculum primaire, de la température et de l'humidité (Fullerton 1994). Une plus grande partie du développement de la maladie se fait au niveau de la face inférieure de la feuille car elle présente une densité stomatique plus élevée que la face supérieure. L'infection est faite via les stomates (Suman 1996). L'évolution des symptômes en conditions naturelles (champs) peut se résumer en 6 stades tels que décrits par Fouré (1982) (Tableau 2.1). En conditions contrôlées, l'évolution des symptômes se résume en 5

stades tels que décrits par Mourichon et al. (1987) Tableau 2.2, Figure 2.1).

Tableau 2.1. Description des stades de développement de la cercosporiose noire en champ (d'après Fouré, 1982)

Échelle	Description
Stade 1	Décolorations et ponctuations brunes inférieures à 0,5 mm sur la face inférieure de la feuille
Stade 2	Raies brunes rouille inférieures à 4 mm et visible sur les deux faces
Stade 3	Raies allongées et élargies
Stade 4	Taches brun-noir elliptiques
Stade 5	Taches brun-noir entourées d'un halo jaune
Stade 6	Taches desséchées virant au gris avec en son centre des points noirs qui correspondent aux fructifications du pathogène

Tableau 2.2. Description des stades de développement de la cercosporiose noire en conditions contrôlées (Mourichon et al. 1987).

Échelle	Description
Stade 1	Ponctuations très petites d'un diamètre inférieur à 0.5 mm, juste visible à l'œil nu
Stade 2	Tirets brun rouille d'une largeur inférieure à 4 mm
Stade 3	Tirets allongés et élargis
Stade 4	Taches brun-noir elliptiques
Stade 5	Taches brun-noir entourées d'une zone chlorotique jaune et dont le centre est bien desséché

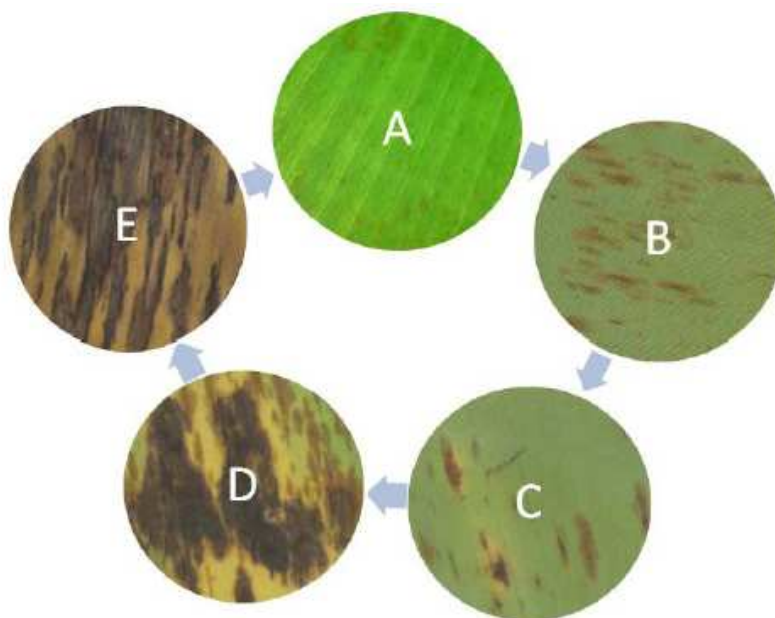


Figure 2.1. Différents stades de la cercosporiose noire en conditions contrôlées, stade 1 et 2 (A), stade 3 (B), stade 4 (C, D) et stade 5 (E)

❖ **L'agent pathogène *Mycosphaerella fijiensis***

➤ **Systématique et biologie**

M. fijiensis est un champignon ascomycète appartenant à la famille des *Mycosphaerellaceae* (Morelet 1969). Cette espèce hétérothallique comportant une forme imparfaite *Cercospora fijiensis* (*Pseudocercospora fijiensis* Morelet Deighton) (Deighton 1979) mais se développe naturellement selon deux modes de reproduction l'un sexué et l'autre asexué (Mourichon et Zapater 1990).

La forme asexuée (anamorphe) est appelée *Paracercospora fijiensis*. Les premiers conidiophores produisant des conidies se développent essentiellement au niveau des premières lésions et peuvent être visibles dès l'apparition des symptômes au stade 1. Ils continuent à être produits jusqu'à un stade plus avancé de la maladie (Meredith et Lawrence, 1969). La majorité des conidiophores est produite à la surface inférieure de la feuille tandis que peu d'entre eux apparaissent à la surface supérieure. Un conidiophore produit en moyenne 3 à 4 conidies qui sont principalement disséminées par l'eau et plus rarement par le vent. Les conidies sont formées singulièrement à l'apex du conidiophore, puis elles deviennent latérales avec le développement de ce dernier.

La phase sexuée de *M. fijiensis* intervient tardivement dans le cycle infectieux (Meredith et Lawrence 1969). Elle commence par la

production de spermogonies durant le développement des lésions en nécroses. Plus abondantes sur la face foliaire inférieure, les spermogonies apparaissent premièrement en association avec les conidiophores. La fécondation est une trichogamie hétérothallique des ascogones par les spermaties qui se déroule dans les zones où il y a coalescence de lésions et aboutit à une formation de périthèces. A l'intérieur des périthèces se différencient les asques et les ascospores. La production d'ascospores permet la survie du pathogène en conditions défavorables.

➤ **Type de parasitisme**

M. fijiensis est un champignon hémibiotrophe c'est-à-dire biotrophe lors des premières phases de l'infection (Beveraggi et al. 1995) et nécrotrophe dans les dernières phases. Lors de sa phase biotrophe, le pathogène colonise les espaces intercellulaires entre les cellules mésophylles et puise ses nutriments de l'apoplaste de l'hôte sans formation d'haustoria. Selon Beveraggi et al. (1995), on observe un développement du mycélium dans les tissus du bananier avant l'apparition des premiers symptômes et en avant du front nécrotique. *M. fijiensis* demeure dans cette phase biotrophe pendant 3 à 4 semaines avant l'apparition des premières nécroses (Lepoivre et al. 2003, Portal et al. 2011). Lorsque l'apoplaste est dépourvu de nutriments, le champignon passe en phase nécrotrophe, au cours de laquelle un médiateur chimique de type phytotoxine semble jouer un

rôle important. *M. fijiensis* débute la production de conidies au début de cette phase nécrotique (Portal et al. 2011).

➤ Cycle infectieux et épidémiologique

Le cycle infectieux de *M. fijiensis* (Figure 2.2) dure entre 25 et 50 jours, selon les conditions climatiques, sur des cultivars très sensibles tels que Grande Naine, sous-groupe Cavendish, AAA (Fouré et al. 1984). Cependant, ce cycle peut s'étendre de 3 à 4 mois pour des variétés ayant une résistance partielle élevée telle que Pisang Ceylan, sous-groupe Mysore, AAB (Fouré et al. 1984). C'est un cycle qui se divise en trois grandes phases : l'infection, l'incubation avec la colonisation des tissus foliaires de l'hôte et la dissémination de l'inoculum secondaire

L'infection. Les conidies et/ou les ascospores sont à l'origine de l'infection et de l'initiation du cycle infectieux (Brun, 1963). Ces spores émettent des tubes germinatifs qui pénètrent la surface inférieure des feuilles via les stomates après une phase de croissance épiphyllle (Mourichon et al. 1987). Cette phase qui dure 2 à 4 jours (Stover 1980a ; Fouré et Pefoura 1988), nécessite une humidité saturante et se déroule en présence d'eau libre (Jacome et Schuh 1992). Les températures minimum, optimum et maximum pour le développement des tubes germinatifs sont respectivement de 12°, 27° et 37°C (Mourichon 2003).

L'incubation. La période d'incubation correspond à l'intervalle de temps qui sépare l'infection de l'apparition du premier symptôme (Fouré et al. 1984). Au cours de cette phase, les hyphes mycéliens traversent la chambre sous-stomatique et progressent dans les espaces intercellulaires du parenchyme lacuneux (Beveraggi 1992). Cette progression se fait avant l'apparition des premiers symptômes à la surface foliaire. La durée d'incubation varie en fonction de la pression parasitaire, des conditions climatiques et de la sensibilité variétale (Marin et al. 2003 ; El Hadrami 2000) Chez des variétés très sensibles, la durée moyenne de l'incubation est de 10 à 15 jours tandis qu'elle peut varier de 20 à 30 jours pour des variétés ayant une résistance partielle prononcée (Fouré et al. 1984).

La production de conidies. Les conidies sont produites dès les premières étapes du cycle infectieux. Leur nombre dépend de la densité de symptômes et donc de la quantité d'inoculum initial. Il dépend également du niveau de la résistance de la variété considérée (El Hadrami 2000).

La production d'ascospores. Les ascospores produites en fin de cycle sexué dépendent de la pression d'inoculum (Fouré et al. 1984). La concentration des ascospores est fortement liée aux précipitations et à l'humidité (Meredith et al. 1973). La dispersion des ascospores se fait principalement par le vent sur de longues distances, mais se limite à quelques centaines de kilomètres en raison de leur sensibilité aux UV (Stover 1980 ; Parnell et al. 1998).

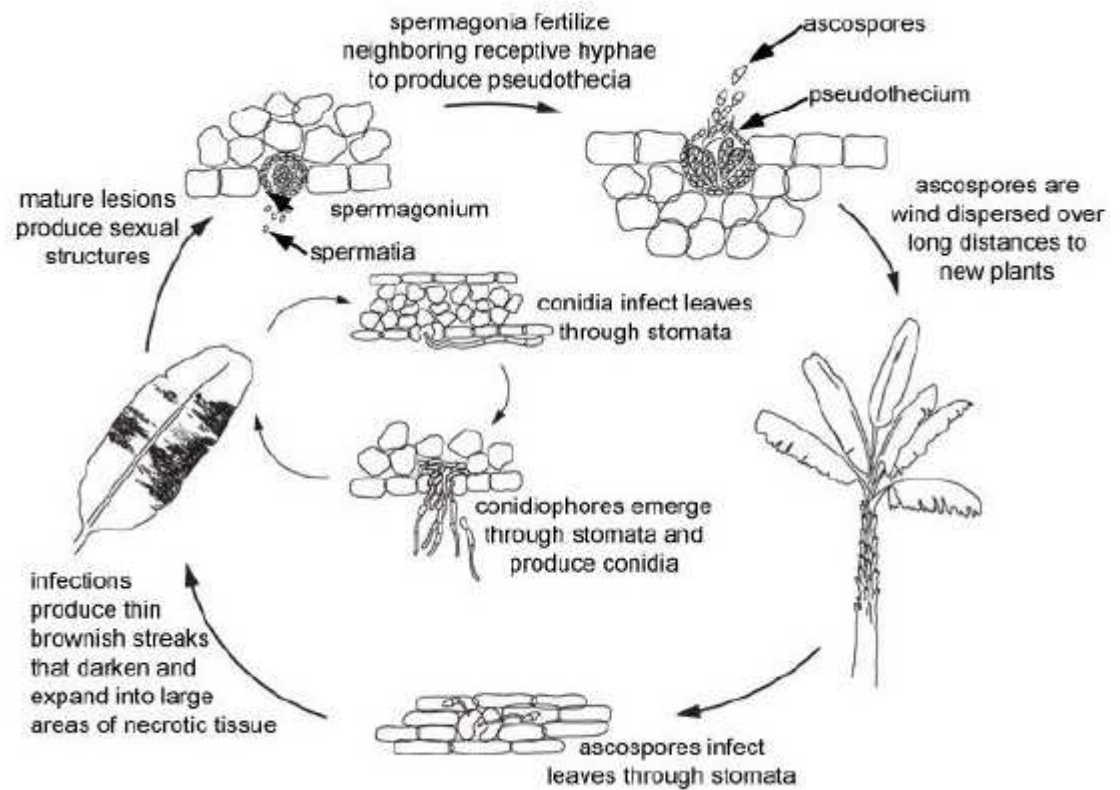


Figure 2.2. Représentation schématique du cycle infectieux de *M. fijiensis* (Bennett et Arneson 2003).

➤ La lutte contre la cercosporiose noire

La cercosporiose noire s'attaque aux feuilles et entraîne la détérioration de la surface foliaire. La diminution de la capacité photosynthétique qui en résulte, affecte la croissance et la productivité

des plantes. La maladie engendre la maturation prématurée des fruits, qui a pour conséquence une baisse de la qualité des fruits (Balbin et Zapata 2001) et des pertes économiques au niveau mondial supérieures à 50% (De Lapeyre de Bellaire et al. 2010). Le contrôle de la cercosporiose noire fait intervenir différentes techniques de lutttes telles que la lutte chimique, l'utilisation des variétés résistantes et les pratiques culturales.

O La lutte chimique

La lutte contre la MRN est essentiellement chimique dans les plantations industrielles. Cette lutte chimique se fait par alternance de fongicides de contact (mancozeb ou chlorothalonil) et de fongicides systémiques appartenant aux groupes des benzimidazoles, triazoles, morpholines et strobilurines appliqués dans de l'huile minérale ou sous forme d'émulsion (Marin et al. 2003). Les fongicides de contact ont un effet préventif et ne pénètrent pas la feuille de bananier. Ils inhibent la germination du champignon par une action sur plusieurs sites et n'entraînent pas le développement de souches résistantes. Les fongicides systémiques pénètrent les feuilles de bananier et ont un effet curatif. Leur effet curatif est plus prononcé sur les premières lésions (stades 1 et 2), mais faible sur les vieilles lésions (stades 3 et 4) et peu d'effet aux stades nécrotiques (stades 5 et 6) (De Lapeyre de Bellaire et al. 2010).

Deux stratégies de contrôle chimique sont adoptées par les agro-industries, à savoir l'application de fongicides basée sur un système d'avertissement biologique et l'application de fongicides basée sur le développement physiologique du bananier et les conditions climatiques (Romero 2000). Le choix de l'une au l'autre stratégie est déterminé par le niveau de sensibilité du pathogène aux différents fongicides employés.

Plus de 36 interventions par an sont requises dans des plantations de banane dessert d'exportation en Amérique latine (Stover 1990), contre 24 à 30 dans celles de l'Afrique de l'Ouest (15 à 20 en Côte d'Ivoire (Fouré, communication personnelle) et 19 pour des plantations commerciales de plantain exploitant un système d'avertissement bioclimatique (Fouré 1982). La mise au point d'un système d'avertissement basé sur les descripteurs biologiques (Fouré 1988) permet un bon contrôle de la maladie. Cette méthode a permis l'application de seulement 12 à 14 traitements de fongicides systémiques par an de 1984 à 1991 au Cameroun. Cependant l'apparition de souches résistantes aux fongicides a conduit à l'abandon progressif de la lutte raisonnée au profit de l'utilisation systématique de fongicides de contact appliqués toutes les semaines (40-50 applications par an) (De Lapeyre de Bellaire et al. 2010). Dans les différents pays, cette évolution entraîne une augmentation significative du coût de la lutte contre la maladie. Mais aussi une augmentation de l'impact négatif sur l'environnement. Dans les stratégies systématiques, 30 à 40 kg éléments actifs par an par année

sont appliqués contre 2 à 4 kg d'éléments actifs par an par année dans lutte raisonnée (De Lapeyre de Bellaire et al. 2010). Une nouvelle évolution des stratégies est la lutte intégrée pour contrôler la cercosporiose noire. La culture « raisonnée » de la banane correspond à des démarches globales de gestion des exploitations qui visent à renforcer les impacts positifs des pratiques agricoles sur l'environnement et à en réduire les effets négatifs, sans remettre en cause la rentabilité économique des exploitations (Lassoudière 2007, Ganry et al. 2012). Elle intègre les méthodes de production intégrée et de gestion intégrée des ravageurs et pathogènes (Integrated production and pest management, IPPM).

Certaines techniques culturales telles que la destruction des végétaux au sol et l'effeuillage des parties présentant des nécroses permettent de réduire la pression de l'inoculum et de minimiser ainsi l'incidence de la cercosporiose noire (Ganry et al. 2012). D'autres pratiques culturales telles que la nutrition des plantes, la densité de culture et la gestion de l'eau peuvent être introduites en synergie avec l'application des fongicides et l'effeuillage des parties nécrosées (Ganry et al. 2012). L'application d'urée sur les débris au sol permet d'accélérer la décomposition des tissus végétaux et ainsi de réduire la densité de l'inoculum. La diminution de l'humidité relative permet de diminuer le développement du champignon. A cet effet, une irrigation adaptée et un espacement suffisant des plants sont importants (Carlier et al. 2000).

O L'utilisation de variétés résistantes

La lutte chimique étant très coûteuse et ne pouvant de ce fait être adoptée dans les parcelles paysannes, l'utilisation de variétés résistantes à la maladie des raies noires constitue le seul moyen de lutte efficace pour les petits producteurs de bananes. Cette lutte est basée sur la création et l'exploitation de la variabilité génétique au sein du germplasm *Musa* (El Hadrami 2000). Elle vise un remplacement des variétés traditionnelles cultivées et sensibles, par des variétés résistantes avec des caractéristiques organoleptiques voisines. Ainsi des hybrides tels que FHIA-01 (AAB), FHIA-21 (AAB), Yangambi Km 5 (AAA), 'Mysore' (AAB), 'Pelipita' (ABB), 'Saba' (ABB) and 'Pisang Awak' (ABB) résistants ou plus tolérants à la maladie des raies noires ont été créés et sont diffusés dans certaines régions du monde (Vuylsteke et al. 1993 ; Ortiz et Vuylsteke 1994 ; Jones et al. 2000 ; Marin et al. 2003).

Ces variétés se distinguent par leurs types d'interactions avec *M. fijiensis*. Pour rappel, la première étape lors d'une interaction hôte-pathogène est la reconnaissance du pathogène par la plante. De manière générale, les plantes utilisent différentes stratégies de défenses naturelles contre les agents pathogènes. Parmi ces stratégies, on retrouve la résistance non-hôte, efficace contre plusieurs pathogènes et où l'interaction plante-pathogène est en fait incompatible et la résistance gène-pour-gène, au cours de laquelle la plante ou l'espèce de plante est compatible avec le pathogène mais

peut être résistante à une ou à quelques races de pathogènes (Kiraly et al. 2007).

Les interactions entre le bananier et *M. fijiensis* sont restés méconnues pendant longtemps (Lepoivre et al. 2003). Les études sur la sensibilité variétale conduites en champs par Fouré et al. (1990), ont permis de regrouper en trois catégories les variétés sauvages ou cultivés selon leur comportement face à *M. fijiensis* : (1) très résistantes (réaction incompatible) ; (2) partiellement résistantes et (3) sensibles ou susceptibles (interaction compatible).

L'interaction incompatible a lieu dans des cultivars résistants tels que 'Yangambi km5' et 'Calcuta 4' (AA). L'incompatibilité est caractérisée par un blocage naturel et rapide de la maladie dès les premiers stades de l'infection. Cette réaction de la plante est semblable à une réponse d'hypersensibilité : la mort cellulaire programmée localisée des cellules infectées. Ce type de réponse est typique de la résistance « gène-pour-gène ».

L'interaction compatible est caractérisée par un développement complet des symptômes de la cercosporiose noire. Chez les cultivars partiellement résistants tels que 'Fougamou', on observe une évolution lente des symptômes révélant plusieurs niveaux de résistance partielle. Tandis que chez les cultivars très susceptibles tels que 'Grande Naine', l'évolution de la maladie du premier au stade nécrotique est rapide et le nombre de feuilles saines à la récolte est peu élevé (Beveraggi et al. 1995). Pour ce qui concerne les interactions compatibles, des études cytologiques ont montré que *M.*

fijiensis se comporte d'abord comme un parasite biotrophe qui colonise exclusivement les espaces intercellulaires du mésophylle sans formation d'haustoria (Lepoivre et al. 2003, Beveraggi et al. 1995).

Les mécanismes de défense naturelle des plantes font l'objet de nombreuses études sur le plan moléculaire. La plupart des espèces végétales répondent à l'attaque de pathogènes par l'activation de différentes réactions de défense : renforcement des parois cellulaires (particulièrement l'accumulation de composés phénoliques pour renforcer les parois cellulaires), changement dans le flux d'ions, production de dérivés réactifs d'oxygène (ROS), accumulation de protéines impliquées dans les mécanismes de défense et synthèse de différentes substances antimicrobiennes (Mendoza-Rodriguez et al. 2010).

L'infection de *M. fijiensis* induit différents mécanismes de défense chez le bananier. La plante répond à l'infection par l'augmentation de l'activité des phénylalanine ammonia-lyases (PAL) (Dixon et al 2002). Les PAL jouent un rôle important dans les voies des phénylpropanoïdes, menant entre autres à la production de phytoalexines. Deux phytoalexines de types phénylphénalénone ont été identifiés chez le cultivar résistant Yangambi 'km5' et montre une activité de résistance importante face à *M. fijiensis* (Oltavaro et al. 2007). Ceci confirme que la voie des phénylpropanoïdes joue un rôle important dans la résistance face à *M. fijiensis* (Portal et al. 2011).

Les gènes liés à la défense de la plante sont régulés par des voies de transduction de signal, parmi lesquelles les phytohormones, l'acide salicylique (SA), l'acide jasmonique (AJ) et l'éthylène (ET) sont les plus importants (Portal et al. 2011).

L'acide salicylique est souvent associé à la défense contre les pathogènes biotrophes. Cette hormone est impliquée dans la résistance locale, dans la régulation des gènes, dans la réaction d'hypersensibilité et enfin dans la mise en place d'une résistance systémique acquise (SAR) (Durrant et Dong 2004). L'activation des hormones JA et ET est souvent corrélée à la résistance contre les pathogènes nécrotrophes. Ces hormones sont activées lors d'une résistance systémique induite (ISR). Chez le cultivar susceptible 'Grande Naine', les hormones JA et ET sont actives au stade 3 et 4 dans l'évolution de la cercosporiose noire. L'activation tardive de ces deux hormones ne permet pas de prévenir le développement de la cercosporiose noire, et cela parce que les gènes de défense sont induits trop tardivement (Portal et al. 2011).

O L'amélioration des techniques culturales

L'investissement dans des méthodes de lutte qui réduisent le recours aux intrants pesticides a été largement entrepris dans différentes zones de production. Des techniques d'assainissement mécanique sont très utilisées à la fois dans les exploitations industrielles et vivrières. Associées à des systèmes d'avertissement et à une fertilisation adéquate, ces techniques participent à la réduction de la pression

parasitaire, et par conséquent à une limitation des dégâts (El Hadrami 2000). La lutte biologique est aussi utilisée. Elle consiste à la production biologique de bananes. Mobambo et al. (2010) ont montré que l'application d'ordures ménagères et des déchets de cuisine entraîne une réduction de la sévérité de la cercosporiose noire sur le bananier plantain et un maintien du rendement pendant plusieurs années. Jimenez et al. (2007) ont montré que le bananier peut être produit sans l'utilisation de fongicides à l'Equateur. Ces auteurs ont utilisé des produits organiques provenant de la fermentation de déchets.

Dans les systèmes de productions organiques, les nutriments peuvent aussi provenir d'une grande quantité de matière organique, de déjections d'animaux et de roche phosphatée (Jimenez et al. 2007). Pour une meilleure optimisation des systèmes de production organique, il est nécessaire (1) d'appliquer des produits d'origines organiques, (2) de faire une gestion des sols qui stimule l'activité biologique, (3) d'améliorer le drainage, (4) d'effectuer une nutrition équilibrée de la plante, et (5) de supprimer les feuilles infectées par la cercosporiose noire (Jimenez et al. 2007, Holderness et al. 2000).

2.5.4.2 Le genre *Cylindrocladium*

❖ Position taxonomique et distribution

Les champignons du genre *Cylindrocladium* sont des euascomycètes filamenteux de la famille des *Nectriaceae* et de l'ordre des Hypocréales (Crous 2002).

Les maladies causées par les champignons du genre *Cylindrocladium* ont été signalées sur plusieurs familles de plantes d'importance économique telles que les cultures fruitières, les plantes ornementales, l'eucalyptus, l'acacia et le pin (Peerally 1991 ; Crous 2002 ; Risède 2002).

❖ Symptômes

Les symptômes causés par les champignons de ce genre sont des nécroses sur les organes aériens des plantes. Ces nécroses se manifestent par des noircissements sur les tiges et par une rouille brune sur les feuilles, des chancres de la tige, la rouille des rejets ou des taches foliaires, causant des décolorations rouges ou pourpres. Plusieurs espèces de *Cylindrocladium* sont également associées à des problèmes de nécroses racinaires telles que la pourriture racinaire chez *Spathiphyllum*, la pourriture du tubercule sur les pommes de terre et les pourritures des racines et des gousses d'arachide et de soja (Crous 2002).

❖ Cycle infectieux et écologie

L'infection par *Cylindrocladium* débute par la germination des conidies, des microsclérotas ou ascospores en présence de l'hôte (Crous 2002). Elle nécessite une humidité suffisante, d'où l'importance de la pluie et du mode d'irrigation sur le développement de la maladie. Après la germination, on observe la formation d'anastomoses entre les tubes germinatifs provenant d'une ou de différentes conidies. Le mode pénétration semble être la pénétration directe. L'infection est suivie par le développement de chlamydospores et de microsclérotas. Ces derniers sont libérés dans le sol lorsque le matériel végétal infecté se dégrade et tombe au sol. Les conidies, les ascospores et les microsclérotas constituent les principales unités de dissémination des champignons du genre *Cylindrocladium* (Peerally 1991). Les microsclérotas sont produits en grande quantité et jouent un rôle important dans l'épidémiologie de la maladie causée par *Cylindrocladium* sp. (Peerally 1991).

Les microsclérotas constituent les propagules les plus infectieuses et les principales structures de survie dans le sol.

Les facteurs environnementaux importants qui influencent le développement du champignon sont la température et l'humidité et le type de sol. Les champignons du genre *Cylindrocladium* croissent de manière optimale dans des conditions très humides et chaudes (Peerally 1991 ; Schoulties et al. 1983). Le type de sol influence la distribution et la densité du pathogène.

❖ ***Cylindrocladium spathiphylli***

Cylindrocladium spathiphylli (telemorphe : *Calonectria spathiphylli*) a été décrit pour la première fois en 1982 sur des espèces du genre *Spathiphyllum* (plantes ornementales) (Schoulties et al.1982). Il est responsable d'énormes dégâts sur les cultivars de genre *Spathiphyllum* spp, sur *Eucalyptus* spp. et aussi sur *Musa* spp. Les symptômes se manifestent sur les racines, sur les tiges et aussi sur les feuilles chez certaines plantes (Crous 2002).

Cette espèce a été rapportée comme étant pathogène du bananier par Risède et Simoneau (2001). Chez le bananier, *C. spathiphylli* interagit de manière synergique avec des nématodes tels que *Radopholus similis* (Loridat 1989, Risède 1994) et forment un complexe parasitaire impliqué dans la formation de lésions nécrotiques sur les racines. Ces lésions entraînent une diminution du prélèvement des nutriments et la chute des bananiers, ce qui occasionne une baisse de production (Risède et al. 2004 ; Loridat 1989).

Cylindrocladium spathiphylli possède des conidies septées de forme cylindriques et un stipe unique et central par conidiophore, l'extension du stipe se termine par une vésicule terminale de forme globoïdale à ellipsoïdale (Figure 2.3) (Crous 2002).

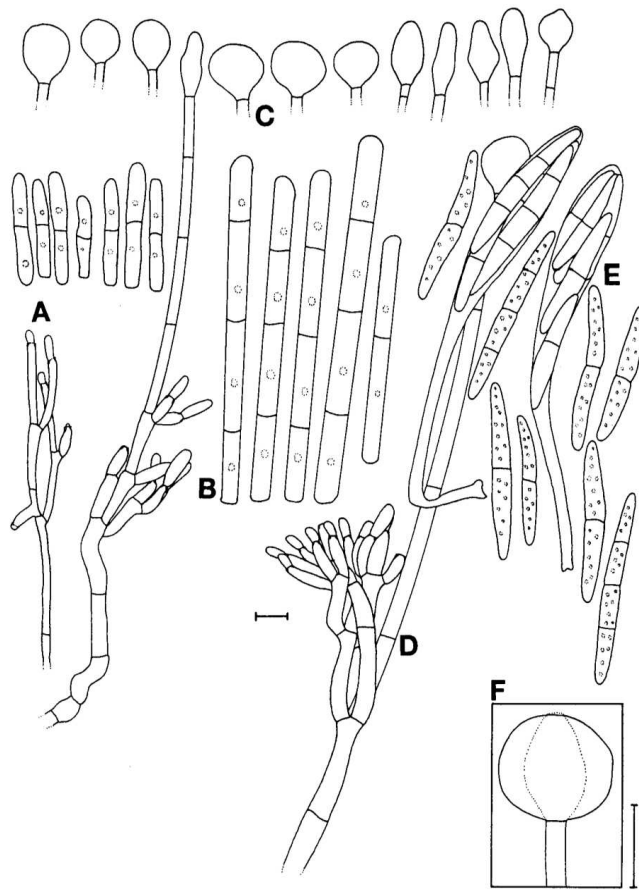


Figure 2.3. *Calonectria spathiphylli*. A. Microconidiophore et microconidies, B. et D. Macroconidiophore et macroconidies du stade anamorphe *Cylandrocladium*, C. Macrovésicules du stade anamorphe *Cylandrocladium*, E. Asques et ascospores F. Variabilité de morphologie de la vésicule

➤ **Lutte**

Les méthodes de lutte contre les maladies causées par les champignons du genre *Cylindrocladium* sont essentiellement chimiques, et consistent en l'application de différents fongicides tels que le benomyl, le triflumizole et le prochloraz (Risède 2002).

La stérilisation du sol permet également d'éradiquer le champignon du sol (Crous 2002).

L'adoption de bonnes pratiques culturales permet de lutter contre le champignon de manière moins polluante. En effet en agissant sur la température, le pH, la compaction, la teneur en azote et l'humidité du sol il est possible de limiter ou de réduire le potentiel d'infection du sol. Le choix d'espèce résistante et la pratique de rotations adéquates permettent de diminuer l'impact du champignon sur les cultures.

La lutte biologique pourrait également être une autre alternative à la lutte chimique. Des bactéries *Pseudomonas* ou *Bacillus*, des espèces fongiques du genre *Trichoderma* et quelques champignons mycorrhiziens sont connus pour lutter contre les pathogènes racinaires (Sutra et al. 2000 ; Crous 2002 ; Declerck et al. 2002).

2.6 Bananier et silicium

Le bananier est une plante accumulatrice du silicium (Henriet et al. 2006). Il peut contenir plus de 2% de Si dans sa matière sèche (Lahav 1995). La présence de phytolithes a été reportée dans les parties aériennes mais pas dans les racines (Tomlinson 1969). Ils ont une forme de cône tronqué avec une partie basale rectangulaire présentant

des protubérances de surface. Ces phytoliths forment des chaînes dans les tissus végétaux, et sont localisés principalement dans les gaines de faisceaux (vascular bundle sheath fibers, Prychid et al. 2004). Leur forme caractéristique permet aux archéologues de les utiliser comme traceurs de l'histoire de la culture du bananier (Vrydaghs et al. 2003).

En Afrique, des phytolithes ont été découverts pour la première fois dans des fosses excavées dans le centre du Cameroun et datés de - 2500 ans (Mindzie et al. 2001). Ces phytolithes ont été positivement identifiés comme dérivant du bananier cultivé *Musa*, après une étude comparative des phytolithes de *Musa* et d'*Ensete* (Mindzie et al. 2001). Cette découverte fournit une preuve archéologique irréfutable de l'existence d'une agriculture précoce en Afrique centrale (Mindzie et al. 2001). L'identification des phytolithes de *Musa* au Cameroun démontre que la culture de plantes tropicales a commencé beaucoup plus tôt qu'on ne le pensait dans les zones humides en Afrique (Mbiba et al. 2006). Une étude comparative des phytolithes des espèces *M. acuminata* et *M. balbisiana* a permis d'aboutir aux conclusions suivantes : (1) aucune distinction ne peut être faite entre les deux espèces à partir de simples analyses morphotypiques, (2) les phytolithes de *M. balbisiana* sont significativement plus grands que ceux de *M. acuminata* (Ball et al. 2006). Selon Vrydaghs et al. (2009), la diversité des phytolithes du bananier serait liée à la phylogénie.

Henriet et al. (2006) ont étudié l'accumulation du Si chez le bananier en conditions contrôlées dans des systèmes de culture hydroponique avec différentes concentrations de Si dans la solution nutritive. Lorsque la concentration du Si dans la solution nutritive était élevée (1,66 mM), l'absorption du Si était principalement conduite par le flux de masse de l'eau, traduisant un transport passif du Si dans la plante. Mais à des concentrations plus faibles (0,02 – 0,83 mM), cette absorption était plus élevée que celle liée au flux de masse. Elle induisait en plus une diminution du Si dans la solution nutritive. Cette observation suggère un mécanisme de prélèvement actif du Si chez le bananier aux faibles concentrations en Si.

La disponibilité en silicium dans la rhizosphère est influencée par les racines du bananier, qui sont capables d'induire l'altération minérale, et donc la dissolution des silicates. Opfergelt (2008) a montré que le prélèvement du Si par le bananier et son transport au sein de la plante induisait un fractionnement isotopique influencé par le degré d'altération du sol.

Le stade d'altération du sol influence le stock de silicium biogénique présent dans le système sol-plante impliquant le bananier (Henriet et al. 2008). La concentration du silicium dans la solution du sol et dans les feuilles dépend du stade d'altération du sol. La teneur en silicium dans le bananier suit un gradient de concentration augmentant des racines aux vieilles feuilles (Henriet et al. 2006).

Au niveau des ses effets positifs sur le bananier, le silicium semble ne pas avoir d'effet sur la croissance et sur les vitesses de prélèvement de l'eau et des nutriments en conditions optimales (Henriet et al. 2006).

Deuxième partie

**Etude de l'effet du silicium sur le stress
biotique du bananier en conditions
contrôlées**

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du
bananier en conditions contrôlées

Chapitre 3

Protective role of silicon in the banana - *Cylindrocladium* *spathiphylli* pathosystem

Adapted from Vermeire M.-L., Kablan L., Dorel M., Delvaux, B., Risède, J.-M. and Legrève, A. 2011. Protective role of silicon in the banana-*Cylindrocladium* *spathiphylli* pathosystem. Eur J Plant Pathol 131: 621-630

Marie-Liesse Vermeire and Lucie Kablan contributed equally to this work

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du
bananier en conditions contrôlées

Commentaires préliminaires

Les effets positifs du silicium (Si) sur la résistance des plantes aux maladies ont été largement démontrés dans de nombreuses études (Datnoff et al. 2007). Ces effets sont plus marqués chez les plantes accumulatrices du silicium telles que le riz et la canne à sucre. Cependant, ces effets sont très peu connus chez le bananier, bien qu'il soit une plante accumulatrice du silicium (Henriet et al. 2006).

En Guadeloupe, la culture bananière est soumise à de fortes pressions parasitaires (Ganry 2004). L'une d'elles est causée par *Cylindrocladium spathiphylli*, pathogène fongique d'origine tellurique formant très souvent un complexe parasitaire avec le nématode *Radopholus similis*. Ce pathogène est reconnu comme l'un des plus néfastes (Risède et Simoneau 2004). Parmi les cultivars susceptibles à ce pathogène, on retrouve la Grande Naine (Risède et Simoneau 2004). Ce cultivar fait partie du sous-groupe des Cavendish qui représentent plus 56% de la production de banane dessert (Lassoudière 2007). De plus, c'est un cultivar souvent utilisé expérimentalement. En outre, son interaction avec le Si est bien connue (Henriet et al. 2006).

L'étude qui fait l'objet du chapitre suivant a été menée afin d'évaluer les effets d'un traitement en silicium sur la tolérance du bananier au champignon racinaire *C. spathiphylli*. Une expérience en conditions contrôlées a été menée à cet effet. De jeunes plants de bananiers Grande Naine (sous groupe Cavendish AAA) ont été sevrés

dans de la tourbe, puis inoculés par trempage racinaire dans une suspension conidienne et repiqués en pots dans un sol ferralitique pauvre en Si. Tout au long de l'expérience, une moitié des bananiers a été alimentée avec solution d'acide silicique (H_4SiO_4) (2mM Si), l'autre moitié avec de l'eau distillée. L'évaluation des nécroses a été évaluée 7, 14 et 21 jours avec le logiciel d'analyse d'images WinRHIZO.

Dans ce chapitre, l'effet positif du silicium sur la tolérance du bananier à *C. spathiphylli* est mis en évidence. L'apport du silicium a en effet permis à la plante de prélever l'élément et ainsi de réduire jusqu'à 50% le pourcentage de nécroses dans certains cas. Les mesures des paramètres de croissance ont permis de confirmer le constat selon lequel l'effet du silicium n'est optimal qu'en condition de stress (Epstein 1994 ; Bélanger et al. 1995).

3.1 Abstract

Silicon (Si) is known to reduce the incidence of pathogens on many plants. Little information is available on the potential positive effects of Si on the susceptibility of banana (*Musa acuminata*) to pathogens. Root-rot fungi of the genus *Cylindrocladium* have been reported, along with endoparasitic nematodes, to be the causal agent of toppling disease and severe yield loss. The objective of this study was to determine the effects of Si supply on *Cylindrocladium spathiphylli* infection on banana. Plantlets inoculated by dipping the root system in a conidial suspension of the pathogen were grown on a desilicated ferralsol and amended, or not, with 2 mM of soluble Si under greenhouse conditions in Guadeloupe. The root lesion severity was evaluated using the image analysis program WinRHIZO 7, 14 and 21 days after inoculation. A reduction of about 50% of root necrosis was observed 14 days after inoculation for the Si-supplied plants compared with those not supplied with Si. The Si amendment also alleviated growth reduction caused by the pathogen. These results suggest that Si could have a positive effect on banana resistance to *C. spathiphylli* and provide an environmentally friendly alternative to pesticides for the integrated control of an important crop disease.

3.2 Introduction

Silicon (Si) is the second-most abundant element in the lithosphere and plays a very important role in global biogeochemical processes, notably the global matter cycle where it contributes to regulating atmospheric CO₂ (Sommer et al. 2006).

This element is taken up by plant roots in the form of water-soluble monosilicic acid (H₄SiO₄), and follows the water flow from the roots to the aerial transpiration sites (Raven 2001), where it precipitates as particles of biogenic opal (SiO₂.nH₂O) called phytoliths (Ma and Yamaji 2006). Silicon is not considered an essential nutrient in plants (Epstein 2009; Ma et al. 2001), but under a range of biotic and abiotic stresses its importance as an element that is particularly beneficial for plants is now beyond doubt (Datnoff et al. 2007; Reynolds et al. 2009). A Si application on roots or leaves can make a significant difference to plant performance in field conditions. The abiotic stresses that Si fertilization helps to alleviate include drought, water logging, frost, salinity and heavy metal toxicity (Keeping and Reynolds 2009). Biotic stresses against which Si provides some protection include numerous pathogens and herbivores (Epstein 1994; Rodrigues et al. 2003; Fauteux et al. 2005; Diogo and Wydra 2007). Reduction in disease severity by an increased Si supply has been observed for many plants, dicots and monocots (Fawe et al. 2001; Bélanger et al. 2003; Datnoff et al. 2007; Martinati et al. 2008).

It is now generally recognized that Si performs its functions in two ways. First, the accumulation of solid hydrated amorphous silica in cell walls acts as a mechanical barrier that prevents penetration by pathogens

(Fauteux et al. 2005). Second, soluble Si plays an active role in strengthening plant disease resistance by stimulating the expression of natural plant defense reactions (Fawe et al. 2001). However, the exact nature of the interaction of soluble Si with the plant's biochemical pathways, leading to disease resistance, remains unknown (Fauteux et al. 2005). Soluble silicon might modulate the activity of post-elicitation intracellular signaling systems, resulting in the expression of target genes and the accumulation of defense compounds such as phytoalexins (Fawe et al. 2001; Fauteux et al. 2005; Epstein 2009). Fawe et al. (2001) suggested that Si could be assimilated to a modulator similar to systemic acquired resistance (SAR)-inducing compounds. Keeping and Reynolds (2009) pointed out that Si displays a marked resemblance to plant stress hormones such as jasmonate and salicylate in its ability to act as a modulator of induced resistance, and that plants could respond more efficiently or earlier to a pathogen or herbivore attack. Silicic acid could play a positive role in local and systemic resistance, given that both processes depend on primary elicitation (Fauteux et al. 2005).

The beneficial effects of Si are usually obvious in crops that actively accumulate Si, such as rice, barley and maize (Ma et al. 2001). A plant is considered to be a Si accumulator if the Si content is higher than 1% of dry weight (Ma et al. 2001). In rice, for example, the Si content can reach 10% of the shoot dry weight (Ma and Yamaji 2006). Banana plants can have more than 2% of Si in the shoot dry weight (Lahav 1995). Although this species is also a Si-accumulator, little information is available on the

impact of Si on the susceptibility of banana (*Musa acuminata*) to diseases (Henriet et al. 2006).

Bananas are perennial giant herbs and occupy the first rank of world fruit production (Swennen and Vuylsteke 2001; Lassoudière 2007). Banana production plays a major role in food security for more than 400 million people in developing countries in tropical areas and is a source of income and employment for local populations (Arias et al. 2003). Bananas for export are cultivated in perennial intensive monocultures, and are therefore hampered by many recurrent pests and diseases. In banana plantations, soilborne pathogens are major constraints limiting crop production. *Cylindrocladium* spp. (teleomorph *Calonectria*) are root-rot fungi that are reported, along with endoparasitic nematodes, to cause necrotic root and corm lesions that lead to nutrient uptake reduction, root breakage and toppling of banana plants (Risède and Simoneau 2004). *Cylindrocladium spathiphylli* has been identified as the most pathogenic species within the *Cylindrocladium* genus for the banana rhizosphere (Risède 2008). *Cylindrocladium*-resistant banana cultivars remain to be selected, and the control of these pathogenic fungi needs to be adjusted within the framework of an integrated crop protection strategy, with no reliance on the systematic use of fungicides. There is a body of circumstantial evidence that bananas grown on Vertisols, which show high Si concentration in soil solution, are less affected by pathogens, whereas lodging incidence seems to be high on largely desilicicated ferrallitic soils (Henriet et al. 2006). Silicon amendment might therefore offer a promising alternative for banana

disease control in the context of integrated plant protection, especially where soils are low or limiting in plant-available Si. The objective of the present study was to determine the effects of Si uptake on the susceptibility of banana (*Musa acuminata* cv. Grande Naine) to *C. spathiphylli*. The incidence of the pathogen on banana plants amended or not with soluble Si was assessed under controlled conditions.

3.3 Materials and methods

3.3.1 Soil materials

About 500 dm³ of soil of a Si-deficient typical ferralsol were collected at a depth of 0-20 cm in a plot on the eastern slopes of the volcano La Soufrière (Basse-Terre, Guadeloupe) which had been used for a long time for intensive banana cropping (Farm Feneteau, 164 m asl). The area experiences heavy rains, with a mean annual rainfall of 3,296 mm. The soil is therefore highly weathered and has a very low Si content (Henriet et al. 2008b). The main soil properties, as measured by Henriet et al.(2008b) and expressed as averages: pH H₂O value: 6.25; organic carbon content: 2.53%; exchangeable bases contents: 5.2 cmol_c kg⁻¹ Ca, 2.2 cmol_c kg⁻¹ Mg, 0.1 cmol_c kg⁻¹ Na and 1.9 cmol_ckg⁻¹ K; cation exchange capacity (CEC): 25 cmol_c kg⁻¹; effective cation exchange capacity (ECEC): 7.8 cmol_c kg⁻¹; particle-size composition: 5.9% sand, 14.5% silt and 81.6% clay; CaCl₂-extractable Si content: 21.1 mg kg⁻¹. The soil was sieved at 2 cm to homogenize the structure and then sterilized twice at 100°C for 12 h, with an interval of 48 h.

3.3.2 Plant material and weaning

A total of 252 vitroplants of young banana plantlets (*Musa acuminata* cv. Grande Naine, AAA group, Cavendish, dessert banana) were weaned for 10 weeks on peat in 0.3 l pots (for the first 8 weeks) and then in 0.6 liter pots (for 2 weeks) (one plant per pot) under quarantine greenhouse conditions, with a mean temperature of 22.5°C, a mean relative humidity of 80.1% and a global radiance of 6.65 MJ m⁻² (day:night about 12:12). An amount of 1.5 g of Osmocote fertiliser (11-11-18+2MgO) was added to each pot.

In the first week of weaning, the plants were sprayed with tap water. Thereafter, during 9 weeks, the soil moisture content was adjusted at field capacity with an Si solution (production method described below) for half the plants (Si⁺ plants) and with demineralised water for the other half (Si⁻ plants): (1) each pot, including plant and soil, was weighed to determine the reference pot weight at field capacity; (2) three times a week, each pot was weighed and distilled water or Si solution was added to reach the reference pot weight. Daily plant transpiration was deduced. Every 3 weeks, the reference pot weight was corrected by measuring the fresh biomass of one plant per treatment.

3.3.3 Si solution production

Si was supplied as monosilicic acid (H₄SiO₄), 2 mM. The H₄SiO₄-solution was made by dissolving Na₂SiO₃·5H₂O in demineralised water, and then leaching on an acidic cation exchanger (Amberlite® IR-120) to fix Na⁺ ions (Stumm and Morgan 1996). Silicon concentration was

determined using inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES).

3.3.4 Inoculum production

The strain of *C. spathiphylli* used in this experiment was isolated from the root-rot of banana cv. Grande Naine collected in a contaminated plot (CIRAD at Neufchâteau, Basse-Terre, Guadeloupe). First, different fungal species were isolated from root-rots following the Root Slice Plating Method (RSPM) proposed by Risède (Risède 2008). *Cylindrocladium* colonies were then transplanted on Petri dishes of M1 medium (1% malt extract; 2% agar) and single conidium was isolated to obtain pure strains of *C. spathiphylli* using the protocol described by Risède and Rhino (2008). One of these strains was used in this experiment. A high quantity of conidia was produced using the inoculum production technique described by Risède and Rhino (2008): heavy conidiogenesis was induced by subculturing the strain on 80 banana leaf agar (BLA) medium dishes at 25°C for 7 days under continuous light. The conidia were harvested by shaking leaf fragments of BLA in a Triton X-100 solution, and the resulting suspension was filtered through a 32-µm sieve. The suspension was then concentrated by centrifugation and the conidial concentration was adjusted to 2×10^3 conidia ml⁻¹ (d2 dose) and 0.5×10^3 conidia ml⁻¹ (d0.5 dose) with a Malassez hemacytometer.

3.3.5 Inoculation procedure

After 9 weeks of growth in the presence or in the absence of Si (during the weaning), banana plants were inoculated with *C. spathiphylli*. Peat was removed as gently as possible from the root system of Si- and Si+ plants under running tap water. The root system of each plant was dipped for 20 s in 250 ml of the conidial suspension (d2 dose or d0.5 dose) (Risède and Simoneau 2004). The banana plants were left to drain for 1 min before transplantation into 2 l plastic pots filled with the sterile ferralsol. Controls (non-inoculated plants, NI) were produced using the same procedure, except that the conidial suspension was replaced by sterile water amended with Triton X 100 (250 μ l l⁻¹). A total of 35 banana plants were planted out for each of the six treatments (amended or not with Si and three doses of inoculum: Si+ d2, Si+ d0.5, Si+ NI, Si- d2, Si- d0.5 and Si- NI).

3.3.6 Growth conditions after inoculation

The experiment was conducted for 3 weeks after inoculation. Plants were grown according to a completely randomized design under the same greenhouse conditions as described for the weaning phase. Water content adjustment was carried out after inoculation following the same method employed for weaning, using demineralized water for the Si- plants and a Si solution for the Si+ plants.

3.3.7 Disease assessment

Root lesion severity was assessed 7, 14 and 21 days after inoculation on 10 randomly selected plants per date and per treatment (60 plants per date in total). After removal of peat under running tap water, the roots were placed on a transparent plastic sheet and covered with a blue plastic sheet, to prevent shadows and improve contrast, and then scanned (scanner EPSON expression 1680, Seiko EPSON Corp, Japan). For each root system, a color picture was made with a resolution of 300 dpi, using the reflected light. The pictures were analysed with the image analysis program WinRHIZO (v. Pro; Regent Instruments, Inc., Quebec, Canada), using the method of object separation from the background and classification of pixel colors. The background was defined as a color group consisting of two color classes, one identified at a distance from the roots and the other in the shadow area near the roots. The color range of the healthy parts of the roots was used to define a color group with 10 color classes. A third color group with seven color classes was defined for the necrotic parts of the roots. For each image, all the pixels were allocated to the different color classes and groups, giving the healthy and necrotic root area. A necrosis percentage [%] was obtained from the equation:

$$\text{Necrosis percentage} = (\text{necrotic area}) / (\text{healthy area} + \text{necrotic area})$$

To quantitatively assess the health of the studied root systems, an indicator called healthy roots weight (HRW) [g] was computed from the following equation:

Healthy roots weight = $\{100 - (\text{necrotic percentage}) / 100\} \times (\text{root dry weight})$

3.3.8 Growth assessment and mineral analysis

After weaning, 10 Si+ and 10 Si- banana plants were harvested. All the plants submitted to disease assessment were also kept for analyses (10 plants per treatment and per date, 180 plants in total). The dry weight of the root system and aerial parts of all plants was measured after drying at 60°C for 1 week. Mineral analysis was carried out for each plant, to track the Si content throughout the growth of the plants (after weaning and once a week after inoculation). For each plant, all the leaves were crushed and calcinated at 450°C for 2 days, followed by borate fusion at 1,000°C and dissolution of fusion beads in 10% HNO₃ (Chao and Sanzalone 1992). Elemental concentrations were measured by ICP-AES (ICAP 6500 of Thermo Scientific).

Once a week after inoculation, plant growth was assessed by measuring the numbers of totally and partially unfurled leaves. The length (l) and width (w) of the unfurled leaves was measured and their surface area (LA) was computed for 15 plants per treatment kept in soil until the end of the experiment from the equation $LA = 0.83 \times l \times w$ (Lassoudière 2007).

3.3.9 Statistical tests

Statistical analyses were performed for all data using 'Enterprise Guide' (SAS institute, Inc., Cary, NC, USA). After checking for normality and

equality of variance, data were analyzed by two-way ANOVA (factors: Si treatments and inoculum doses) and treatment mean comparisons by the Student-Newman-Keuls' test ($\alpha = 0.05$).

3.4 Results

3.4.1 Silicon content

The average leaf Si concentrations at the end of weaning were $16710 \pm 2045 \text{ mg kg}^{-1}$ dry matter (DM) for banana plants amended with Si (Si+ plants) and $2090 \pm 1387 \text{ mg kg}^{-1}$ DM for banana plants not amended with Si (Si- plants). The difference in Si content between Si- and Si+ plants was highly significant (Student-Newman-Keuls' test, $P < 0.0001$). Leaf Si concentrations 7, 14 and 21 days after inoculation were also significantly higher in plants amended with Si than in those grown without Si, for each dose (Student-Newman-Keuls' test, $P < 0.0001$) (Table 3.1).

Table 3.1. Evolution of the average leaf Si concentrations (mg kg⁻¹ dry matter) in banana leaves of plants amended (Si+) or not (Si-) with Si and inoculated with 2.10³ (d2 dose), 0.5.10³ (d0.5 dose) conidia of *C. spathiphylli* ml⁻¹ or not inoculated (NI), 7, 14 and 21 days after inoculation. Ten plants were analyzed per treatment. For the same inoculum dose, leaf Si concentration values within a column with different letters are significantly different at *P*=0.05

Leaf Si concentration (mg kg ⁻¹ DM) x days after inoculation				
Si amendment	Inoculum (conidia ml ⁻¹)	x = 7	x = 14	x = 21
-	2.10 ³	1602 ± 198 a	2197 ± 475 a	2507 ± 501 a
-	0.5.10 ³	1569 ± 198 a	2058 ± 385 a	2506 ± 502 a
-	0	1483 ± 193 a	1935 ± 259 a	2465 ± 411 a
+	2.10 ³	16084 ± 1768 b	17820 ± 1356 b	13817 ± 1535 b
+	0.5.10 ³	15618 ± 2122 b	17771 ± 2627 b	13940 ± 2070 b
+	0	16532 ± 2024 b	19598 ± 1989 b	15547 ± 2790 b

3.4.2 Root-rot severity

For plants inoculated with 2.10³ conidia ml⁻¹ (d2 dose) and assessed 14 days after inoculation, two-way ANOVA revealed a highly significant effect of the Si treatment (Two-way ANOVA, *P* = 0.0012) and of the inoculum dose (Two-way ANOVA, *P* = 0.0143) on the necrosis percentage. The average necrosis percentage of banana roots inoculated with d2 dose was 30.21% for Si- plants and 18.61% for Si+ plants, indicating that the treatment of banana plants with a Si solution resulted in a significant reduction of *Cylindrocladium* root necrotic lesion severity compared with the Si- plants (Student-Newman-Keuls' test, *P* = 0.0141) (Fig. 3.1, Fig. 3.2). The necrosis percentages observed on plants inoculated with 0.5.10⁻³ conidia ml⁻¹ (d0.5) were slightly higher than

those observed on the non-inoculated plants, but the values were not significantly different for the three dates of analysis. Seven and 21 days after inoculation, the necrosis percentages observed for the six treatments were similar (data not shown). There was no significant interaction between inoculation dose and Si treatments for the three dates of analysis

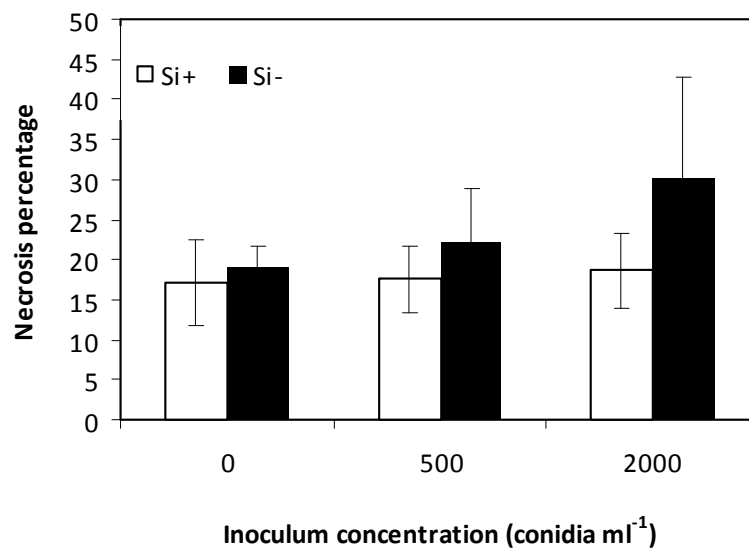


Figure 3.1. Average root necrosis percentages of plants amended (Si+) or not (Si-) with Si, inoculated with 2.10^3 (d2 dose), $0.5 \cdot 10^3$ (d0.5 dose) or 0 (NI) conidia of *C. spathiphylli* ml⁻¹, 14 days after inoculation. Each value is the mean and standard error (SE) of ten plants per treatment. The necrosis percentage observed for the Si-d2 plants is significantly higher than the necrosis percentage observed for the Si+d2 plants ($P=0.0141$). Student-Newman-Keuls' test, $\alpha = 0.05$. The necrosis percentage observed for the Si-d2 plants is significantly higher than the necrosis percentage observed for the Si-d0.5 and the Si-NI plants ($P=0.017$). Student-Newman-Keuls' test, $\alpha = 0.05$.



Fig. 3.2. Left: Si- d2 banana root system 14 days after inoculation (necrosis percentage: 45%), right: Si+ d2 banana root system 14 days after inoculation (necrosis percentage: 13%).

Seven days after inoculation, the average HRW was similar for the six treatments (Fig. 3.3) and no significant difference was observed. Fourteen days after inoculation, an important reduction of growth was observed for the Si- inoculated plants, but the reduction was smaller for Si+ plants; there was no significant difference in HRW between the Si+d2, Si+d0.5 and Si+NI (Student-Newman-Keuls' test, $P = 0.148$) treatment, but the HRW of inoculated Si- plants was very significantly lower than the Si-NI (Student-Newman-Keuls' test, $P < 0.0001$) plant. Later, a dilution of the inoculation effects was observed for the Si- plants;

there was no significant difference in HRW between the treatments 21 days after inoculation.

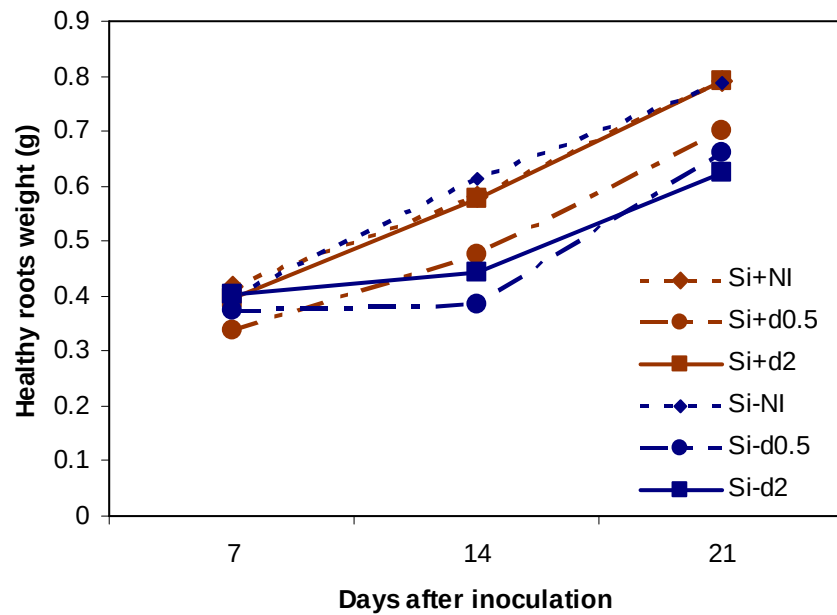


Fig. 3.3. Evolution of the average healthy root weight (HRW) of plants amended (Si+), or not (Si-) with Si, inoculated with 2.10^3 (d2 dose), $0.5.10^3$ (d0.5 dose) conidia of *C. spathiphylli* ml^{-1} or not inoculated (NI). Ten plants were analyzed per treatment.

3.4.3 Plant growth parameters

There was no significant effect of Si supply during weaning on the growth parameters being considered. At the end of weaning, the mean root dry weight was 0.61 ± 0.13 g, the mean shoot dry weight was 2.36 ± 0.32 g and the mean leaf area was 494.09 ± 20.13 cm^2 . There was no

significant effect of Si supply or inoculation on root dry weight 7 days after inoculation (Table 3.2). Fourteen days after inoculation, the higher severity of disease for Si- plants was accompanied by a greater reduction in plant growth for this treatment. The root dry weight of the inoculated Si- plants was statistically lower than that of the non-inoculated Si- plants (Student-Newman-Keuls' test, $P = 0.0006$), but there was no significant difference in root dry weight between inoculated and control Si+ plants (Student-Newman-Keuls' test, $P = 0.157$) (Table 3.2). A relatively linear increase of the root dry weight was observed for plants grown in the presence of Si, inoculated or not, and for the Si- non-inoculated plants. This was not the case for the plants inoculated with *C. spathiphylli* and grown in the absence of Si, where root dry weight did not increase between 7 and 14 days after inoculation (Table 3.2). Two-way ANOVA revealed a significant effect of inoculum dose on root dry weight (Two-way ANOVA, $P = 0.0016$) at 14 days (Table 3.2). There was no significant effect of Si supply or inoculation on root dry weight at 21 days after inoculation (Table 3.2). A significant effect of Si supply on shoot dry matter was observed at that time (Two-way ANOVA, $P = 0.0054$). The shoot dry matter was higher for plants amended with Si than for those grown in absence of Si (Table 3.3).

No significant difference in leaf surface area or evapotranspiration was observed after inoculation among the six treatments. The mean leaf area at the end of the experiment was $646.96 \pm 24.11 \text{ cm}^2$ and the mean total evapotranspired water for the 3 weeks following inoculation was $654.61 \pm 22.60 \text{ g}$ of water.

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du bananier en conditions contrôlées

None of the two-way ANOVA's made on the data revealed a significant interaction between inoculation dose and Si treatments.

Table 3.2. Evolution of the average roots dry weight of plants amended (Si+) or not (Si-) with Si and inoculated with 2.10^3 (d2 dose), $0.5.10^3$ (d0.5 dose) conidia of *C. spathiphylli* ml⁻¹ or not inoculated (NI). Ten plants were analyzed per treatment. For a same Si treatment, values within a column with the same letter are not significantly different at $P=0.05$.

Roots dry weight (g) x days after inoculation				
Si amendment	Inoculum (conidia ml ⁻¹)	x = 7	x = 14	x = 21
-	2.10^3	0.513 ± 0.117 a	0.548 ± 0.095 a	0.849 ± 0.173 a
-	$0.5.10^3$	0.556 ± 0.102 a	0.571 ± 0.095 a	0.795 ± 0.162 a
-	0	0.536 ± 0.115 a	0.756 ± 0.147 b	1.036 ± 0.190 a
+	2.10^3	0.482 ± 0.117 a	0.584 ± 0.092 a	0.847 ± 0.167 a
+	$0.5.10^3$	0.552 ± 0.104 a	0.701 ± 0.210 a	0.885 ± 0.160 a
+	0	0.511 ± 0.159 a	0.695 ± 0.114 a	0.984 ± 0.218 a

Table 3.3. Average shoot dry weight of plants amended (Si+) or not (Si-) with Si, inoculated with 2.10^3 (d2 dose), $0.5.10^3$ (d0.5 dose) conidia of *C. spathiphylli* ml⁻¹ or not inoculated (NI) and assessed 21 days after inoculation. Ten plants were analyzed per treatment. Values within a row with the same letter are not significantly different at $P=0.05$

Mean shoot dry weight (g)		
Inoculum (conidia ml ⁻¹)	Si+	Si-
2.10^3	3.70 ± 0.77 a	3.11 ± 0.64 a
$0.5.10^3$	3.70 ± 0.54 a	3.00 ± 0.67 b
0	3.43 ± 0.36 a	3.33 ± 0.66 a

3.5 Discussion

In this study, the effect of Si uptake on the susceptibility of banana to *C. spathiphylli* was assessed under controlled conditions. Banana plants amended with 2 mM Si on a ferralsol, exhibited a reduction of about 50 % in the necrosis percentage of inoculated roots 14 days after inoculation compared with plants grown in the same conditions but in the absence of Si. At that time, the HRW of the Si-amended plants (0.48 g) was also superior to the HRW of plants not amended with Si (0.38 g). These results can be correlated with the highly significant difference of leaf Si concentration between Si- and Si+ plants at the end of weaning and after transplantation in the ferralsol, and indicate that Si amendment has a positive effect on banana plants affected by *C. spathiphylli*, which is known to cause severe necrosis and yield losses.

The results of our study could partly explain the observations made in fields in Guadeloupe, indicating that bananas grown on soils with a high Si concentration in soil solution were less affected by pathogens (Henriet et al. 2006). Our results also support the results of other studies that demonstrated the efficiency of Si in controlling diseases caused by pathogens and pests on various plants, notably rice (Seebold et al. 2000), cucumber (Chérif et al. 1994; Menzies et al. 1992) and wheat (Bélanger et al. 2003). It has been shown that Si reduces the incidence of various pests and pathogens, such as herbivorous insects (see Reynolds et al. 2009 for review), parasitic plants (Epstein 1994), bacterial diseases (Diogo and Wydra 2007) and root-knot nematodes (Swain and Prasad

1988). Many studies have focused on the positive impact of Si supply on reducing the impact of pathogenic fungi (Fauteux et al. 2005). The studied fungi are mostly leaf pathogens, such as *Sphaerotheca fuliginea* (Menzies et al. 1991), *Magnaporthe grisea* (Cai et al. 2008) and *Thanatephorus cucumeris* (Rodrigues et al. 2003), but some authors have shown that a similar effect could be obtained with root pathogens, such as *Pythium ultimum* on cucumber (Chérif et al. 1992a). In bananas, the positive impact of Si on *Mycosphaerella fijiensis*, a leaf pathogen, has been shown by Kablan et al. (2008). Our study demonstrated that the impact of Si can also reduce the susceptibility of banana to a root pathogen.

The mechanism by which Si reduces the incidence of *C. spathiphylli* on banana is not known. In our study, the Si concentration in leaves reached between 1.38 and 1.96 % in plants amended with Si. The Si concentration in roots was not measured, but a study performed by Henriot et al. (2006) showed that Si concentration in the roots of 9-week-old banana plants amended with Si under hydroponic conditions was significantly lower than in the leaves (0.26 % and 2.12 %, respectively). These authors concluded that transpiration played a major role in silicon accumulation and distribution in banana. It is not known if the Si content in banana roots is in soluble or solid form, but as roots are not transpiration sites it is presumed that the Si in roots is not in solid form. This suggests that the protective effect of Si observed in the banana – *C. spathiphylli* interaction cannot be explained by the mechanical barrier theory. Chérif et al. (1992a) arrived at the same conclusion with the

cucumber –*P. ultimum* pathosystem, also involving a root pathogen. These authors showed that Si conferred protection against *P. ultimum* although it did not accumulate at fungal penetration sites and was almost absent from the wounded roots. Various other studies have suggested that soluble Si affects host defense mechanisms by stimulating metabolic pathways, resulting in the synthesis of defense compounds, such as phytoalexins (Bélanger et al. 2003; Fawe et al., 1998). Silicon might play an active role, in its mobile form, in the resistance of banana to *C. spathiphylli* disease. Further physiological, cytochemical and biochemical investigation is needed to fully validate this hypothesis for bananas.

In our experiment, the reduced impact of the pathogen associated with the Si amendment can be related to the effects of Si on growth parameters after inoculation. The shoot dry weight 21 days after inoculation was significantly higher for Si+ plants than for Si- plants, and the effect of inoculation on the root dry weight 14 days after inoculation was alleviated by Si treatment. In contrast, no effect of Si supply was observed at the end of weaning on the plant growth parameters being considered (dry weight of roots and shoots, and leaf area). These results accord with earlier studies showing that Si had no effect on growth in optimal conditions (notably Henriot et al. (2006) for banana; Cornelis et al. (2010) for tree seedlings), but the beneficial effects of Si on plant growth are indirect and are evident when plants are subjected to stress conditions (Chain et al. 2009).

The methodology used in our study highlights three interesting points. First, the differences in Si concentration between the Si⁺ and Si⁻ plants were significant, and indicated that the chosen ferral soil was adequate for maintaining a very low Si supply to the Si⁻ plants and that the Si amendment to the Si⁺ plants was well assimilated. The methodology also highlighted the importance of the inoculum concentration of *C. spathiphylli*. The observed effects of Si differed according to inoculum dose. A significant effect of the Si treatment on the necrosis percentage was observed for the d2 dose, but the d0.5 dose was not enough to create significant root necrosis and there was no significant effect of the Si treatment on the measured parameters for that dose. Finally, despite the difficulties related to the destructive methods required for studying root-rot pathogens, the disease temporal evolution assessment was very important. In our case, root damage increased 7 and 14 days after inoculation, but a decrease in the effects of the inoculation occurred 21 days after inoculation. No significant difference in necrosis percentage was observed between the inoculated and control plants at the end of the experiment, for either Si⁻ or Si⁺ plants. This could be attributed to a restart of growth, which diluted the effects of the inoculation. Only the conidia in contact with the roots at the time of inoculation succeeded in causing necroses, and the importance of these necroses was counter-balanced by the appearance of new healthy roots, as illustrated in Figure 3.3, which shows an HRW increase 21 days after inoculation.

In conclusion, our results indicate that an Si application had a positive effect in the control of banana plant disease in a Si-deficient soil. Studies

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du
bananier en conditions contrôlées

in the field are needed to confirm that Si amendment is a viable means of sustainably managing banana crops worldwide, providing an environmental friendly alternative to pesticides for controlling banana crop diseases.

Chapitre 4

Silicon reduces black sigatoka development in banana

Adapted from Kablan L, Lagauche A, Delvaux B, Legrève A. 2011. Silicon reduces black sigatoka development in banana. Plant Disease 96 : 273-278

Commentaires préliminaires

Les essais réalisés dans le chapitre précédent ont confirmé que le bananier était une plante accumulatrice de silicium et ont mis en évidence que le silicium prélevé par le bananier lui permettait de mieux se défendre contre *C. spathiphylli*, un pathogène fongique racinaire du bananier.

Parmi les maladies du bananier, la cercosporiose noire est considérée comme étant la maladie foliaire la plus destructrice pour les cultures bananières (Jones 2000). L'agent responsable de cette maladie est *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Il est responsable de plus de 50% des pertes de rendement (Marin et al. 2003). Le contrôle de la cercosporiose noire est fait à partie d'intrants chimiques. Une bananeraie intensive peut recevoir en moyenne sur une année 2 à 3 applications de nématicides, 1 à 2 d'insecticides, 4 à 12 de pulvérisation aérienne de fongicides et entre 3 et 5 applications d'herbicides (Blanchart et al. 2004). Mais ces différentes applications donnent lieu, en plus de l'augmentation des coûts de production, à des problèmes de pollution de l'environnement.

Dans le but de réduire l'impact environnemental lié à la lutte contre cette maladie et de développer une méthode alternative de lutte intégrée et plus respectueuse de l'environnement, il nous est apparu utile d'étudier l'impact potentiel de l'apport du Si au bananier sur sa résistance à la cercosporiose noire, d'autant plus qu'un effet positif avait déjà été montré pour le pathogène racinaire *C. spathiphylli*. Comme dans les essais réalisés dans l'étude précédente, le cultivar Grande Naine (sous-

groupe Cavendish) est utilisé dans cette étude car il est susceptible à *Mycosphaerella fijiensis* et représente donc une interaction compatible avec ce pathogène.

Trois expériences indépendantes ont été mises en place en conditions contrôlées et deux systèmes de culture distincts, culture hydroponique du bananier et culture du bananier en pots dans du terreau, ont été testés. Afin de mettre en évidence toutes les potentialités 'physiologiques' du bananier, les essais ont été réalisés sur des plantes adultes. Deux types d'inoculum, sous forme de mycélium ou de conidies, ont été testés pour évaluer les niveaux des effets de l'apport en silicium selon la pression parasitaire. La teneur en silicium dans les feuilles et le développement de la maladie ont été comparés selon la quantité de silicium apportée.

Les résultats présentés dans ce chapitre permettent de démontrer que les plantes alimentées en Si absorbent de manière très significative le silicium. Elles sont, par ailleurs, moins infectées par *M. fijiensis* : la progression de la maladie y est plus lente et la sévérité moins importante.

4.1 Abstract

The effect of silicon (Si) uptake on the susceptibility of banana ‘Grande Naine’ (AAA Cavendish subgroup) to *Mycosphaerella fijiensis* was investigated in three experiments conducted under controlled conditions. Plants were grown in the presence of Si or not, in pots adapted for a hydroponic culture system or in pots filled with compost. The banana leaves were inoculated after four or six months of plant growth by spraying conidial suspensions or by brushing mycelia fragments. The disease progress over time was assessed using quantitative and qualitative scales. At the end of each experiment, disease severity was also analyzed using the image analysis software ASSESS. The Si concentration in the leaves of plants supplied with Si reached 10 to 28 g/kg of dry matter. The first symptoms appeared 18 or 19 days after inoculation. The disease developed more rapidly and more severely on banana plants grown without Si than on plants supplied with Si. The areas under disease progress curve (AUDPC) calculated for plants grown with Si were significantly lower than the AUDPC for plants not supplied with Si, regardless of inoculation method. Silicon supply could thus be a valuable tool in integrated pest management against *M. fijiensis* by reducing the disease pressure on banana.

4.2 Introduction

Bananas are perennial giant herbs and the second-most important fruit in terms of production in the world, after citrus (Swennen and Rosales 1994). Banana production constitutes a major source of income and provides a vital source of food for more than 70 million people in Africa (Ploetz et al. 2003). Bananas and plantains are susceptible to a wide-range of serious diseases. Black sigatoka, caused by *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, is currently the most important disease of banana and plantain worldwide. This airborne fungal leaf spot disease affects the photosynthetic area of the host plant, causing yield losses estimated at 33-69 % when the disease is not controlled (Craenen and Ortiz 1998; Fu et al. 2010; Marin et al. 2003). Fungicides are used to control the spread of infection, but are too expensive for small-scale farmers and are potentially environmentally damaging. The increase of fungicide resistant *M. fijiensis* strains in some production zones has significantly affected the efficiency of these fungicides in stopping infections (Romaro 1995). Other strategies need to be developed to reduce losses due to this pathogen.

Silicon (Si) is the second-most abundant mineral element in the soil, after oxygen, and accounts for about 28% of the Earth's crust (Epstein 1994; Cai et al. 2008). It is present as silicic acid (H_4SiO_4) in soil at concentrations generally ranging from 0.1 to 0.6 mM (Epstein 1994; 1999; Liang et al. 2007). Plants absorb Si from the soil as silicic acid when the soil solution pH is below 9 (Ma and Takahashi 2002). Si

content in plant tissue ranges from 1 to 100 g/kg of dry weight (De Melo et al. 2010; Ma and Takahashi 2002).

Based on their active, passive or exclusive Si uptake mechanisms, plant species are classified as high-, intermediate- or non accumulators, respectively (Takahashi et al. 1990). Three transporters responsible for the high capacity for Si uptake in roots or in shoots of rice have been identified by Ma et al (Ma et al. 2006; Ma et al. 2007) and Yamaji et al. (2008).

Although silicon has not been considered an essential element for higher plants, it has been shown to be beneficial for the healthy growth and development of many plants exposed to stress. The stresses that silicon alleviates range from abiotic, such as salt and metal toxicities, to biotic, including pests and diseases (Epstein 1994; 1999; 2009; Ghareeb 2011; Liang 1999; Liang et al. 2007; Ma et al. 2001; Sun et al. 2010). Si reduces the severity of several economically important diseases in barley, corn, cucumber, grape, rice, strawberry and wheat (Datnoff et al. 2007; Nanayakkara et al. 2008; Rezende et al. 2009). It increases rice resistance to many diseases, such as blast, brown spot, leaf scald, sheath blight, and stem rot (Cai et al. 2008; Datnoff et al. 1997; Fauteux et al. 2005). It also enhances plant resistance to powdery mildew in barley, cucumber, tomato and wheat (Cai et al. 2008; Fauteux et al. 2005; Ghareeb et al. 2011). However, the mechanisms of Si-induced resistance remain unclear. Numerous studies suggest that Si performs its functions in two ways: by the polymerization of silicic acid, leading to the formation of solid amorphous, hydrated silica (Hayasaka et al. 2008; Jones and

Handreck 1967); and by being instrumental in the formation of organic defense compounds through the mediation of gene expression (Epstein 2009). Most studies on disease control by silicon have focused on monocot plants such as rice, which can accumulate Si up to a level of 10% of shoot dry weight (Ma and Yamaji 2006).

Banana plants can have more than 2% of Si in the shoot dry weight (Lahav 1995). Like rice, banana is a Si-accumulator monocot plant (Henriet et al. 2006). There is little information, however, about the potential positive effects of Si on the resistance of banana to plant pathogens. The objective of this study was to determine whether Si could affect the susceptibility of banana 'Grande Naine' (AA Cavendish subgroup) to *M. fijiensis*.

4.3 Materials and methods

4.3.1 Plants materials and growth conditions

Tissue culture-derived plantlets of banana 'Grande Naine' (AAA Cavendish subgroup) supplied by Vitropic (Montpellier, France) were weaned (acclimatized) for 7 weeks in aerated nutrient solution tanks under the same conditions previously reported by Henriet et al. (2006). After weaning, the plants were transplanted into pots adapted for a hydroponic culture system or pots filled with compost (pH 5-6.5, organic matter 25%, De Ceuster Meststoffen, Belgium), depending on the experiment. For the two hydroponic culture experiments, plantlets with an average height of 14 cm were each transferred into 2.5 liter

(Experiment 1) or 6 liter (Experiment 2) cylindrical PVC pots. The composition of the nutrient solution, in macroelements (mM), was: 0.9 Ca (NO₃)₂, 0.05 CaSO₄, 0.05 CaCl₂, 0.5 KCl, 0.25 K₂SO₄, 0.05 MgSO₄, 0.1 NH₄Cl, 0.05 (NH₄)₂SO₄ and 0.05 NaH₂PO₄; the composition in microelements (μM) was, 80 H₃BO₃, 80 FeEDTANa, 8 MnCl₂, 0.8 ZnSO₄, 0.8 CuSO₄ and 5.6 (NH₄)₆Mo₇O₂₄ (Rufyikiri et al. 2001). Si was supplied as silicic acid (H₄SiO₄). The H₄SiO₄-solution was prepared by dissolving sodium metasilicate (Na₂SiO₃·5H₂O) in demineralized water, and leaching in an acidic cation exchanger (Amberlite® IR-120). A concentration of 2 mM or 1.7 mM of Si (Experiment 1 or Experiment 2, respectively) was added to the nutrient solution for plants supplied with Si. The nutrient solution was supplied continuously by peristaltic pumps at a rate of 104 ml/h/ pot (Declerck et al. 1998). A third experiment (Experiment 3) was performed with banana plants grown in pots containing 6 kg of compost and watered with a nutrient solution. Every 3 days, the plants were supplied with 1000 ml of the same nutrient solution in the presence of silicon (1.7 mM of Si) or not (+Si or -Si, respectively). The plants were grown in a greenhouse with a relative humidity of 80%, 12 h daylight and a temperature of 28/25°C (day/night). The photon flux density at the canopy level was 446 μE m⁻² s⁻¹ for the Experiment 1.

The relative humidity inside the greenho use was controlled using two humidifiers (CUOGHI type NEB-5000, BEPA SA, Jemeppe-sur-Sambre, Belgium).

4.3.2 Inoculum production

Two types of inoculum, conidia and mycelial fragments, were used in the experiments. The strain (MUCL 47740) of *M. fijiensis* originated from an infected banana leaf collected in Cameroon. After 14 days of growth on potato dextrose agar (PDA) medium (39 g/liter), the fungal culture was transferred onto V8 juice agar (200 ml V8 juice, 3 g CaCO₃, 20 g agar, Oxoid), amended with 60 mg/liter of penicillin and 40 mg/liter of streptomycin sulfate after sterilization in order to produce conidia (adapted from Abadie et al. (2008)). After 14 days, 5 ml of water was added to the Petri dishes and the suspension was filtered through sterile cheesecloth (1 layer, pore size of approximately 150 µm) to separate the mycelium from conidia. The conidial suspension was concentrated by centrifugation at 5,000 g for 10 minutes. The concentration was determined using a Fuchs-Rosenthal counting chamber. Gelatin (1%) (MERK, Belgium) was added to the final conidial and mycelial fragments to facilitate inoculum adhesion to the leaf blades (Molina-Tirado and Castano-Zapata 2003; Mourichon et al. 1987).

4.3.3 Inoculation procedure

Experiment 1 (hydroponic). Eight 4-month-old plants grown in 2.5 liter pots were inoculated on June 2008 by spraying 0.5 ml of suspension containing 10⁴ conidia on two delimited areas (9 cm diameter) or by brushing 0.3 mg of mycelial fragments on two other delimited areas

(9 cm diameter) on five fully unfolded leaves of banana plants. Four plants were supplied with Si (+Si), four other plants were not supplied with Si (-Si) and a further four plants (2 +Si and 2 -Si) were not inoculated.

Experiment 2 (hydroponic). Eight 6-month-old banana plants grown in 6 liter pots were inoculated on October 2009 by spraying 0.5 ml of suspension containing 2×10^3 conidia or by brushing 0.3 mg of mycelial fragments on three delimited areas (9 cm diameter) on the last three fully unfolded leaves. Four plants were supplied with Si (+Si plants), four plants were not supplied with Si (-Si plants) and two plants (1+Si and 1 -Si) were not inoculated.

Experiment 3 (compost). Six 6-month-old plants were inoculated on February 2010 by spraying 0.5 ml of suspension containing 10^4 conidia on six delimited areas on three leaves. Three of these plants were supplied with Si (+Si plants), three other plants were not supplied with Si (-Si plants), and a further two plants were not inoculated (1 +Si and 1 -Si).

The relative humidity was maintained at 100% during the first 3 days after inoculation. Afterwards, the humidity was reduced to 80%. To increase the humidity, plants were placed in a plastic greenhouse inside the larger greenhouse for Experiment 3.

4.3.4 Assessment of disease progress and image analysis

The percentage of diseased leaf area was assessed every seven days after inoculation for 34 (Experiment 1) to 67 or 69 days

(Experiment 3/Experiment 2) using the quantitative scale described by Torres et al. (2000) (scale 0 to 5, where 0 = no symptoms and 5 = more than 50% of the leaf affected). Disease severity was evaluated using the qualitative scale described by Mourichon et al. (1987) for each inoculated area (scale 1 to 5, where 1= very small spots with a diameter of less than 0.5 mm, 5 = black spot with a dry, grey center, leaf completely necrotic). Eight to twelve areas were inoculated per leaf stage, in Experiment 1/Experiment 2 respectively, on three or four plants, but the infection of some areas could not be analyzed due to early senescence or accidental injury. The AUDPC values were calculated with the quantitative scale using the following equation:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} (Y_i + Y_{i+1})/2 (X_{i+1} - X_i)$$

where Y_i = disease severity at the i_{th} observation, X_i = time at the i_{th} observation, and n_i = number of times, i = the order index for the times.

At the end of each experiment, the percentage of diseased areas was also analyzed using the image analysis software for plant disease quantification ASSESS (American Phytopathological Society, St. Paul, MN). Each inoculated area was scanned at a resolution of 600 pixels. For each image, the inoculated area was delimited manually. Recognition of diseased areas was achieved for each inoculation area by using the hue or intensity plane in the hue saturation intensity color space and manually adjusting the threshold levels until the diseased area was correctly recognized by the software (Donzelli and Churchill 2007). The

proportion of the inoculated area that developed symptoms was assessed for each image.

4.3.5 Determination of silicon content in plants

The total Si content in banana leaves was analyzed for each experiment. The youngest fully unrolled leaf or flag leaf was marked L1 or leaf 1 as used by Lhomme and Jimenez (1992), the leaf unrolled before the flag leaf was marked L2, etc. For the banana plants grown in hydroponic conditions, the five upper leaves (L1 to L5) were sampled in Experiment 1 (4 months old) and only one leaf stage (leaf 5 or L5) was sampled in Experiment 2 (6 months old). For the banana plants grown in compost (Experiment 3), the Si content was measured on the three upper leaves of each banana plant (L1 to L3). Leaves were dried at 60°C for 1 week. The mineral analysis was carried out after calcination at 450°C for 1 day and fusion in Li-metaborate (Flux LM 100, SOCACHIM-XRF Scientific, Belgium) + Li-tetraborate (Flux LT 100, SOCACHIM-XRF Scientific, Belgium) at 1,000°C (Chao and Sanzalone 1992), followed by dissolution using fusion beads in 2M of HNO₃ solution. Si concentration was measured using inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES).

4.3.6 Data analysis

Data from all the experiments were subjected to analysis of variance (ANOVA 1) using the SAS statistical program (version 3.0, SAS Institute, Cary, NC, USA). The treated means were compared using Fisher's protected least significant difference test (FLSD, $P \leq 0.05$) for

multiple mean comparisons or using a t-test for two mean comparisons ($P \leq 0.05$).

4.4 Results

4.4.1 Effect of Si amendment on banana plants grown in hydroponic conditions

Experiment 1. The Si concentration in the leaves of banana plants in which the plants were inoculated after 4 months ranged from 10.14 to 28.3 g/kg depending on the leaf stage, for plants amended with Si, and from 0.18 to 0.70 g/kg for plants not supplied with Si (Table 4.1). In plants inoculated with *M. fijiensis* the first symptoms appeared 19 days after inoculation (DAI) for both the +Si and -Si treatments. The percentage of symptomatic area indicative of black sigatoka increased more rapidly on the -Si plants than on the +Si ones (Figure 4.1). Stage 2 of the qualitative Mourichon scale occurred at 24 DAI for -Si plants and at 27 DAI for +Si plants inoculated with conidia. For plants inoculated with mycelial fragments, Stage 2 occurred 22 DAI for -Si plants and 24 DAI for +Si ones. Thirty days after inoculation, the percent disease severity reached 20.5% for -Si plants and 18.8% for +Si plants in the plants inoculated with conidia. For plants inoculated with mycelial fragments, the percent disease severity reached 30.6% for +Si plants and 36.2% for -Si ones (Figure 4.1).

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du bananier en conditions contrôlées

Table 4.1. Silicon content (g/kg of dry matter) in the leaves of 4-month-old banana plants grown under a hydroponic system, before inoculation (Experiment 1)^y.

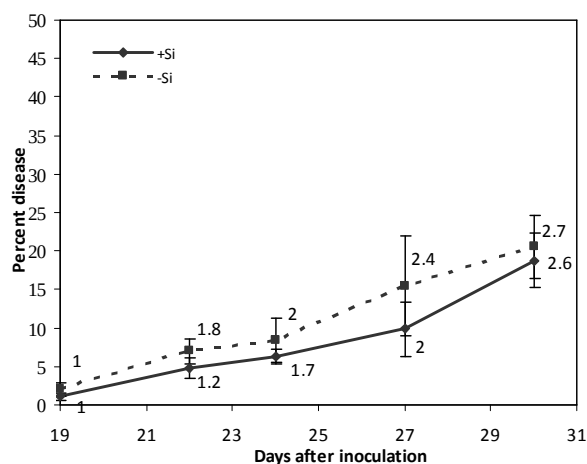
Si treatments	Si-conc in nutrient solution (mM)	Si concentration in plant (g/kg)					
		L1	L2	L3	L4	L5	Mean
+Si	2	10.14	18.02	25.75	28.2	28.3	22.07
-Si	0	0.18	0.30	0.5	0.55	0.7	0.42
P>F		0.0079	0.0002	0.0175	<.0001	0.0164	<.0001

^y +Si= 2 mM; -Si= 0 mM, L1= the youngest fully unrolled leaf or flag leaf, L2= leaf 2; L3= leaf 3; L4= leaf 4; L5= leaf 5, n=3.

^z P value from the t-test ($P \leq 0.05$) for the comparison between the mean Si concentrations in leaves of +Si and -Si plants

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du bananier en conditions contrôlées

A



B

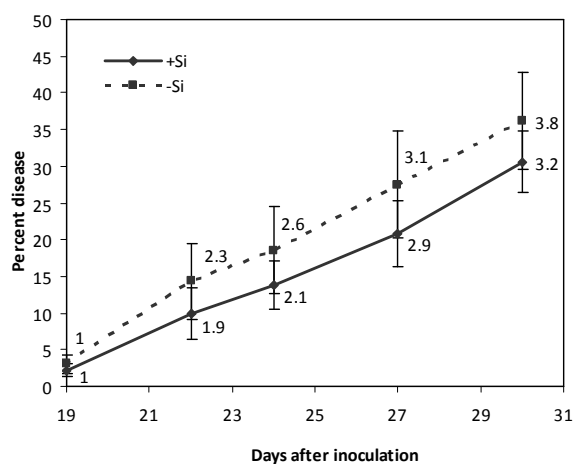


Figure 4.1. Quantitative and qualitative assessment of the development of symptoms of black sigatoka on four-month old banana plants grown under a hydroponic culture system amended with Si or not and inoculated with conidia (A) or mycelia (B). Numbers on the curves are the mean disease severity values according to Mourichon scale. Vertical lines show the standard deviations.

The AUDPC values for +Si plants were significantly lower than those for -Si ones when inoculated with conidia (Table 4.2). The AUDPC values were lower for leaf areas inoculated with conidial suspensions than for those inoculated with mycelial fragments (Table 4.2). At 34 DAI, the percentages of leaf-infected areas evaluated using ASSESS were significantly higher for plants not supplied with Si than for + Si plants (Table 4.3). These differences were greater for plants inoculated with mycelia fragments as opposed to those inoculated with conidia.

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du bananier en conditions contrôlées

Table 4.2. Area Under Disease Progress Curve (AUDPC) mean values for black sigatoka of banana grown under hydroponic culture and inoculated after 4 months (Experiment 1) or 6 months (Experiment 2) with mycelial fragments or conidia of *M. fijiensis*.

Leaf stage	AUDPC			
	Inoculated with conidia		Inoculated with mycelia	
	-Si plants	+Si plants	-Si plants	+Si plants
<i>Experiment 1</i>				
After 5 weeks				
L1	116 ^a	85 ^a	214 ^a	158 ^b
L2	118 ^a	82 ^b	234 ^a	160 ^b
L3	123 ^a	97 ^a	242 ^a	172 ^b
L4	106 ^a	82 ^a	222 ^a	158 ^b
L5	140 ^a	89 ^b	230 ^a	188 ^a
Mean	120^a	87^b	228^a	168^b
<i>Experiment 2</i>				
After 7 weeks				
L2	151 ^a	134 ^a	286 ^a	175 ^b
L3	118 ^a	74 ^b	199 ^a	123 ^b
Mean	161^a	116^b	245^a	168^b
After 10 weeks				
L1	593 ^a	375 ^b	696 ^a	603 ^a
L3	390 ^a	314 ^a	600 ^a	448 ^b
Mean	506^a	347^b	650^a	522^b

AUDPC values followed by different letters for the same parameter are significantly different at $P \leq 0.05$, according to Fisher's protected least significant different test. Means (bold line) were obtained by pooling data of all leaves. L1 = the youngest fully unrolled leaf or flag leaf, L2=leaf 2; L3= leaf 3; L4= leaf 4; L5 = leaf 5.

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du bananier en conditions contrôlées

Table 4.3. Percentage of infected leaf areas calculated at the end of the experiments by image analysis for plants grown under a hydroponic system inoculated after 4 months (Experiment 1) or 6 months (Experiment 2) with mycelial fragments or conidia of *M. fijiensis*.

Leaf stage	Conidia as inoculum		Mycelium fragments as inoculum	
	-Si plants	+Si plants	-Si plants	+Si plant
	Percent infection	Percent infection	Percent infection	Perc ent infec tion
<i>Experiment 1</i>				
L1	15 ^a	4 ^a	51 ^a	38 ^a
L2	20 ^a	9 ^a	66 ^a	29 ^a
L3	15 ^a	8 ^a	77 ^a	33 ^b
L4	21 ^a	12 ^a	55 ^a	45 ^a
L5	23 ^a	18 ^a	52 ^a	60 ^a
Mean	19^a	11^b	60^a	43^b
<i>Experiment 2</i>				
L1	54 ^a	43 ^a	69 ^a	61 ^a
L3	47 ^a	43 ^a	69 ^a	71 ^a
Mean	51^a	43^a	69^a	66^a

Values followed by different letters for the same parameter are significantly different at $P \leq 0.05$, according to Fisher's protected least significant different test. Means (bold line) were obtained by pooling data of all leaves. + Si = 2 or 1.7 mM Si, -Si = 0 mM Si, L1 = the youngest fully unrolled leaf or flag leaf, L2=leaf 2; L3= leaf 3; L4= leaf 4; L5 = leaf 5

Experiment 2. The Si amendment in the nutrient solution of 6-month-old banana plants grown under hydroponic conditions led to a concentration in leaves ranging from 14.4 to 17.6 g/kg. The Si

concentration in leaves of plants not amended with Si ranged from 1.1 to 1.2 g/kg. The Si content was therefore 15 times higher for +Si plants than for -Si plants, whether or not they had been inoculated with *M. fijiensis* (Table 4.4). In plants inoculated with *M. fijiensis*, the first symptoms appeared 18 DAI for both +Si and -Si treatments (Figure 4.2). The disease developed more rapidly and more severely on banana plants grown without Si than for plants supplied with Si, whether or not plants had been inoculated with conidia or mycelial fragments.

There was a delay in disease progress for plants amended with Si. In the case of mycelial inoculation, Stage 2 on the Mourichon scale occurred 37 DAI for -Si plants and only 48 DAI for +Si. For plants inoculated with conidia, Stage 2 occurred 43 DAI for -Si and 48 DAI for +Si (Figure 4.2). The AUDPC values were 1.1-1.6 times higher for -Si plants than for +Si plants (Table 4.2). The AUDPC values of -Si and +Si plants differed significantly or not, depending on the leaf growth stage. Older leaves had a lower AUDPC value than younger leaves for + Si plants (Table 4.2). The disease progressed more rapidly and more severely when mycelium was used as the inoculum source (Table 4.2). The percentage of infected leaf calculated by image analysis was lower for +Si plants than for -Si plants, but this difference was not significant (Table 4.3).

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du bananier en conditions contrôlées

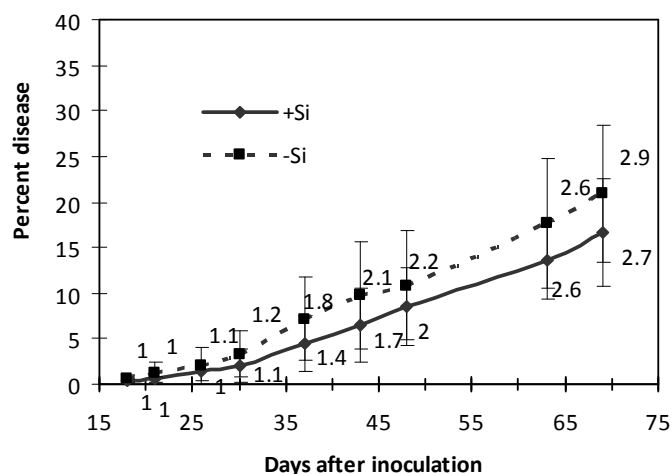
Table 4.4. Si concentration in leaves (g/kg of dry matter) of 6-month-old banana plants grown under a hydroponic system (Experiment 2)^y.

Silicon treatment	Si-conc in nutrient solution (mM)	<i>M. fijiensis</i> inoculation	Si concentration in leaves (g/kg)
+Si	1.7	-	14.4
+Si	1.7	+	17.6
-Si	0	-	1.1
-Si	0	+	1.2
P>F ^z			0.05

^y+Si =1.7 mM, -Si = 0 mM.

^z P value from the t-test ($P \leq 0.05$) for the comparison between the mean Si concentrations in leaves of +Si and -Si inoculated plants.

A



B

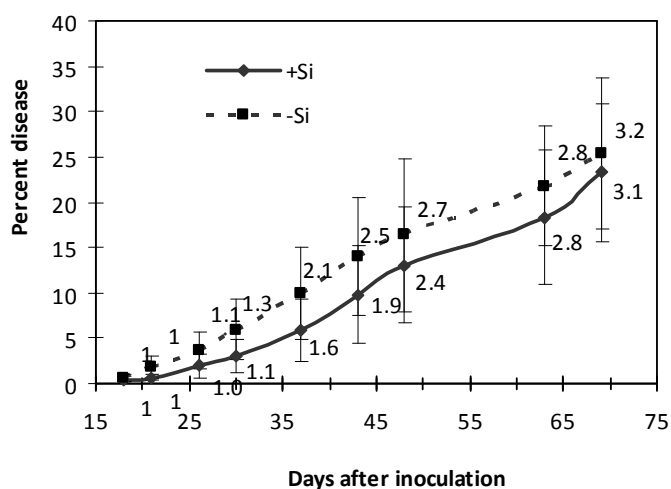


Figure 4.2. Quantitative and qualitative assessment of the development of symptoms of black sigatoka on six-month old banana plants grown under a hydroponic culture system amended with Si or not and inoculated with conidia (A) or mycelia (B) (Experiment 2). Numbers on the curves are the mean disease severity values according to Mourichon scale. Vertical lines show the standard deviations.

4.4.2 Effect of Si amendment on banana plants grown in compost.

Experiment 3. The Si concentration in leaves of 6-month-old banana plants grown in compost amended with Si reached mean values of between 17.1 and 22.6 g/kg, depending on the leaf growth stage (Table 4.5). These values are in the same range as the values of Si concentration obtained for plants in hydroponic solution (Table 4.4). The mean Si concentration of plants in pots not amended with Si varied from 1.2 to 1.8 g/kg (Table 4.5), which indicates that the compost provide negligible plant available Si to the plants. These values are slightly higher than those obtained for banana plants grown in hydroponic solution without Si (Table 4.4). Young leaves had a lower Si content than older leaves. The first symptoms of black sigatoka appeared 18 DAI on banana plants, whether or not they had been amended with Si (Figure 4.3). At 67 DAI, the percent disease reached 39.5% for +Si plants and 68.9% for -Si plants (Figure 4.3). Stage 2 of symptom development occurred 26 DAI for -Si plants and at 41 DAI for + Si plants (Figure 4.3). The AUDPC values calculated for each leaf separately or for the whole inoculated leaves were significantly higher (from 1.7 to 2.0 times) for -Si plants than for +Si plants (Table 4.6). The percent disease calculated by image analysis was significantly greater for plants not supplied with Si than for Si-supplied plants (Table 4.7).

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du bananier en conditions contrôlées

In the third experiment, black sigatoka progressed more intensively in plants grown in compost than in hydroponic solution. The percent disease on banana plants grown in compost conditions reached 70% after 67 DAI, as opposed to 30% after 69 DAI in the hydroponic system. The severity of the disease reached the last stage (Stage 5) of symptom development 67 DAI, whereas only stage 3 was reached in the hydroponic system (Figures 4.2 and 4.3).

Table 4.5. Si concentration in leaves (g/kg of dry matter) of 6-month-old banana plants grown in pots filled with compost (Experiment 3)^y.

Silicon treatment	Solution (mM)	Inoculation	Si conc. in leaf (g/kg of dry matter)			
			In leaf			In plant
			L1	L2	L3	
+Si	1.7	-	17.5	nd	22.6	20.0
+Si	1.7	+	17.3	17.1	21.6	18.7
-Si	0	-	1.2	nd	1.6	1.4
-Si	0	+	1.4	1.4	1.8	1.5
P>F ^z			0.006	0.009	0.02	<.0001

^yMean of three plants for plants inoculated with *M. fijiensis*, data of one plant for plant not inoculated. +Si = 1.7 mM, -Si = 0 mM, L1 = the youngest fully unrolled leaf or flag leaf, L2=leaf 2; L3= leaf 3, nd= no data

^z P value from the t-test (P≤0.05) for the comparison between the mean Si concentrations in leaves of +Si and -Si inoculated plants.

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du bananier en conditions contrôlées

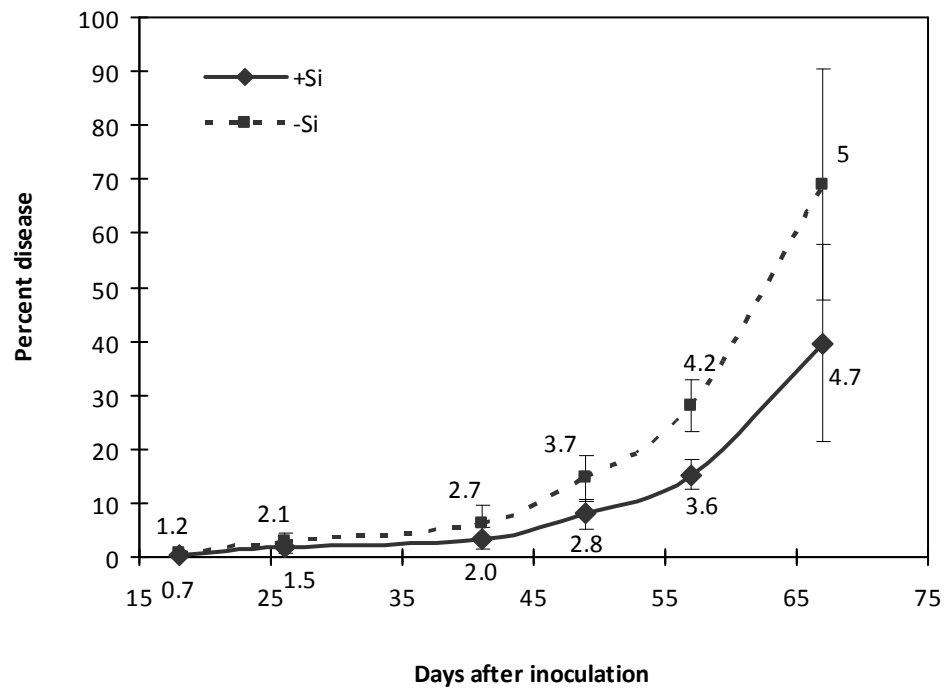


Figure 4.3. Quantitative and qualitative assessment of the development of symptoms of black sigatoka on banana plants grown in compost filled pots amended or not with Si and inoculated (Experiment 3). Numbers on the curves are the mean disease severity values according to Mourichon scale. Vertical lines show the standard deviations

Deuxième partie. Etude de l'effet du silicium sur le stress biotique du bananier en conditions contrôlées

Table 4.6. Area Under Disease Progress Curve (AUDPC) mean values for black sigatoka of six month old banana plants grown in compost filled pots and inoculated with conidia of *M. fijiensis* (Experiments 3).

Time scale	Leaf growth stage	AUDPC for -Si plants	AUDPC For +Si plants
After 7 weeks	L1	191 ^a	99 ^b
	L2	218 ^a	108 ^b
	L3	279 ^a	167 ^b
	Mean	229^a	124^b
After 10 weeks	L1	793 ^a	431 ^b
	L2	813 ^a	447 ^b
	Mean	803^a	439^b

AUDPC values followed by different numbers in a same row are significantly different at $P \leq 0.05$ according to Fisher's protected least significant different test. Means (bold line) were obtained by pooling data of all leaves. L1 = the youngest fully unrolled leaf or flag leaf, L2=leaf 2; L3= leaf 3.

Table 4.7. Percent disease calculated at the end of the experiment by image analysis for banana plants grown in compost filled pots and inoculated after six months with conidia of *M. fijiensis* (Experiment 3)^y.

Leaf growth stage	Percent disease		
	-Si plants	+Si plants	P>F
L1	85	46	0.0007
L2	53	43	0.49
Mean	72	45	0.43

^y + Si = 1.7 mM, -Si = 0 mM, L1 = the youngest fully unrolled leaf or flag leaf, L2=leaf 2

^z P value from the t-test ($P \leq 0.05$) for the comparison between the percent disease of +Si and -Si plants. Means (bold line) were obtained by pooling data of all leaves.

4.5 Discussion

In hydroponic conditions or compost, the Si supply to growing banana plants led to an increase in Si concentration in the plant leaves, reaching values of 1% to 3% Si dry weight. These results confirmed findings from previous studies, which established that banana is a Si accumulator (Henriet et al. 2006). In the two culture systems tested in this study, the Si content in Si-supplied plants was comparable.

In the three experiments, Si supply was not associated with an increase in the incubation time of *M. fijiensis* on banana leaves. A previous study by Rodrigues et al. (2001) showed the same results for *Rhizoctonia solani* in rice. These authors did not observe any effect of Si on the length of the incubation period of sheath blight in rice probably because *R. solani* is able to penetrate the stomata. The same explanation might be true for *M. fijiensis*, since this pathogen also penetrates via the stomata (Balint-Kurti et al. 2001).

Despite the lack of any effect on incubation time, the addition of Si to the nutrient solution used to grow banana plants under controlled conditions reduced percent disease and delayed disease development of black sigatoka. These results confirmed numerous observations made on the beneficial role of Si in monocots (Rémus-Borel et al. 2005). Nutrient solution concentrations of 1.7 mM Si were found to produce optimum disease reduction (Menzies et al. 1991). According to Guével et al. (2007), root applications of potassium silicate at a concentration of 1.7 mM gave the best results

in terms of Si absorption and powdery mildew control. Si application has been shown to suppress disease in cucurbits caused by foliar and soilborne pathogens (Bélanger et al. 2003) and to reduce the susceptibility of rice to various pathogens (Brunings et al. 2009; Datnoff et al. 1997). In the case of banana, it has been shown that Si amendment had a positive effect on plants infected by *Cylindrocladium spathiphylli* (Vermeire et al. 2011). However, the mechanistic basis for this observation is unclear. Two main hypotheses have been proposed to explain the resistance of Si-amended plants to infection by fungal pathogens (Brunings et al. 2009). One hypothesis proposed that Si could accumulate in the leaves and thereby interfere with pathogen's penetration as a result of a mechanical barrier (Cai et al. 2008; Kim et al. 2002). This is contradicted by other reports, suggesting that Si might mediate the natural defense mechanisms of the plant (Bélanger et al. 1995; Fawe et al. 1998; Samuels et al. 1991; Sun et al. 2010). In the present study, the older leaves of banana plants grown under hydroponic conditions were less susceptible to infection by *M. fijiensis* in six-month old plants but not four-month old plants. It is known that the Si distribution in shoot organs closely follows the cumulated transpiration of these organs, which is a function of their transpiration rate and their age (Jones and Handreck 1967). In the case of banana, Henriët et al. (2006) showed that Si concentration was higher in the older leaves than in comparison to younger ones. According to these authors, the Si distribution in the banana plant follows the sequence

roots<pseudostem<leaves. Within the leaf, a strong gradient is observed following the order petiole < midrib < internal part of the lamina < external part of lamina (Henriet et al. 2006). The higher resistance of older leaves to *M. fijiensis* would suggest that Si acts as a physical or physiological barrier against *M. fijiensis* infection (Kim et al. 2002). This barrier would act at or after the penetration of the fungus into the leaf since *M. fijiensis* penetrates through stomata. However, this higher resistance was not apparent for four-month old banana plants grown in hydroponic conditions or for plants grown in compost where the older leaves were more susceptible to *M. fijiensis* than the younger ones.

This contradiction has been observed by numerous authors (Fauteux et al. 2005; Fawe et al. 2001) and suggests that another mechanism might be at play, possibly the involvement of Si in host defense responses, as proposed in some studies (Fawe et al. 2001; Ghareeb et al. 2011; Hammerschmidt 2011; Menzies et al. 1991; Rodrigues et al. 2004). Fawe et al. (Fawe et al. 1998) suggested that silicon is involved in the increased resistance of a host to pathogens by enhancing the activity of antifungal compounds, such as phytoalexins. Factors other than Si could also account for the difference in susceptibility to black sigatoka, depending on leaf growth stage. In the case of infection of banana by *M. fijiensis*, Jacome and Schuh (1992; 1993) reported that older leaves were more susceptible, whereas Romero (1995) observed that younger leaves were more susceptible than older ones. These contradictions are reflected in our experiments.

Infection pressure, environmental conditions and plant age might explain some of these observed differences.

The comparison of two inoculation methods showed that inoculation with mycelia fragments resulted in higher disease severity than the use of a conidial suspension. A similar result was observed by Twizeyimana et al. (2007), who reported that inoculation of *in vitro* plantlets of banana with mycelia fragments caused significantly higher levels of black sigatoka disease and faster rates of disease progress compared with using conidial suspensions. However, they recommended conidial inoculum over mycelial fragments because of the difficulty in quantifying and standardizing concentrations of mycelia fragments. In the present study, both mycelia and conidia were used because of the difficulty in producing high concentrations of conidia.

The results presented herein suggest that Si has the potential to reduce the severity of black sigatoka development and could help in enhancing disease control, especially in combination with fungicides.

Références

Références

- Abadie C, El Hadrami A, Rivas G, Zapater MF, Carlier J. 2001. Studies of *Mycosphaerella fijiensis* population structure and partial resistance of bananas. Infomusa 10: 14-15
- Abadie C, Zapater MF, Pignolet L, Carlier J, Mourichon X. 2008. Artificial inoculation on plants and banana leaf pieces with *Mycosphaerella* spp., responsible for Sigatoka leaf spot disease. Fruits 63:319-323.
- Alexandre A, Meunier JD, Colin F, Koud JM. 1997. Plant impact on the biogeochemical cycle of silicon and related weathering processes. Geochimica Et Cosmochimica Acta 61:677-682
- Alexander GB, Heston WM, Iler RK. 1953. The solubility of amorphous silica in water. J Am Chem Soc 75:453-455
- Andriesse JP. 1988. Nature and management of tropical peat soils. FAO Soils bulletin 59
- Arias P, Dankers C, Liu P, Pilkauskas P. 2003. L'économie mondiale de la banane 1985-2002 Rome : FAO Press. 102p
- Arsenault-Labrecque G, Menzies JG, Bélanger RR. 2011. Effect of silicon absorption on soybean resistance to *Phakopsora pachyrhizi* in different cultivars. Plant Disease. 96:37-42
- Bakry F, Carreel F, Caruana M.-L, Côte FX, Jenny C, Tézenas du Montcel H. 1997. Les bananiers. In Charrier A, Hamon S, Jacquot M. & Nicolas D., eds. L'amélioration des plantes tropicales. Montpellier, France : CIRAD/ORSTOM pp 109-139

Références

- Balbin GLA, Zapata CJ. 2001. Lutte intégrée contre les cercosporioses noire et jaune chez la variété de bananier plantain cv. Africa. *Infomusa* 10: 3-7
- Balint-Kurti PJ, May GD, Churchill ACL. 2001. Development of a transformation system for *Mycosphaella* pathogens of banana: a tool for the study of host/pathogen interaction. *FEMS Microbiol. Lett.* 195:9-15.
- Ball T, Vrydaghs L, Van Den Hauwe I, Manwaring J, De Langhe E. 2006. Differentiating banana phytoliths: wild and edible *Musa acuminata* and *Musa balbisiana*. *Journal of Archaeological Science* 33: 1228-1236
- Bélanger RR, Bowen PA, Ehret DL, Menzies JG. 1995. Soluble silicon, its role in crops and disease management of greenhouse crops. *Plant Dis.* 79: 329-336
- Bélanger RR, Benhamou N, Menzies JG. 2003. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. tritici). *Phytopathology* 93: 402-412
- Bennett RS, Arneson PA. 2003. Black Sigatoka. The Plant Health Instructor. Online DOI:10.1094/PHI-I-2003-0905-01
- Beveraggi A. 1992. Etude des interactions hôte-parasite chez des bananiers sensibles et résistants inoculés par *Cercospora fijiensis* responsables de la maladie des raies noires. Thèse de 3ème cycle, Université de Montpellier II, USTL

Références

- Beveraggi A, Mourichon X, Sallé G. 1995. Etude comparée des premières étapes de l'infection chez des bananiers sensibles et résistants infectés par le *Cercospora fijiensis* (*Mycosphaerella fijiensis* agent responsable de la maladie des raies noire. Can. J. Bot 73 :1328-1337
- Blanchart E, Roose E, Khamsouk B, Dorel M, Laurent JY, Larré-Larrouy M.C, Rangon L, Pinot J.P, Louri J. 2004. Pertes en carbone par érosion et drainage et variations de stocks de C en deux ans sous différentes pratiques en culture bananière, *Gestion de la biomasse, érosion et séquestration du carbone. Erosion du carbone*. Paris: IRD, 95-107
- Bowen PA, Menzies JG, Ehret DL. 1992. Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grapes leaves. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117:906-912
- Brun J. 1963. La cercosporiose du bananier en guinée. Etude de la phase ascosporee de *Mycosphaerella musicola* Leach. Thèse.
- Brunings AM, Datnoff LE, Ma JF, Mitani N, Nagamura Y, Rathinasabapathi B, Kirst M. 2009. Differential gene expression of rice in response to silicon and rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. Ann. Appl. Biol 155:161-170.
- Burt PJA, Rutter J, Gonzalez H. 1997. Short distance windborne dispersal of the fungal pathogens causing Sigatoka diseases in banana and plantain. Plant Pathology 46: 451-458
- Cai KZ, Gao D, Luo SM, Zeng RS, Yang JY, Zhu XY. 2008. Physiological and cytological mechanisms of silicon induced

Références

- resistance in rice against blast disease. *Physiol Plant* 134:324-333
- Cai K, Gao D, Shiming L, Resen Z, Yang J, Zhu X. 2008. Physiological and cytological mechanisms of silicon-induced resistance in rice against blast disease. *Physiologia Plantarum*, 134:324-333.
- Cai K, Gao D, Chen J, Luo S. 2009. Probing the mechanisms of silicon-mediated pathogen resistance. Mini-Review. *Plant signalling & behaviour* 4: 1-3
- Calvalcante MJB, Escoute J, Madeira JP, Romero RE, Nicole MR, Oliveira L, Hamelin C, Lartaud M, Verdeil JL. 2011. Reactive oxygen species and cellular interactions Between *Mycosphaerella fijiensis* and banana. *Tropical Plant Biol* 4: 134-143
- Carlier J, Lebrun MH, Zapater MF, Dubois C, Mourichon X. 1996. Genetic structure of the global population of banana black leaf streak fungus, *Mycosphaerella fijiensis*. *Mol. Ecol* 5: 499-510
- Carlier J, Mourichon X, Jones DR. 2000. Black leaf streak. The causal agent. CABI publishing Wallingford, UK, p46-56
- Carlier J. 2004. Structure génétique de population et dispersion de *Mycosphaerella fijiensis*. *InfoMusa* 13:17-20
- Carver TLW, Robbins MP, Thomas BJ, Troth K, Raistrick N, Zeyen RJ. 1998. Silicon deprivation enhances localized autofluorescent responses and phenylalanine ammonia-lyase activity in oat

Références

- attacked by *Blumeria graminis*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 52: 245-257
- Chain F, Côté-Beaulieu C, Bezile F, Menzies JG, Bélanger RR. 2009. A comprehensive transcriptomic analysis of the effect of silicon on wheat plants under control and pathogen stress conditions 22:1323-1330
- Chang SJ, Tzeng DDS, Li CC. 2002. Effect of silicon nutrient on bacterial blight resistance of rice (*Oryza sativa* L.). in: Second Silicon in Agriculture Conferences. T. Matoh, ed. Press-Net, Kyoto, Japan, pp 31-33
- Chao TT, Sanzolone RF. 1992. Decomposition techniques. *J. Geochem. Explor.* 44:65-106.
- Chérif M, Bélanger RR. 1992a. Use of potassium silicate amendments in recirculating nutrient solutions to suppress *Pythium ultimum* on long English cucumber. *Plant Dis.* 76: 1008-1011
- Chérif M, Menzies JG, Benhamou N, Bélanger RR. 1992a. Studies of silicon distribution in wounded and *Pythium ultimum* infected cucumber plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 4:371-385.
- Chérif M, Benhamou N, Menzies JG, Bélanger RR. 1992b. Silicon-induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 41: 411-425
- Chérif M, Asselin A, Bélanger RR. 1994. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology*. 84: 236-242

Références

- Chiba Y, Mitani N, Yamaji N, Ma JF. 2009. HvL1si1 is a silicon influx transporter in barley. *Plant J* 57: 810-818
- Churchill AL. 2011. *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *Molecular plant Pathology* 12:307-328
- Conrath U. 2006. Systemic acquired resistance. *Plant Signal Behav* 4:179-184
- Cornelis J.-T, Delvaux B, Titeux H. 2010. The contrasting silicon uptakes by coniferous trees: a hydroponic experiment. *Plant and Soil* 336: 99-106.
- Cornelis JT, Delvaux B, Georg RB, Lucas Y, Ranger J, Opfergelt S. 2011. Tracing the origin of dissolved silicon transferred from various soil-plant systems towards rivers: a review. *Biogeosciences* 8:89–112
- Counet C, Collin S. 2003. Effect of the Number of Flavanol Units on the Antioxidant Activity of Procyanidin Fractions Isolated from Chocolate. *J. Agric. Food Chem.* 51: 6816-6822
- Craenen K, Ortiz R. 1998. Influence of black Sigatoka disease on the growth and yield of diploid and tetraploid hybrid plantains. *Crop Prot.* 17:13-18.
- Crous PW. 2002. Taxonomy and pathology of *Cylindrocladium* (*Calonectria*) and allied genera. St Paul Minnesota, APS Press: 6-41

Références

- Dadzie BK, Orchard JE. 1997. Routine Post-Harvest Screening of Banana/Plantain Hybrids: Criteria and Methods. INIBAP, Montpellier, France.
- Datnoff LE, Raid RN, Snyder GH, Jones DB. 1990. Evaluation of calcium silicate slag and nitrogen on brown spot, neck rot, and sheath blight development on rice, 1988. *Biol. Cult. Tests Control Plant Dis.* 5 :65
- Datnoff LE, Raid RN, Snyder GH, Jones DB. 1991. Effect of calcium silicate on blast and brown spot intensities and yields of rice. *Plant Disease* 75: 729-732
- Datnoff LE, Deren CW, Snyder GH. 1997. Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. *Crop Prot.* 16:525-531.
- Datnoff LE., Seebold KW, Correa-VFJ. 2001. The use of silicon for integrated disease management: reducing fungicide applications and enhancing host plant resistance. In Datnoff LE., Snyder GH and Korndörfer GH (eds.) *Silicon in Agriculture*. Elsevier Sciences, Amsterdam, the Netherlands, pp 171-184
- Datnoff LE, Rodrigues FA, Seebold KW. 2007. Silicon and Plant Disease. In : Datnoff L.E., Elmer W.H., Huber D.M., eds., *Mineral Nutrition and Plant disease*, St Paul, MN: APS Press. p. 233-246.
- Declerck S, Strullu DG, Plenchette C. 1998. Monoxenic culture of the intraradical forms of *Glomus* sp. isolated from a tropical ecosystem: a proposed methodology for germplasm collection. *Mycologia* 90:579-585.

Références

- Declerck S, Risède JM, Rufiyikiri G, Delvaux B. 2002. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on severity of root rot of bananas caused by *Cylindrocladium spathiphylli*. Plant Pathology 51: 109-115
- De Lapeyre de Bellaire L, Fouré E , Abadie C, Carlier J .2010. Black Leaf Streak Disease is challenging the banana industry. Fruits 65: 327-342
- Delvaux B. 1995. Soils. In. S. Gowen, eds., Bananas and Plantains, publ. Chapman and Hall, London. p. 230-257
- Delvaux B, Rufiyikiri G. 2003. Ion absorption by banana roots. In Proceedings of the international Symposium: "Banana Root System: Towards a better understanding for its productive management", San José, Costa Rica.
- De Melo SP, Monteiro FA, De Bona FD. 2010. Silicon distribution and accumulation in shoot tissue of the tropical forage grass *Brachiaria brizantha*. Plant Soil 336:241-249.
- Dietzel M. 2002. Interaction of polysilicic and monosilicic acid with mineral surfaces. In Stober I, Bucher K (eds) Water–Rock Interaction. Kluwer Academic Publishers, pp 207-235
- Diogo RVC, Wydra K. 2007. Silicon-induced basal resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* is related to modification of pectic cell wall polysaccharide structure. Physiological and Molecular Plant Pathology 70:120-129.
- Dixon RA, Achnine L, Kota P, Liu CJ, Reddy MSS, Wang L. 2002. The phenylpropanoid pathway and plant defence-a genomic perspective. Mol. Plant Pathol 3: 371-390.

Références

- Donzelli BGG, Churchill ACL. 2007. A quantitative assay using mycelial fragments to assess virulence of *Mycosphaerella fijiensis*. *Phytopathology* 97:916 - 923.
- Dove PM, De Yoreo, JJ. 2005. Mechanism of classical crystal growth theory explain quartz and silicate dissolution behaviour. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:15357–15362
- Dove PM, HanN, WallaceAF, De Yoreo JJ. 2008. Kinetics of amorphous silica dissolution and the paradox of the silica polymorphs. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:9903–9908.
- Drees LR, Wilding LP, Smeck NE, Senkayi AL. 1989. Silica in soils: quartz and disorders polymorphs. In Dixon JB, Weed SB (eds) *Minerals in soil environments*. Soil Science Society of America, Madison, pp 914–974.
- Durrant WE, Dong X. 2004. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42: 185-209.
- Dykes L, Rooney LW. 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidant. Review. *Journal of Cerals Sciences* 44: 236-251.
- El Hadrami. 2000. Caractérisation de la résistance partielle des bananiers à la maladie des raies noires et évaluation de la variabilité de l'agressivité de l'agent causal, *Mycosphaerella fijiensis*. Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. Thèse. 153 p
- El Hiweris SO. 1987. Nature of resistance to *Striga helmonthica* (Del.) Benth. Parasitism in some Sorghum vulgare (Pers.) cultivars. *Weed Research*. 27: 305-311.

Références

- Elawad SH, Gasho GJ and Street JJ. 1982. Response of sugarcane to silicate source and rate. I. Growth and yield. *Agron J.* 74:481–484.
- Epstein E. 1994. The anomaly of silicon in plant biology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91:11-17.
- Epstein E. 1999. Silicon. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50:641-664.
- Epstein E. 2001. Silicon in plants: Facts vs. concepts. In: Datnoff L.E., Snyder G.H., Korndörfer G.H., eds., *Silicon in agriculture*, Elsevier, Amsterdam. p. 1-15
- Epstein E. 2009. Silicon: its manifold roles in plants. *Ann. Appl. Biol.* 155:155-160.
- Exley C. 1998. Silicon in life: a bioinorganic solution to bioorganic essentiality. *Journal of Inorganic Biochemistry* 69: 139-144.
- Faure G. 1991. *Principles and application of inorganic geochemistry*. New York: MacMillan
- Fauteux F, Rémus-Borel W, Menzies JG, Bélanger RR. 2005. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. *FEMS Microbiology letters.* 249: 1-6
- Fauteux F. 2006. Analyse transcriptomique complète du rôle du silicium chez *Arabidopsis*. Mémoire. Université Laval. 65p
- Fauteux F, Chain F, Menzies JG, Bélanger RR. 2006. The protective role of silicon in the *Arabidopsis*-powdery mildew pathosystem. *Proc. Nalt. Acad. Sci. USA.* 103: 17554-17559.

Références

- Fawe A. 1997. Etude du mode d'action du silicium dans l'accroissement de résistance du concombre au blanc poudreux : intervention de composés à activité antifongique et identification. Thèse. Université Laval. Québec. 110p
- Fawe A, Abou-Zaid M, Menzies JG, Bélanger RR. 1998. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology* 88: 396-401.
- Fawe A, Menzies JG, Chérif M, Belanger RR. 2001. Silicon and disease resistance in dicotyledons. Pages 159-169. in: *Silicon in Agriculture*. L. E. Datnoff, G. H. Snyder, G. H. Korndörfer, eds. Elsevier, Amsterdam.
- Fogain R. 2000. Evaluation of *Musa* spp. For susceptibility to nematodes and study of resistance mechanisms. *Acta Horticulturae* 540:215-224.
- Fouré E, Grisoni M, Zurfluh R. 1984. Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Comportements des variétés. Etude de la sensibilité variétale des bananiers et plantains à *Mycosphaerella fijiensis* Morelet et de quelques caractéristiques biologiques de la maladie des raies noires au Gabon. *Fruits* 39: 365-378.
- Fouré E. 1988. Stratégies de lutte contre la cercosporiose noire des bananiers et des plantains provoquée par *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. L'avertissement biologique au Cameroun. Evaluation des possibilités d'amélioration. *Fruits* 43: 269-274.
- Fouré E, Mouliom Pefoura A. 1988. Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Efficacités comparées de différentes molécules

Références

- fongicides sur *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agent de la maladie des raies noires des bananiers et plantains au Cameroun. Fruits 43: 67-72.
- Fouré E. 1982. Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Comportement des variétés. Etude de la sensibilité variétale des bananiers et plantains à *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Gabon (maladie des raies noires). I – Incubation et évolution de la maladie. Fruits 37: 749-759.
- Fouré E, Mouliom PA, Mourichon X. 1990. Etude de la sensibilité variétale des bananiers et plantains à *Mycosphaerella fijiensis* Morelet au Cameroun. Caractérisation de la résistance au champ de bananiers appartenant à divers groupes génétiques. Fruits 45 : 339-345.
- Frayssé F, Pokrovsky OS, Schott J, Meunier, JD. 2009. Surface chemistry and reactivity of plant phytoliths in aqueous solutions. Chemical Geology 258:197-206.
- Frison E, Sharrock S. 1999. The economic, social and nutritional importance of banana in the world. In C. Picq, E. Fouré and E.A. Frison, eds. Bananas and Food Security/Les Productions Bananières: un enjeu économique majeur pour la sécurité alimentaire. Proceedings of an International Symposium held in Douala, Cameroon. INIBAP, Montpellier. pp 21-35.
- Fu G, Huang S, Ye Y, Wu Y, Cen Y, Lin S. 2010. Characterization of a bacterial biocontrol strain B106 and its efficacy in controlling

Références

- banana leaf spot and post-harvest anthracnose disease. *Biol. Control* 55:1-10.
- Fullerton RA. 1994. Sigatoka Leaf Diseases. in: Ploetz RC, Zentmyer GA, Nishijima WT, Rohrbach KG, Ohr HD. (eds.). *Compendium of Tropical Fruit Disease*. APS Press, p.12-13
- Ganry J. 1992. *Breeding Banana and Plantain for Resistance to Disease and Pests*, 393 p. CIRAD eds, Montpellier, France
- Ganry J. 2004. Diversité spécifique des peuplements végétaux à l'échelle du bassin versant et contrôle des parasites des cultures : l'exemple de la culture bananière aux Antilles Françaises. *C. R. Biologies*. 327: 621-627
- Ganry J, Fouré E, De lapeyre de Bellaire L; Lescot T. 2012. An integrated approach to control the Black leaf streak disease (BLSD) of bananas, while reducing fungicide use and environmental impact. In, D Dhanasekaran, N Thajuddin, A Panneerselvam *Fungicides for Plant and Animal Diseases*, pp 193-226.
- Gascho GJ. 2001. Silicon sources for agriculture. In Datnoff LE, Elmer WH, Huber DM (eds). *Silicon in Agriculture*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN Elsevier Science: pp 197-207
- Gauhl FC, Pasberg-Gauhl C, Vuylsteke D, Ortiz R. 1993. Multilocal evolution of black Sigatoka resistance in banana and plantain. In: IITA (Ed), *IITA Research Guide 47*: 60 p, IITA Ibadan, Nigeria

Références

- Georgé S, Brat P, Alter P, Amiot MJ. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1370–1373
- Ghareeb H, Bozso Z, Ott PG, Wydra K. 2011. Silicon and *Ralstonia solanacearum* modulated expression stability of housekeeping genes in tomato. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 75: 176-179
- Ghareeb H, Bozso Z, Ott PG, Repenning C, Stahl F, Wydra K. 2011. Transcriptome of silicon-induced resistance against *Ralstonia solanacearum* in the silicon non-accumulator tomato implicates priming effect. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 75:83-89.
- Guével MH, Menzies JG, Bélanger RR. 2007. Effect of root and foliar application of soluble silicon on powdery mildew control and growth of wheat plants. *Eur. J. Plant Pathol.* 119:429-436
- Gustafsson JP. 2011. Visual MINTEQ ver. 3.0. A free equilibrium speciation model.
<http://www2.lwr.kth.se/English/OurSoftware/vminteq/>
- Hammerschmidt R. 1999. Phytoalexins: what have we learned after 60 years? *Annu Rev Phytopathol* 37: 285-306
- Hammerschmidt R. 2005. Phenols and plant-pathogens interactions: The saga continues. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 66: 77-78
- Hammerschmidt R. 2011. More on silicon-induced resistance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 75:81.82.

Références

- Hashimoto A, Hirano K. 1976. Statistical analysis of the integrated control measures against rice blast. Bull.Fukushima pref.Agric.Exp.Stn 15: 95-108.
- Hayasaka T, Fujii H, Ishiguro K. 2008. The role of silicon in preventing appressorial penetration by the rice blast fungus. Phytopathology 98:1038-1044.
- Haysom MB, Chapman LS. 1975. Some aspects of the calcium silicate trials at Mackay. Proceedings of the Conference of the Queensland Society of Sugar Cane Technologists 42:117–122
- Heine G, Tikum G, Horst WJ. 2007. The effect of silicon on the infection by and spread of *Pythium aphanidermatum* in single roots of tomato and bitter melon. J Exp Bot 58:569-77
- Henriet C, Draye X, Oppitz I, Swennen R, Delvaux B. 2006. Effects, distribution and uptake of silicon in banana (*Musa* spp.) under optimal conditions. Plant Soil 287:359-374
- Henriet C, Draye X, Dorel M, Bodarwe L, Delvaux B. 2008a. Leaf silicon content in banana (*Musa* spp.) reveals the weathering stage of volcanic ash soils in Guadeloupe. Plant and Soil 313:71-82.
- Henriet C, De Jaeger N, Dorel M, Opfergelt S, Delvaux B. 2008b. The reserve of weatherable primary silicates impacts the accumulation of biogenic silicon in volcanic ash soils. Biogeochemistry 90:209-223.
- Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Prior RL. 2002. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled

Références

- with a microplate fluorescence reader in 96-well format. J. Agric. Food Chem.50:4437–4444
- Hodson MJ, Sangster AG. 2002. Silicon and abiotic stress. Pages 99-104 in: Second Silicon in Agriculture Conferences. T. Matoh, ed. Press-Net, Kyoto, Japan
- Holderness M, Bridge J, Golg C. 2000. Pest management in organic systems. Organic Banana 2000: Towards an Organic Banana Initiative in the Caribbean. IPGRI, INIBAP, CAB International and CTA: 133-136
- Hoss R, Helbig J, Bochow H. 2000. Function of host and fungal metabolites in resistance response of banana and plantain in the black sigatoka disease pathosystem (*Musa* spp. *Mycosphaerella fijiensis*). J. Phytopathol 148:387-394
- Huang CH, Roberts PD, Datnoff LE. 2010. Suppression of Fusarium Crown and Root Rot in Tomato by Silicon. Poster, APS annual meeting, Charlotte NC USA. Abstract p852
- Icenhower JP, Dove PM. 2000. The dissolution kinetics of amorphous silica into sodium chloride solutions: effect of temperature and ionic strength. Geochim Cosmochim Acta 64:4193–4203
- Iler RK. 1979. The Chemistry of Silica. Wiley-Interscience, New York.
- Ishiguro K. 2001. Review of research in Japan on the role of silicon in conferring resistance against rice blast. In: Silicon in Agriculture. L. E. Datnoff, G. H. Snyder, G. H. Korndörfer, eds. Elsevier, Amsterdam pp 277-291

Références

- Jacobsen BJ. 1997. Role of plant pathology in integrated pest management .Ann. Rev. Phytopathol. 35: 373-391
- Jacome L. H, Schuh W. 1992. Effect of leaf wetness duration and temperature on development of black Sigatoka disease on banana infected by *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. Phytopathology 82: 515-520.
- Jacome L. H, Schuh W. 1993. Effect of temperature on growth and conidial production in vitro, and comparison of infection and aggressiveness in vivo among isolates of *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. Trop. Agric. 70:51-59.
- Jimenez M, Van der Veken L, Neiryneck H, Rodriguez H, Ruiz O, Swennen R. 2007. Organic banana production in Ecuador: Its implications on black Sigatoka development and plant-soil nutritional status. Renewable agriculture and Food Systems 22: 297-306
- Jones LHP, Handreck KA. 1965. Studies of silica in the oat plant. III. Uptake of silica from soils by plant. Plant and Soil 23: 79-96
- Jones LHP, Handreck KA. 1967. Silica in soils, plants, and animals. Advancies in Agronomy 19:107-149
- Jones DR. 1999. Sigatoka. In D. R. Jones (eds) Diseases of banana, Abaca and Enset. CABI pp79-92.
- Jones DR. 2000. Diseases of banana, abaca and enset. Wallingford, UK: Cabi Publishing
- Jones DR, Rowe PR, Rosales FE, Hwang SC, Tang CY. 2000. Banana breeding for disease resistance. In: DR Jones, ed. Diseases of

Références

- Banana, Abaca and Enset. Wallingford, UK: CAB Publishing.
pp 425-464
- Kablan L, Delvaux B, Legrève A. 2008. Impact of silicon on the susceptibility of banana plants (*Musa acuminata*) to black Sigatoka disease. Paper presented at the 4th International conference of Silicon in Agriculture, Port Edward, South Africa. Abstract p28
- Kablan L, Lagauche A, Delvaux B, Legrève A. 2012. Silicon reduces black sigatoka development in banana. Plant Dis. 96:273-278
- Kanto T. 2002. Research of silicate for improvement of plant defense against pathogens in japan. In: Second Silicon in Agriculture Conferences. T. Matoh, ed. Press-Net, Kyoto, Japan pp 22-26
- Keeping MG, Reynolds OL. 2009. Silicon in agriculture: new insights, new significance and growing application. Annals of Applied Biology 155: 153-154.
- Kim SG, Kim KW, Park EW, Choi D. 2002. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible mechanism of enhanced host resistance to blast. Phytopathology 92:1095-1103.
- Kiraly L, Barna B, Kiraly Z. 2007. Plant resistance to pathogen infection: forms and mechanisms of innate and acquired resistance. J Phytopathol 155: 385-396
- Knight CTG, Kinrade SD. 2001. A primer on the aqueous chemistry of silicon. In Datnoff L E, Snyder GH, Korndorfer GH (eds) Silicon in agriculture. Elsevier, The Netherlands, pp 57–84.

Références

- Korndörfer GK, Datnoff LE, Correra GF. 1999. Influence of silicon on grain discoloration and upland rice grown on four savanna soils in Brazil. *Journal of Plant Nutrition* 22: 93-102
- Korndörfer GH, Lepsch I. 2001. Effect of silicon on plant growth and crop yield, in: *Silicon in agriculture*, Elsevier, The Netherlands, pp 133–147
- Kunoh H, Ishizak H. 1975. Silicon levels near penetration sites of fungi on wheat, barley, cucumber and morning glory leaves. *Physiol. Plant Pathol* 29:69-78
- Lagauche A. 2010. Réduction de l'incidence de la cercosporiose noire cause par *Mycosphaerella fijiensis* sur le bananier suite à un apport de silicium. Université catholique de Louvain. Mémoire, 98p
- Lahav E. 1995. Banana nutrition. In: *Banana and plantains*. S Gowen., eds. Chapman & Hall, London , pp258-316
- Langmuir D. 1997. *Aqueous Environmental Geochemistry*, Prentice Hall
- Lassois L, Busogoro JP, Jijakli H. 2009. La banane : de son origine à sa commercialisation. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 575-586
- Lassoudière A. 2007. *Le bananier et sa culture*. Versailles, France, Editions Quæ
- Lepoivre P, Busogoro JP, Etame JJ, El Hadrami A, Carlier J, Harelimana G, Mourichon X, Panis B, Riveros AS, Sallé G, Strosse H, Swennen R. 2003. Banana-*Mycosphaerella fijiensis* interactions. In: L Jacome, P Lepoivre, D Marin, R Romero JV

Références

- Escalant, eds. *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: present status and outlook. Proceedings of the 2nd international workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases held in San Jose, Costa Rica, 20-23 May 2002. pp 151-159
- Lescot T. 2006. La banane en chiffres : le fruit préféré de la planète. Fruitrop 140: 5.
- Lhomme, J.-P., and Jimenez, F. O. 1992. Estimating dew duration on banana and plantain leaves from standard meteorological observations. Agric. For. Meteorol. 62:263-274.
- Liang YC, Shen QR, Shen, ZG, Ma TS. 1996. Effects of silicon on salinity tolerance of two barley cultivars. J. Plant Nutr. 19: 173-183
- Liang YC. 1999. Effects of silicon on enzyme activity, and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. Plant Soil 209:217-224.
- Liang YC, Sun WC, Si J, Römheld V. 2005. Effects of foliar- and root-applied silicon on the enhancement of induced resistance powdery mildew in *Cucumis sativus*. Plant Pathol 54:678-685
- Liang Y, Sun W, Zhu Y.-G, Christie P. 2007. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants. Environ. Pollut. 147:422-428.
- Lindsay WL .1979. Chemical equilibria in soils. John Wiley and Sons Ltd
- Liu JJ, LIN SH, Xu PL, Wang XJ, Bai JG. 2009. Effects of exogenous silicon on the activities of antioxidant enzymes and lipid

Références

- peroxidation in chilling-stressed cucumber leaves. *Agricultural Sciences in China* 8: 1075-1086
- Loridat P. 1989. Etude de la microflore fongique et des nématodes associés aux nécroses de l'appareil souterrain du bananier en Martinique. Mise en évidence du pouvoir pathogène du genre *Cylindrocladium spathiphylli*. *Fruits* 44 : 587-598
- Lucas Y. 2007. Cycles du silicium, d'aluminium et du fer. in. G. Pédro, cycles biogéochimiques et écosystèmes continentaux, pp74-99
- Luis JG, Echeverri F, Quinones W, Brito I, Lopez M, Torres F, Cardona G, Aguilar Z., Pelaz C, Rojas M. 1993. Irenolone and emelonone: two types of phytoalexins from *Musa paradisiacal*. *Journal of organics chemistry* 58: 4306-4308
- Luis JG, Fletcher WQ, Echeverri F, Grillo TA. 1994. Phenalenone-type phytoalexins form *Musa acuminata*. Synthesis of 4-phenyl-phenalenones. *Tetrahedron* 50 :10963-10970
- Luis JG, Quinones W, Echeverri F, Kishi P, Garcia F. 1996. Musanolones: four 9-phenylphenalenones from rhizomes of *M. acuminata*. *Phytochemistry* 41: 753-757
- Ma JF, Nishimura K, Takahashi E. 1989. Effect of silicon on the growth of rice plant at different growth stages. *Soil Sci Plant Nutr* 35:347–356.
- Ma JF, Miyake Y, Takahashi E. 2001. Silicon as a beneficial element for crop plants. In Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH (eds) *Silicon in agriculture*. The Netherlands. Elsevier, pp 17-39.

Références

- Ma JF, Takahashi E. 2002. Soil, fertilizer, and plant silicon research in Japan. The Netherlands: Elsevier
- Ma JF. 2004. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses, *Soil Sci Plant Nutr* 50:11–18
- Ma JF, Mitani N, Nagao S, Konishi S, Tamai K, Iwashita T and Yano N. 2004. Characterization of the silicon uptake system and molecular mapping of the silicon transport gene in rice. *Plant Physiology* 136: 3284-3289
- Ma JF, Tamai K, Yamaji N, Mitani N, Konishi S, Katsuhara M, Ishiguro M, Murata Y, Yano M . 2006. A silicon transporter in rice. *Nature* 440:688-691.
- Ma JF, Yamaji N. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science* 11:392–397
- Ma JF, Yamaji N, Mitani N, Tamai K, Konishi S, Fujiwara T, Katsuhara M, Yano M .2007. An efflux transporter of silicon in rice. *Nature* 448:209-212.
- Ma JF and Yamaji N. 2008. Functions and transport of silicon in plants. *Cell. Mlo. Life Sci* 65: 3049-3057
- Marin DH, Romero RA, Guzman M, Sutton TB. 2003. Black sigatoka : an increasing threat to banana cultivation. *Plant Disease* 87: 208-222
- Martinati JC, Harakava R, Guzzo SD, Tsai SM. 2008. The potential use of a silicon source as a component of an ecological management of coffee plants. *J. Phytopathology*. 156: 458-463
- Masse G. 1914. *Fungi exotici: XVIII*. Kew bulletin 1914, 159

Références

- Mateille T. 1994. Comparative host tissue reactions of *Musa acuminata* (AAA group) cvs Poyo and Gros Michel roots to three banana-parasitic nematodes. *Annals of applied Biology* 124: 65-73.
- Mbiba C, De Langhe E, Vrydaghs L, Doutrelepont H, Swennen R, Van Neer W, De Maret P. 2006. Phytoliths evidence for the early presence of domestication banana (*Musa*) in Africa. In *Documenting domestication: New genetic and archaeological paradigms*: 68-81
- McKeague JA, Cline MG .1963a. Silica in soils. *Advances in Agronomy* 15:339-396
- Mendoza-Rodriguez M, Portal O, Ocana B, Acosta-Suarez M, Roque B, Höfte M, Jimenez E. 2010. Expression analysis of three phenylpropanoid-related genes during *Musa* spp.-*Mycosphaerella fijiensis* interaction and in response to ethephon. *Biotechnologia Vegetal* 10: 229-236
- Menzies JG, Ehret DL, Glass ADM, Helmer T, Koch C, Seywerd F. 1991. Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. *Phytopathology*. 81: 84-88
- Menzies JG, Ehret DL, Glass ADM, Samuels AL. 1991. The influence of silicon on cytological interactions between *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 39:403-414.

Références

- Menzies J, Bowen P, Ehret D. 1992. Foliar application of potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmelon and zucchini squash. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117: 902-905
- Meredith DS, Lawrence JS. 1969. Black leaf streak disease of bananas (*Mycosphaerella fijiensis*) : Symptoms of disease in Hawaï, and notes on the conidial state of the causal fungus. Transactions of the British Mycological Society 52: 459-476
- Meredith DS, Lawrence JS, Firman ID. 1973. Ascospore release and dispersal in black leaf streak of bananas (*Mycosphaerella fijiensis*). Transactions of the British Mycological Society 60:547-554.
- Meunier JD. 2003. Le rôle des plantes dans le transfert du silicium à la surface des continents. Comptes Rendus Geoscience 335:1199-1206
- Mindzie CM, Doutrelepont H, Vrydaghs L, Swennen RL, Swennen R.J, Beeckman H, De Langhe E, De Maret P. 2001. First archaeological evidence of banana cultivation in Central Africa during the third millenium before present. Vegetation History and Archaeobotany 10: 1-6.
- Mitani N, Yamaji N, Ma JF. 2009. Identification of maize silicon influx transporter. Plant Cell Physiol 50 : 5-12
- Mitani N, Yamaji N, Ma JF. 2011. Silicon efflux transporter isoled from two pumpkin cultivars contrsting in Si uptake. Plant Signal Behav. 6: 991-994

Références

- Miyaki Y, Takahashi E. 1983. Effect of silicon on the growth of solution-cultured cucumber plants. *Jpn J Soil Sci Plant Nutr* 29:71–83
- Mobambo PK, Gaulh F, Pasberg-Gauhl C, Swennen R, Straver C. 2010. Factors influencing the development of Black Streak Disease and the resulting yield loss in plantain in the humid forest of West and Central Africa. Invited Mini-Review. *Tree and Forestry Science and Biotechnology*: 47-51
- Molina-Tirado OI, Castano-Zapata J. 2003. Résistance des hybrides FHIA aux *Mycosphaerella* spp. *InfoMusa* 12:25-28.
- Morel P, Poncet L, Rivière LM (2000) Les supports de cultures horticoles. INRA (Eds)
- Morelet M. 1969. Micromycetes du Var et d'ailleurs (2me Note). *Ann. Sco. Sci. Nat. Archeol. Toulon Var*. 21: 104-106
- Mouliom-Pefoura A, Lassoudière A, Foko J, Fontem DA. 1996. Comparison of development of *Mycosphaerella fijiensis* and *Mycosphaerella musicola* on banana and plantain in the various ecological zones in Cameroun. *Plant Dis.* 80 : 950-954
- Mouliom-Pefoura A, Mourichon X. 1990. Développement de *Mycosphaerella musicola* (maladie de Sigatoka) et *M. fijiensis* Morelet (maladie des raies noires) sur les bananiers et plantains. Etude du cas particulier des productions d'altitude. *Fruits* 45: 17-24.

Références

- Mourichon X, Peter D, Zapater MF. 1987. Inoculation expérimentale de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet sur des jeunes plantules de bananiers issues de cultures in vitro. *Fruits*, 42: 195-198.
- Mourichon X, Zapater MF. 1990. Obtention in vitro du stade *Mycosphaerella fijiensis* forme parfaite de *Cercospora fijiensis*. *Fruits* 45 : 553-557
- Mourichon X, Fullerton RA. 1990. Geographical distribution of the two species *Mycosphaerella musicola* Leach (*Cercospora musae*) and *M. fijiensis* Morelet (*C. fijiensis*), respectively agents of Sigatoka disease and black leaf streak disease in bananas and plantains. *Fruits* 45:213-218
- Mourichon X ,Carlier J, Fouré E. 1997. Sigatoka leaf spot disease, Musa Disease fact Sheet n° 8 Inibap, Montpellier, France, p.4 .
- Mourichon X. 2003. Analyse du risque phytosanitaire. CIRAD : <http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/BAN-c2.pdf>
- Mulder JL, Stover RH. 1976. *Mycosphaerella* species causing banana leaf spot. *Transaction of British Mycological society* 67: 77-82
- Nanayakkara UN, Uddin W, Datnoff LE. 2008a. Application of silicon sources increases silicon accumulation in perennial ryegrass turf on two soils types. *Plant Soil* 303:83–94
- Nanayakkara UN, Uddin W, Datnoff L E. 2008b. Effects of soil type, source of silicon, and rate of silicon source on development of gray leaf spot of perennial ryegrass turf. *Plant Dis.* 92:870-877
- N'Dabalishye I. 1995. Agriculture Ouest-africaine à travers le cas de la Côte d'Ivoire. Institut des savanes (IDESSA) : 45-50

Références

- Okuda A, Takahashi E. 1961. Studies on the physiological role of silicon in crops plants. Effect of silicon on the growth of narley, tomato, radish, green onion, chinese cabbage and their nutrient uptake. J Sci Soil and Manure, Jpn 32:623-626
- Otalvaro F, Nanclares J, Vasquez LE, Quinones W, Echeverri F, Arango R, Schneider B. 2007. Phenalenone-type compounds from *Musa acuminata* var. "Yangambi km 5" (AAA) and their activity against *Mycosphaerella fijiensis*. Journal of Natural Products 70: 887-890
- Opfergelt S. 2008. Silicon cycle in the soil-plant system: biogeochemical tracing using Si isotopes. Thèse de doctorat. Université catholique de Louvain. 311p
- Ortiz R, Vuylsteke D. 1994. Inheritance of black sigatoka disease resistance in plantain banana (*Musa* spp.) hybrids. Theor. Appl. Genet. 89:146-152
- Parnell M, Burt PJA, Wilson K. 1998. The influence of exposure to ultraviolet radiation in stimulated sunlight on ascospores causing Black Sigatoka disease of banana and plantain. International Journal of Biometeorology 42: 22-27
- Pasberg-Gauhl C, Gauhl F, Jones DR. 2000. Black leaf streak: Distribution and economic importance. In Diseases of Banana, Abaca and Enset. D.R. Jones, ed CABI Publishing, New York pp 37-44
- Peerally A. 1991. The classification and phytopathology of *Cylindrocladium* species. Mycotaxon 5: 323-366

Références

- Pereira HS, Korndörfer GH, Vidal AA, de Camargo MS. 2004. Silicon sources for rice crop. *Sci. agric* 65. Online doi: 10.1590/S0103-90162004000500010
- Pérez Vicente L, Alvarez JM, Pérez M. 2003. Economic impact and management of black leaf streak disease in Cuba. In: L. Jacome P. Lepoivre D. Marin R. Romero, J.V. Escalant, eds. *Mycosphaerella* leaf spot diseases of bananas: present status and outlook. Proceedings of the 2nd international workshop on *Mycosphaerella* leaf spot diseases held in San Jose, Costa Rica, 20-23 May 2002. pp 71-84
- Piperno DR. 1988. *Phytolith Analysis: An Archaeological and Geological Perspective*. Academic Press: San Diego
- Ploetz RC, Thomas JE, Slabaugh WR. 2003. Diseases of banana and plantain. In: *Diseases of tropical fruit crops*. R. C. Ploetz, eds. CABI. pp 73-134
- Portal O., Izquierdo Y, De Vleeschauwer D, Sanchez-Rodriguez A, Mendoza-Rodriguez M, Acosta-Suarez M, Ocana B, Jimenez E, Höfte M. 2011. Analysis of expressed sequence tags derived from compatible *Mycosphaerella fijiensis*-banana interaction. *Plant Cell Rep* 30: 913-928
- Prakash NB, Narayanaswamy C, Hanumantharaju TH, Shashidhar HE, Patil SU, Thippeshappa GN, Datnoff L E (2010) Effect of calcium silicate as a silicon source on growth and yield of rice in different acid soils of Karnataka, southern India. *International rice research note* (0117-4185)

Références

- Prychid CJ, Rudall PJ, Gregory M. 2004. Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. *Botanical Review* 69: 377-440
- Quinones W, Escobar G, Echeverri F, Torres F, Rosero Y, Arango V, Cardona G, Gallego A. 2000. Synthesis and antifungal activity of *Musa* phytoalexins and structural analogs. *Molecules* 974-980
- Raid RN, Anderson DL, Ulloa MF. 1992. Influence of cultivar and amendment of soil with calcium silicate slag on foliar disease development and yield of sugar-cane. *Crop Protection* 11: 84-88
- Raven JA. 2001. Silicon transport at the cell and tissue level. In Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH (eds.) *Silicon in agriculture*. The Netherlands: Elsevier, pp 41-55.
- Rémus-Borel W, Menzies JG, Bélanger RR. 2005. Silicon induces antifungal compounds in powdery mildew-infected wheat. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 66: 108-115
- Reynolds OL, Keeping MG, Meyer JH. 2009. Silicon-augmented resistance of plants to herbivorous insects : a review. *Annals of Applied Biology* 155: 171-186
- Rezende, D. C., Rodrigues, F. A., Carré-Missio, V., Schurt, D. A., Kawamura, I. K., and Korndörfer, G. H. 2009. Effect of root and foliar applications of silicon on brown spot development in rice. *Australas. Plant Pathol.* 38:67-73.
- Rhodes PL. 1964. A new banana disease in Fiji. *Commonwealth Phytopathological News* 10: 38-41

Références

- Rice RW. 2007. The physiological role of minerals in the plant. In. Datnoff L.E., Elmer W.H., Huber D.M., eds., Mineral Nutrition and Plant disease, St Paul, MN: APS Press. p. 9-29
- Risède JM. 1994. Eléments de caractérisation du *Cylindrocladium* sp. agent de nécroses racinaires du bananier en Martinique. *Fruits* 49 : 167-178
- Risède JM. 2002. Analyse de la diversité des champignons du genre *Cylindrocladium* Morgan : Application à la caractérisation phénotypique, moléculaire et du pouvoir pathogène d'isolats de la rhizosphère du bananier. Thèse de doctorat, ENSAM, Montpellier, France
- Risède JM, Simoneau P. 2001. Typing *Cylindrocladium* species by analysis of ribosomal DNA spacers polymorphism: Application to fields isolates from the banana rhizosphere. *Mycologia* 93: 494-504
- Risède JM, Simoneau P. 2004. Pathogenic and genetic diversity of soilborne isolates of *Cylindrocladium* from banana cropping systems. *Eur. J. Plant Pathol.* 110: 139-154
- Risède JM. 2008. Isolation of *Cylindrocladium* spp. in root and soils from banana cropping systems. *Fruits* 63: 57-61.
- Risède JM, Rhino B. 2008. Long-term maintenance of *Cylindrocladium* strains and procedures for inoculum production. *Fruits* 63: 193-197.
- Robbins CW. 1995. The CaCO₃-CO₂-H₂O system in soils. *Journal of Agronomics Education* 14:3-7

Références

- Rodgers-Gray BS, Shaw MW. 2004. Effects of straw and silicon soil amendments on some foliar and stembase diseases in pot-grown winter wheat. *Plant Pathol.* 53: 733-740
- Rodrigues FA, Datnoff LE, Korndörfer GH, Seebold KW, Rush MC. 2001. Effect of silicon and host resistance on sheath blight development in rice. *Plant Dis* 85:827-832.
- Rodrigues FA, Benhamou N, Datnoff LE, Jones JB, Bélanger RR. 2003. Ultrastructure and cytochemical aspects of silicon-mediated rice blast resistance. *Phytopathology* 93:535-546
- Rodrigues FA, McNally DJ, Datnoff LE, Jones JB, Labbé C, Benhamou N, Menzies JG, Bélanger RR. 2004. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: a potential mechanism for blast resistance. *Phytopathology*. 94: 177-183
- Romero RA. 1995. Dynamics of fungicide resistant populations of *Mycosphaerella fijiensis* and epidemiology of Black Sigatoka of bananas. Ph. D. Diss. North Carolina State, Raleigh.
- Romero RA. 2000. Control. In: D.R. Jones, ed. *Diseases of Banana, Abaca and Enset*. Wallingford, UK: CAB Publishing. pp 72-79
- Rufyikiri G. 2000. Contraintes nutritionnelles chez le bananier (*Musa* spp.) cultivé en milieux riches en aluminium soluble et conséquences sur sa croissance. Université catholique de Louvain. Thèse. 158 p
- Rufyikiri G, Nootens D, Dufey JE., Delvaux B. 2001. Effect of aluminium on bananas (*Musa* spp.) cultivated in acid solutions. II. Water and nutrient uptake. *Fruits* 56,3-14

Références

- Samuels AL, Glass ADM, Ehret DL, Menzies JG. 1991. Mobility and deposition of silicon in cucumber plants. *Plant, Cell and Environment*. 14: 485-492
- Sandoval JA, Müller LE, Werberling F. 1994. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown in vitro and during hardening as compared to field-grown plants. *Fruits* 49: 37-46
- Savant NK, Korndorfer GH, Datnoff LE, Snyder GH. 1999. Silicon nutrition and sugarcane production. a review. *J. Plant Nutr* 22: 1853-1903
- Savant NK, Snyder GH, Datnoff LE. 1997. Silicon management and sustainable rice production. *Advances in agronomy* 58 : 151-199
- Savant NK, Korndorfer GH, Datnoff LE, Snyder GH (1997) Silicon nutrition and sugarcane production. a review. *J. Plant Nutr* 22:1853-1903
- Seebold KW, Datnoff LE, Correa-Victoria FJ, Snyder G. 1995. Effects of silicon and fungicides on leaf and neck blast development in rice. *Phytopathology* 85: 1168
- Seebold KW, Datnoff LE, Correa-Victoria FJ, Kucharek TA, Snyder GH. 2000. Effect of silicon rate and host resistance on blast, scald and yield of upland rice. *Plant Disease*. 84: 871-876
- Seebold KW, Datnoff LE, Correa-Victoria FJ, Kucharek TA, Snyder G. 2004. Effects of silicon and fungicides on the control of leaf and neck blast in upland rice. *Plant Dis*. 88: 253-258
- Schoutties CL, El-Gholl NE, Alfieri SA. 1982. *Cylindrocladium spathiphylli* sp. Nov. *Mycotaxon* 16 : 265-272

Références

- Schoulties CL, Chase AR, El-Gholl NE. 1983. Root and petiole rot of *Spathiphyllum* caused by *Cylindrocladium spathiphylli*. Plant Pathology Circular 218
- Simmonds NW, Shepherd K. 1955. Taxonomy and origins of cultivated bananas. J. Linn. Soc. Bot. 55: 302-312
- Simmonds N. 1962. The evolution of the bananas. New York, USA: John Willey & Sons Inc.
- Smith J. 2006. Banana bacterial wilt - refining the 'road map' for control. New Agriculturist.
- Online . <http://www.new-ag.info/en/pov/views.php?a=1080>
- Snyder GH. 2001. Methods for silicon analysis in plants, soils, and fertilizers. In Datnoff LE, Elmer WH, Huber DM (eds) Mineral Nutrition and Plant disease. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, pp 185–196
- Sommer M, Kaczorek D, Kuzyakov Y, Breuer J. 2006. Silicon pools and fluxes in soils and landscapes-a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 169:310–329.
- Stover RH. 1980. Sigatoka leaf spot disease of banana and plantain. Plant Disease 64:750-755
- Stover RH. 1989. Effet du cercospora noir sur les plantains en Amérique centrale. Fruits 38:326-329
- Stumm W, Morgan JJ. 1996. Aquatic chemistry-chemical equilibria and rates in natural waters. New York: Wiley.

Références

- Suman R. 1996. Sigatoka Negra: Doença da Bananeira. Ministério da Agricultura do Abastecimento e de Reforma Agrária – Alerta quarentenária nº 2, 12p
- Sun XH, Sun YJ, Zhang CS, Song ZH, Chen J, Bai JK, Cui YY, Zhang C. 1994. The mechanism of corn stalk rot control by application of potassic and siliceous fertilizers. *Acta Phytophylacia Sin.* 21: 102-108
- Sun W, Zhang J, Fan Q, Xue G, Li Z, Liang. Y. 2010. Silicon-enhanced resistance to rice blast is attributed to silicon-mediated defence resistance and its role as physical barrier. *Eur. J. Plant Pathol.* 128:39-49.
- Sutra L, Risède JM, Gardan L. 2000. Isolation of fluorescent pseudomonads from the rhizosphere of banana plants antagonistic toward root necrosing fungi. *Letters in Applied Microbiology* 31: 289-293
- Swain BN, Prasad JS. 1988. Influence of silica content in the roots of rice varieties on the resistance to root rot nematode. *Indian Journal of Nematology.* 18: 360-361
- Swennen R, Rosales F. 1994. Bananas. *Encycl. Agric. Sci.* 1:215-232.
- Swennen R, Vuylsteke D. 2001. Bananier. In Raekemaekers R.H., eds., *Agriculture en Afrique tropicale*, DGCI, Bruxelles, Belgique. p.611-637
- Takahashi E, Ma JF, Miyake Y. 1990. The possibility of silicon as an essential element for higher plants. *Comments Agricultural and Food Chemistry* 2:99-122

Références

- Thurson H D.1998. Moko disease of bananas. In: Tropical plant diseases. APS Press pp 113-118
- Tomlinson PB. 1969. Anatomy of the monocotyledons. III. Commelinales-Zingiberales. Clarendon Press, Oxford. pp. 303-315
- Twizeyimana M, Ojiambo PS, Ikotun T, Bandyopadhyay R. 2007. Rapid screening of Musa species for resistance to Black leaf streak using in vitro plantlets in tubes and detached leaves. Plant Dis. 91:308-314.
- Valette C, Andary C, Geiger JP, Sarah, JL, Nicole M. 1998. Histochemical and cytochemical investigations of phenols in roots of banana infected by the burrowing nematodes *Radopholus similis*. Phytopathology 88 : 1141-1148
- Vermeire M.-L, Kablan L, Dorel M, Delvaux B, Risède J.-M, Legrève A. 2011. Protective role of silicon in the banana-*Cylindrocladium spathiphylli* pathosystem. Eur. J. Plant Pathol. 131: 621-630
- Volk RJ, Kahn RP, Weintraub RL. 1958. Silicon content of the rice plants as a factor influencing its resistance to infection by the blast fungus, *Piricularia oryzae*. Phytopathology 48: 121-178
- Vrydaghs L, Swennen RR, Mbiba C, Doutrelepont H, De Langhe E, De Maet P. 2003. The banana phytolith as a direct marker of early agriculture : A review of the evidence. In Phytolith and starch Research in the Australian-Pacific-Asian Regions: the State of the Art. DM Hart, LA Wallis, pp 177-185. Terra

Références

- Australis 19. Pandanus Books. Australian National University, Canberra.
- Vrydaghs L, Ball T, Volkaert H, Van Den Houwe, Manwaring J, De Langhe E. 2009. Differentiating the volcaniform phytoliths of bananas: *Musa acuminata*. Etnobotany Research & Applications 7: 239-246
- Vuylsteke DR, Swennen RL, Ortiz R. 1993. Development and performance of black sigatoka-resistant tetraploid hybrids of plantain (*Musa* spp., AAB group). Euphytica 65 : 33-42
- Wagner F. 1940. Die Bedeutung der Kieselsäure für das Wachstum einiger Kulturpflanzen, ihren Nährstoffhaushalt und ihre Anfälligkeit gegen echte Mehltäupilze. Phytopathology. Z. 12: 427-479
- Watanabe S, Shimoi E, Ohkama N, Hayashi H, Yoneyama T, Yazaki J, Fujii F, Shinbo K, Yamamoto K, Sakata K, Sasaki T, Kishimoto N, Kikuchi S, Fujiwara T. 2004. Identification of several rice genes regulated by Si nutrition. Soil Sci Plant Nutr 50:1273-6
- Wiese J, Wiese H, Schwartz J, Schubert S. 2005. Osmotic stress and silicon act additively in enhanced pathogen resistance in barley against powdery mildew. J. Plant Nutr Soil Sci. 168: 269-274
- Wuyts N, De Waele D, Swennen R. 2006. Activity of phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase in roots of banana (*Musa acuminata* AAA, cvs Grande Naine and

Références

- Yagambi km5) before and after infection with *Radopholus similis*. *Nematology* 8: 201-209
- Yamaji N, Mitani N, Ma JF. 2008. A transporter regulating silicon distribution in rice shoots. *Plant Cell* 20:1381-1389
- Yang YF, Liang YC, Lou YS, Sun WC. 2003. Influences of silicon on peroxidase, superoxide dismutase activity and lignin content in leaves of wheat *Tritium aestivum* L. and its relation to resistance to powdery mildew. *Sci Agric Sin* 36:813-817
- Yoshida S, Ohnishi Y, Kitagishi K (1962) Histochemistry of silicon in rice plant. III. The presence of cuticle-silica double layer in the epidermal tissue. *Soil Sci Plant Nutr* 8:1–5
- Zellner W, Frantz J, Leisner S. 2011. Silicon delays Tobacco ringspot virus systemic symptoms in *Nicotiana tabacum*. *Journal of Plant Physiology* 168: 1866-1869

Liste de publications scientifiques

Articles publiés dans des revues internationales à comité de lecture

Vermeire ML, **Kablan L**, Dorel M, Delvaux B, Risède JM, Legrève, A. 2011. Protective role of silicon in the banana-*Cylindrocladium spathiphylli* pathosystem. European Journal of Plant Pathology 131:621–630

Kablan L, Lagauche A, Delvaux B, Legrève A. 2012. Silicon reduces black sigatoka development in banana. Plant Dis. 96:273-278.

Kablan L, Legrève A, Delvaux B, Dufey J E. Silicon availability for banana plants (*Musa acuminata*) in response to calcium silicate amendment. Plant Soil, submitted

Participation à des congrès internationaux

Kablan L, Delvaux, B, Legrève A. Impact of silicon on the susceptibility of banana plants (*Musa acuminata*) to black Sigatoka disease. Silicon in Agriculture Conference. Port Edward, South Africa Octobre 2008. Abstract, p28, poster

Kablan L, Vermeire ML, Risède JM, Dorel M, Delvaux B, Legrève A. 2010. Effects of silicon amendment on diseases caused by *Mycosphaerella fijiensis* and *Cylindrocladium spathiphylli* in banana. Phytopathology, Vol 100, N°6, S58, 2010 American Phytopathological Society Annual Meeting Charlotte, NC, USA. Août 2010, poster