

Recherches sur le Colletotrichum coccodes (Wallr.) Hughes

III. - Influence de la température sur les sclérotés

Par PIERRE DAVET (Fanar-Liban)

(avec la collaboration technique de N. ABOU HADIR) (*).



RÉSUMÉ

Le nombre de sclérotés produits en culture par le *Colletotrichum coccodes* varie avec la température d'incubation : pour tous les isoléments monospores étudiés, il se forme d'autant moins de sclérotés que la température est plus basse. La température agit également sur les dimensions et sur l'aspect des sclérotés, mais cet effet est différent selon qu'il s'agit d'isolements « à gros sclérotés » ou d'isolements « à petits sclérotés ». Dans le premier cas la taille des sclérotés diminue fortement quand la température s'élève. Dans le second cas les dimensions des sclérotés varient peu mais leur texture se relâche quand la température dépasse 24° C.

Les sclérotés d'une souche « à gros sclérotés », formés et maintenus pendant trois mois à 28° C, résistent moins bien à un enfouissement ultérieur dans le sol que les sclérotés formés et maintenus à 20° C. Mais les inoculations réalisées n'ont pas mis en évidence de différence nette dans leur pouvoir pathogène.

SUMMARY

The number of sclerotia produced in culture by *Colletotrichum coccodes* varies according to the temperature of incubation : in all experimentations with monoconidial isolates, the fewer sclerotia are formed when the temperature is the lower. The dimensions and aspect of sclerotia depend upon temperature too, but this effect is different whether « big sclerotia » isolates or « small sclerotia » isolates are

(*) Travail réalisé au Laboratoire de Phytopathologie de l'Institut de Recherche agronomique du Liban (Jdeïdeh el Metn-Fanar), dans le cadre de la Mission ORSTOM au Liban.

concerned. In the first case, sclerotia volume is notably reduced when the temperature increases. In the second case, the dimensions of sclerotia do not vary much but their texture is relaxed when the temperature arrives above 24° C.

The sclerotia of a « big sclerotia » isolate, first formed and incubated during three months at 28° C, then buried in soil, prove less resistant than sclerotia formed and maintained at 20° C. No clear difference in pathogenicity appeared in inoculation trials.

Parmi les différents facteurs du milieu susceptibles d'agir sur la formation, la quantité et les caractères des sclérotés chez les champignons, la composition chimique du substrat a fait l'objet du plus grand nombre d'études. Ainsi WHEELER et SHARAN (1965) ont étudié l'action du glucose, de la thiamine et des éléments minéraux essentiels sur le *Corticium rolfsii*, MISAWA et KATO (1960) celle de l'acide ribonucléique sur le *Sclerotium oryzae*, BRANDT (1965) celle du catéchol sur le *Verticillium albo-atrum*. En ce qui concerne le *Colletotrichum coccodes*, JAKUBCZYK (1962), puis CHESTERS et HORNBY (1965) ont montré que la formation des sclérotés était favorisée par des rapports C/N bas. L'augmentation de la concentration en glucides entrave la formation des sclérotés typiques et accroît la production de mycélium.

L'effet de la lumière a parfois été envisagé, notamment chez le *Verticillium albo-atrum* (BRANDT, 1964; CAROSELLI, 1964). Pour le *Colletotrichum coccodes*, BARNSDALE (1967) a établi que l'on obtenait davantage de sclérotés à l'obscurité qu'aux fortes intensités lumineuses.

Il ne semble pas que l'on ait attaché jusqu'ici beaucoup d'importance à l'action de la température. Aussi avons-nous étudié quelques-uns de ses effets sur les sclérotés du *Colletotrichum coccodes*.

Matériel et méthodes

Les comptages et les mensurations de sclérotés sont effectués sur des isollements monospores en boîte de Pétri sur milieu à la pomme de terre. Les boîtes, ensemencées au centre à l'emporte-pièce, sont maintenues à l'étuve pendant douze jours; au bout de ce délai les cultures occupent entre les deux tiers et la totalité de la surface du milieu. Il y a relativement peu de différence dans les vitesses de croissance entre les isollements. Les observations sont faites, après cette période d'incubation, dans une

couronne circulaire de 4 cm de diamètre extérieur et 2 cm de diamètre intérieur. La densité des sclérotés, c'est-à-dire le nombre de sclérotés formés dans un volume donné de la boîte de Pétri, est calculée en comptant le nombre des sclérotés observés par champ du microscope au faible grossissement (10 ×). L'épaisseur du milieu gélosé étant faible, la mesure revient pratiquement à un comptage sur une surface donnée. Les résultats indiqués sont les moyennes calculées à partir de 20 champs microscopiques.

Pour l'étude du pouvoir pathogène et de la conservation, nous avons utilisé la souche isolée sur racine de tomate que nous employons dans tous nos essais. Nous avons choisi comme support pour le champignon des racines de tomate autoclavées, ensemencées dans des tubes de Roux et maintenues à l'étuve à 20° C ou à 28° C pendant trois mois. Les tomates, de la variété Marmande, sont inoculées six semaines après le semis en attachant un fragment de 3 cm de « racine inoculum » le long de la racine principale, avec un ruban adhésif. Les plantes sont ensuite repiquées au laboratoire dans des pots contenant de la terre stérile. Elles sont arrachées six semaines plus tard, pour la notation des symptômes de la maladie. Les racines sont lavées puis découpées sous la loupe binoculaire de façon à séparer les portions saines des fragments malades. Les deux lots de tronçons de racines obtenus sont séchés à l'air jusqu'à ce que leur poids se stabilise, puis pesés. L'indice de maladie est le pourcentage de fragments bruns par rapport au poids total de racines. Douze plantes ont été utilisées pour chacun des traitements.

Pour les essais de conservation, des sachets de grillage de nylon, contenant des « racines inoculum », ont été enfouis dans un sol de jardin de la zone littorale, sablo-argileux, décalcifié, à une profondeur de 12 à 15 cm. Cette méthode a déjà été décrite en détail (DAVET, 1970 a).

Résultats

— Influence de la température sur la densité des sclérotés :

La quantité de sclérotés formés sur une surface donnée des boîtes de Pétri augmente lorsque la température d'incubation s'élève (tableau I). Un isolement fait exception (AJ 2), mais il ne fait pas partie de la population libanaise : il provient de

TABLEAU I : densité moyenne des sclérotés,
calculée après 12 jours d'incubation à l'étuve

TV 19, LC 23, KF 7 et DF 2 sont des isolements pigmentés à gros sclérotés, ADS 2 est un isolement non pigmenté à gros sclérotés, et KG 12, KF 8, AJ 2 et LC 17 sont des isolements pigmentés à petits sclérotés.

Le signe : xxx signifie qu'il ne se forme plus de sclérotés ou qu'ils sont trop peu distincts pour pouvoir être comptés.

Isolement	20° C	24° C	28° C	30° C
TV 19	2,4	5,2	23,5	29,6
LC 23	5,0	5,9	11,2	24,4
KF 7	4,7	8,5	12,0	
DF 2	2,8	6,6	9,6	25,0
ADS 2	4,2	8,9	10,0	10,9
KG 12	12,9	19,2	24,6	xxx
KF 8	12,5	22,5	xxx	xxx
AJ 2	20,5	20,4	xxx	xxx
LC 17	14,0	26,1	33,4	xxx

Tunisie. Le phénomène est très net pour tous les isolements d'origine libanaise que nous avons testés, la variation entre les mesures aux températures extrêmes allant du double au décuple. Chez les isolements « à gros sclérotés » (DAVET, 1970 b), pigmentés ou non, les sclérotés restent réguliers et bien formés à toutes les températures d'incubation. Par contre, chez les souches « à petits sclérotés » on observe un relâchement de la texture lorsque la température s'élève. A 30° C, et dans certains cas dès 28°, le champignon ne forme plus de sclérotés, mais de simples ébauches constituées par quelques éléments cellulaires à paroi épaisse s'amorcent; souvent ces ébauches, très nombreuses, s'étirent le long des cordons organisateurs décrits par BLAKEMAN et HORNBY (1966) et deviennent plus ou moins coalescentes. Le comptage devient alors impossible.

— *Influence de la température sur les dimensions des sclérotés :*

Les variations de la température d'incubation des cultures aboutissent à deux résultats différents selon qu'il s'agit d'isolements « à gros sclérotés » ou d'isolements « à petits sclérotés » (tableau II). Chez les premiers, la taille des sclérotés diminue de façon très nette lorsque la température s'élève. Ainsi, chez

l'isolement TV 19, les dimensions moyennes du grand axe et du petit axe des sclérotés, assimilés à un ellipsoïde, sont respectivement 285 μm et 246 μm à 20° C, de sorte que, si cette lignée était conservée et observée à une température supérieure ou égale à 28° C, elle pourrait être classée dans la catégorie « à petits sclérotés ». Ces modifications sont si nettes qu'elles sont aisément appréciables à l'œil nu. La vitesse de développement n'est pas en cause; dans la majorité des cas, l'optimum est voisin de 24° C et les vitesses de croissance à 20° C et à 28° C sont comparables (4 à 5 mm par jour).

TABLEAU II : dimensions moyennes des sclérotés, mesurées après 12 jours d'incubation

Voir le tableau I pour la classification des souches.

L = longueur du grand axe; l = longueur du petit axe.

Le signe : xxx signifie que la mesure était impossible.

Isolement		20°	24°	28°	30°
TV 19	L	285	269	137	98
	l	246	233	105	83
LC 23	L	299	272	237	165
	l	250	222	189	129
KF 7	L	218	203	138	
	l	174	153	95	
DF 2	L	250	201	134	112
	l	204	163	90	64
ADS 2	L	287	261	214	190
	l	254	229	170	167
KG 12	L	87	92	95	
	l	47	68	73	xxx
KF 8	L	90	89		
	l	62	59	xxx	xxx
AJ 2	L	131	134		
	l	83	83	xxx	xxx
LC 17	L	84	67	69	
	l	54	46	55	xxx

Dans le cas des isollements « à petits sclérotés », les dimensions varient peu avec la température d'incubation. Mais, comme nous l'avons vu dans le paragraphe précédent, l'aspect et la texture de ces organes se modifient : à 20° C ils sont compacts et bien individualisés, tandis qu'à 30° C ils sont mal formés et peu distincts les uns des autres, et il paraît difficile à ce stade de les qualifier encore de sclérotés.

— *Influence de la température sur la conservation des sclérotés :*

La souche utilisée dans cet essai étant du type « normal à gros sclérotés », nous avons d'abord vérifié qu'à différentes températures d'incubation correspondaient des dimensions différentes des sclérotés, même sur un milieu aussi complexe que des racines de tomate autoclavées. Nous avons donc prélevé au début de l'essai quelques fragments de racines, qui ont été immergés pendant trois jours dans du lactophénol, puis dilacérés et observés au microscope. Les sclérotés formés à 20° C mesurent $198 \pm 8,9 \times 149 \pm 5,9 \mu\text{m}$ tandis que ceux formés à 28° mesurent $143 \pm 3,6 \times 126 \pm 3,6 \mu\text{m}$. La différence est moins marquée que dans les boîtes de Pétri mais elle est cependant appréciable.

On peut constater sur la figure 1 que le nombre de cultures du *Colletotrichum coccodes* obtenues à partir des racines incubées à 28° C décroît d'une façon régulière à partir du commencement de l'expérience. Au contraire, jusqu'au quatrième mois au moins, on peut réisoler le champignon dans tous les fragments de racines conditionnés à 20° C. Il est encore actif dans 87 % des fragments après sept mois d'enfouissement, alors qu'on ne l'obtient plus que dans 61 % des racines incubées à 28° C.

— *Influence de la température sur le pouvoir pathogène :*

L'indice moyen de maladie dans le cas de l'inoculum conditionné à 20° C est 21,8 % ; dans le cas de l'inoculum conservé à 28° C, l'indice est 15,9 %. Il semble donc y avoir une légère différence entre les deux traitements, mais l'analyse statistique montre qu'elle n'est pas significative.

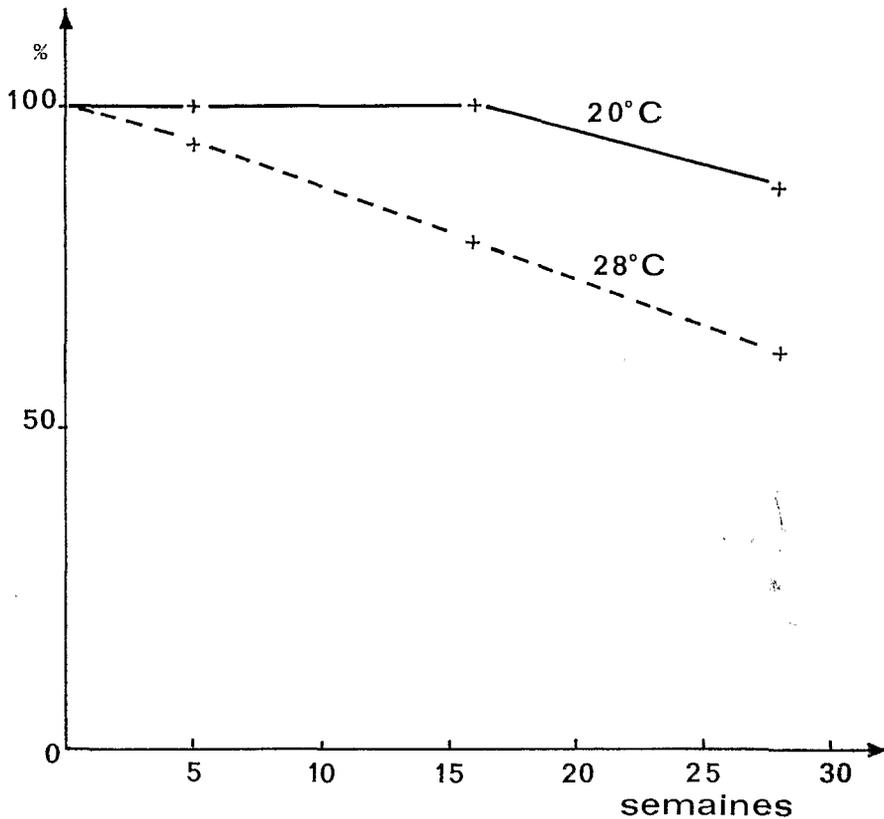


Fig. 1. — Conservation des sclérotés du *Colletotrichum coccodes* sur des racines enfouies en pleine terre, selon la température d'incubation préalable.

En traits pleins : racines infectées et maintenues pendant 3 mois à 20° C.

En tiretés : racines infectées et maintenues pendant 3 mois à 28° C.

Discussion

Ainsi, les effets de la température sur le *Colletotrichum coccodes* sont particulièrement nets, dans des limites où la vitesse de croissance est peu affectée. D'une façon générale, lorsque la température augmente, le nombre de sclérotés formés augmente alors que leur taille diminue. HENIS, CHET et AVIZOHAR-HERSHENSON (1965) ont trouvé une relation analogue entre le volume et la quantité des sclérotés formés par le *Corticium rolfsii* dans des expériences où la variable n'était pas la température, mais pour laquelle on avait choisi la concentration en éléments nutritifs.

Si l'on multiplie la densité des sclérotés (données du tableau I) par leur volume moyen à la température correspondante (données du tableau II), on obtient un nombre qui varie très peu pour un isolement donné, surtout dans le groupe « à gros sclérotés » (tableau III). Cela signifie que le volume total d'organes de conservation formés dans une aire donnée demeure presque constant; c'est sa répartition qui varie avec la température. La survie du champignon paraît cependant mieux assurée par les gros sclérotés (formés à 20°) que par les petits (formés à 28° C). L'augmentation du nombre de propagules ne compense donc pas complètement une moins grande persistance, liée sans doute à

TABLEAU III : valeur moyenne de la masse totale de sclérotés formés dans un champ du microscope

En fait, les nombres portés dans le tableau sont proportionnels à cette valeur.

Pour avoir la masse réelle, il faudrait les multiplier par le facteur constant $4/3 \pi$.

Isolement	20°	24°	28°	30°
TV 19	41 392 944	75 939 453	35 494 987	19 983 611
LC 23	93 437 500	79 090 963	94 817 822	66 996 666
KF 7	31 020 790	40 392 229	14 945 400	
DF 2	29 131 200	35 246 435	10 419 840	11 468 800
ADS 2	77 767 586	121 815 198	61 846 000	57 758 119
KG 12	2 479 161	8 167 833	12 453 873	xxx
KF 8	4 324 500	6 970 702	xxx	xxx
AJ 2	18 500 409	18 831 770	xxx	xxx
LC 17	3 429 216	3 700 249	6 971 415	xxx

la diminution du volume. Au Liban, la température moyenne pendant les mois d'été dépasse 26° C dans les régions côtières. Il est donc vraisemblable que les racines parasitées dans ces conditions restent moins longtemps infectieuses que celles qui sont attaquées pendant les mois plus frais du printemps.

Notre étude nous a permis de mettre en évidence une différence nette dans les réactions des deux types morphologiques à la température : les isolements à « gros sclérotés » sont très sensibles aux modifications de la température, alors que les souches « à petits sclérotés » y sont très peu sensibles. Il est vraisemblable que la température agit indirectement, en favorisant ou en réprimant certaines réactions du métabolisme, et que ces réactions ne sont pas semblables dans les deux groupes.

Sur le plan de la systématique, nous avons vu combien il est important de préciser la température à laquelle les mensurations sont faites avant de classer les isolements dans les catégories « gros sclérotés » ou « petits sclérotés ». LOPRIENO (1962) et FORLOT (1967) utilisent la présence ou l'absence de zonations dans les cultures comme critères pour la classification de leurs souches. Or ces zonations peuvent très bien être dues à de légères modifications de la température au laboratoire, par exemple entre la nuit et le jour. Une variation de 2° C est parfois suffisante pour entraîner un changement dans l'aspect des cultures, appréciable à l'œil nu. Ce critère ne peut donc être retenu que si les observations ont été faites à une température rigoureusement constante, ce qui n'est pas précisé dans leurs travaux.

Notons que nos constatations sont en contradiction avec les résultats obtenus par JAKUBCZYK (1962), qui trouve que les variations de la température ne modifient pas l'aspect des cultures.

BIBLIOGRAPHIE

- BARKSDALE T. H. - 1967. — Light-induced *in vitro* sporulation of *Colletotrichum coccodes* causing tomato anthracnose. *Phytopathology*, 57, 1173-1175.
- BLAKEMAN J. P., HORNBY D. - 1966. — The persistence of *Colletotrichum coccodes* and *Mycosphaerella ligulicola* in soil, with special reference to sclerotia and conidia. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 49, 227-240.

- BRANDT W. H. - 1964. — Morphogenesis in *Verticillium*: effects of light and ultra-violet radiations on microsclerotia and melanin. *Canad. J. Bot.*, 42, 1017-1023.
- BRANDT W. H. - 1965. — Morphogenesis in *Verticillium*: reversal of near-U. V. effect by catechol. *Bioscience*, 15, 669-670.
- CAROSELLI N. E., MAHADEVAN A., MOZUMDER B. G. - 1964. — The effect of light quality on the growth and microsclerotial production of *Verticillium albo-atrum*. *Plant Dis. Repr.*, 48, 484-486.
- CHESTERS C. G. C., HORNBY D. - 1965. — Studies on *Colletotrichum coccodes*. I. The taxonomic significance of variation in isolates from tomato roots. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 48, 573-581.
- DAVET P. - 1970 a. — Recherches sur le *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes. La phase non parasitaire. *Cah. ORSTOM, série Biologie*, XII, 83-96.
- DAVET P. - 1970 b. — Le *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes au Liban. *Phytopath. Medit.*, IX, 29-34.
- FORLOT P. - 1967. — Recherches sur les interactions de *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes et de ses hôtes principaux: *Solanum tuberosum* L. et *Lycopersicum esculentum* L. *Phytopath. Z.*, 59, 249-266.
- HENIS Y., CHET I., AVIZOHAR-HERSHENZON Z. - 1965. — Nutritional and mechanical factors involved in mycelial growth and production of sclerotia by *Sclerotium rolfsii* in artificial medium and amended soil. *Phytopathology*, 55, 87-91.
- JAKUBCZYK H. - 1962. — Z badan nad pasozytnictwem *Colletotrichum atramentarium* wystepujacego na pomidorach. I. Badania nad nicktorymi wlasciwosciami biologicznymi *Colletotrichum atramentarium*. *Acta agrobotanica*, XII, 207-230.
- LOPRIENO N. - 1962. — Ricerche sull' « antracnosi » del pomodoro. II. Variabilita patogenica e caratteri colturali di 25 isolamenti mononidici di *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes. *Phytopath. Z.*, 44, 263-268.
- MISAWA T., KATO S. - 1960. — On the influence of RNA upon sclerotium formation by the stem rot fungus of Rice. *Ann. phytopath. Soc. Japan.*, 25, 75-79.
- WHEELER B. E. J., SHARAN N. - 1965. — The production of sclerotia by *Sclerotium rolfsii*. I. Effects of varying the supply of nutrients in an agar medium. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 48, 291-301.
-

REVUE DE MYCOLOGIE

dirigée et publiée

Par Roger HEIM

Membre de l'Institut

TOME XXXV, Fasc. 5

31 Mars 1971

Recherches sur le Colletotrichum coccodes (Wallr.) Hughes

III. - Influence de la température sur les sclérotes

Par PIERRE DAVET (Fanar-Liban)

(avec la collaboration technique de N. ABOU HADIR)

■ O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 5248 Phyl.

25 FEV. 1972

LABORATOIRE DE CRYPTO GAMIE
DU MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12, rue de Buffon, Paris (V°)