

MYCOLOGIE. — Contribution à l'étude du cycle chez les *Phytophthora*. Analyse du mode de transmission d'un caractère génétique quantitatif chez une espèce homothallique, le *Phytophthora syringae* Kleb. Note (*) de M. Bernard Boccas, présentée par M. Roger Heim.

La transmission d'un caractère génétique quantitatif : la vitesse de croissance du thalle, est étudiée chez le *Phytophthora syringae*. Les descendances issues de la germination des zoospores de lignées homocaryotiques sont homogènes ; les descendances issues de la germination des oospores sont hétérogènes. L'analyse de ces différences montre que le cycle du Champignon est vraisemblablement diploïde.

Certains travaux [(3), (6), (7)] montrent que le cycle caryologique des espèces du genre *Phytophthora* est vraisemblablement diploïde avec une haplophase se déroulant entièrement dans les gamétocystes. Mais, cette conception nouvelle reste controversée, car les arguments sur lesquels elle se fonde sont essentiellement d'ordre cytologique. Plusieurs auteurs en ont donc recherché la confirmation génétique chez des espèces hétérothalliques [(2), (5), (8) à (10)]. Leurs conclusions ne concordent pas, et les résultats exposés sont souvent hypothéqués par le faible taux de germination des oospores, l'incertitude sur la nature génétique des marqueurs utilisés, et l'interférence, au sein des croisements, entre les phénomènes d'autofécondation et d'hybridation.

Afin d'éviter ces difficultés, nous avons choisi d'étudier le mode de transmission d'un caractère quantitatif : la vitesse de croissance du thalle, chez un isolat du *Phytophthora syringae*, espèce homothallique qui forme en culture pure un grand nombre d'oospores qui germent suivant un taux élevé.

Notre intention ici est d'analyser les variations de ce caractère dans les descendances issues de la reproduction asexuelle et celles qui proviennent de la reproduction sexuelle. Cette étude comparative s'étend sur trois générations successives.

Pour obtenir les descendances nous cultivons nos souches en boîtes de Pétri sur une décoction de pois (70 g/l) gélosée. Les boîtes de Pétri sont maintenues une semaine à l'obscurité et à la température de 26 °C avant d'être exposées pendant dix jours à la lumière de tubes fluorescents. Au terme de cette période les cultures ont produit en abondance sporocystes et oospores.

L'immersion des cultures sous un film d'eau stérile et un séjour de 30 mn à 20 °C provoque la libération par les sporocystes de zoospores qui, transférées sur un milieu neuf, germent à près de 100 % et fournissent ainsi des séries de clones monozoospores qui constituent les descendances d'origine asexuelle.

Les descendances d'origine sexuelle proviennent de la germination des oospores. Cette germination ne se produit jamais *in situ* mais seulement après la séparation, par broyage et filtration, des zygotes du mycélium qui les a formés et leur transfert sur un substrat nutritif neuf. Dans ces conditions 70 % des oospores germent et de chacune d'elles naît alors une lignée fille.

Immédiatement après leur germination, zoospores et oospores sont prélevées avec un fragment de milieu et déposées individuellement au centre de boîtes de Pétri sur un bouillon de pomme de terre glucosé et gélosé. Les cultures sont incubées à

-7 NOV. 1972

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n°

5749

26 °C et à l'obscurité. Leur vitesse de croissance est évaluée par mesure du diamètre du thalle développé en cinq jours.

La distribution des mesures obtenues dans les différentes descendance est représentée par les histogrammes de la figure qui indique en outre l'origine de chaque descendance.

Ainsi, les deux groupes de souches filles de première génération sont issues de la souche sauvage (histogrammes 1 et 2). Les descendants de la seconde génération ont pour souche mère un clone monozoospore de la première génération (histogrammes 3 et 4). Enfin, les quatre séries de la troisième génération (histogrammes 5, 6, 7 et 8) proviennent de deux lignées mono-oospores de la génération précédente ; les séries 5 et 6 sont issues d'une lignée à croissance lente, et les séries 7 et 8 d'une lignée à croissance rapide. Toutes les distributions qui portent un numéro impair proviennent de la reproduction asexuelle (zoospores), celles qui portent un numéro pair ont pour origine la reproduction sexuelle (oospores).

TABLEAU
Effectifs, variances et valeurs de F pour les couples de descendance
qui diffèrent significativement (signification à 2 ‰)

SÉRIES	EFFECTIFS	VARIANCES	COMPARAISON DES VARIANCES VALEURS DU RAPPORT F
1	50	103,5	} $s_4^2/s_3^2 = 36,3$
2	78	111,8	
3	57	3,2	} $s_6^2/s_5^2 = 23,7$
4	87	116,3	
5	79	3,5	} $s_8^2/s_7^2 = 25,1$
6	29	83,2	
7	66	4,3	
8	92	106,1	

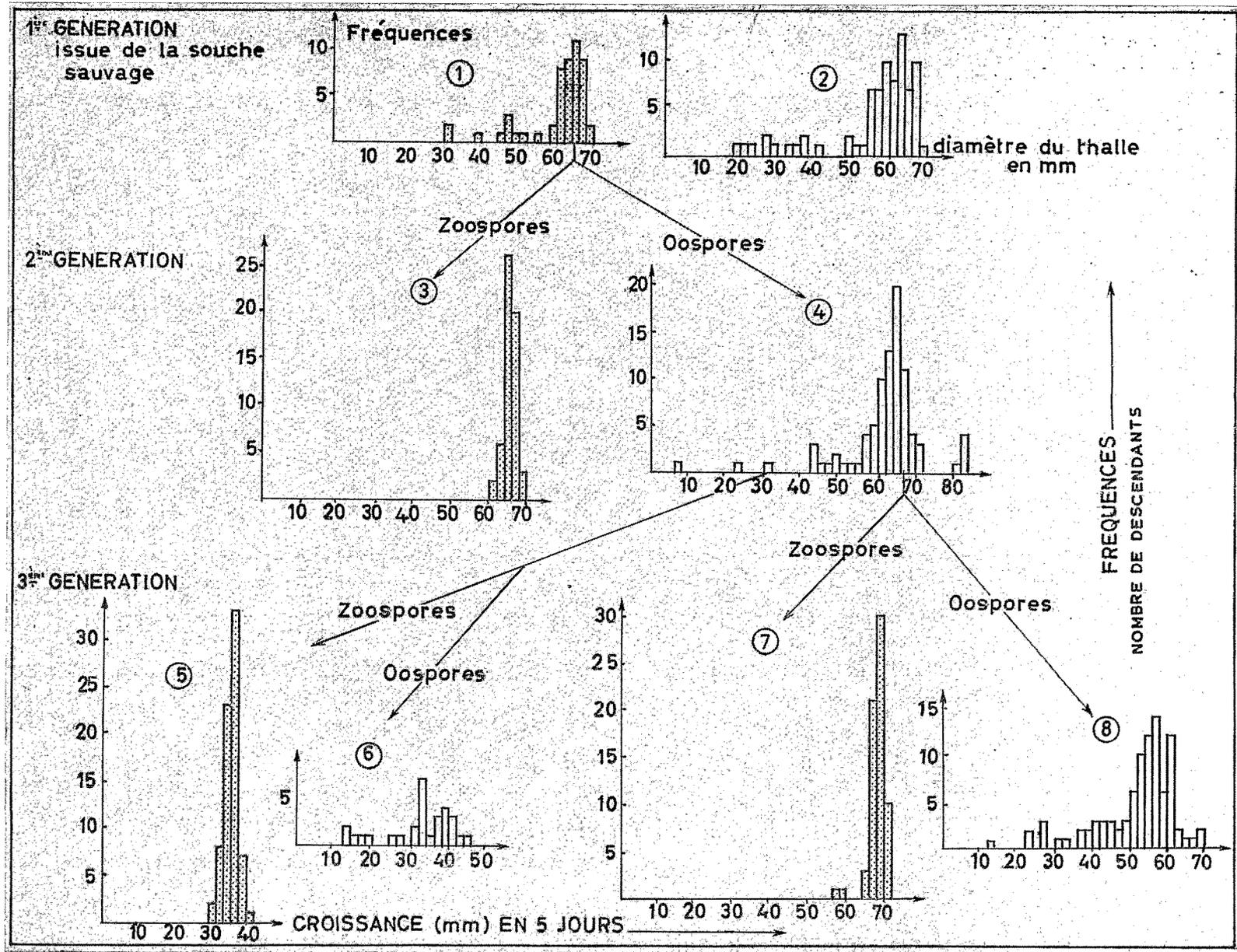
$s_1^2/s_3^2 = 32,2$
 $s_1^2/s_5^2 = 29,4$
 $s_1^2/s_7^2 = 24$

Chacune de ces séries de descendants était initialement constituée d'une population de 100 spores germantes, mais dans tous les cas, un certain nombre d'entre elles avorte après la germination sans développer de thalle. L'effectif des survivants figure dans le tableau.

La vitesse de croissance est un caractère quantitatif, vraisemblablement régulé par de nombreux gènes et peut de ce fait être considérée comme une variable continue. La variabilité de ce caractère dans les différentes descendance est matérialisée par la dispersion des valeurs autour de la moyenne de chaque distribution. La

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Distribution des diamètres atteints en cinq jours par les descendants issus de la germination des zoospores (histogrammes 1, 3, 5, 7) et par ceux qui proviennent de la germination des oospores (histogrammes 2, 4, 6, 8).



variance de chacune de ces distributions, qui rend compte de cette dispersion, a été calculée. Les valeurs ainsi obtenues sont indiquées dans le tableau.

La comparaison des variances des descendance d'origine asexuelle montre que la distribution de la série 1 diffère de façon hautement significative de chacune des distributions 3, 5 et 7. Les valeurs du rapport F des différents couples de variance figurent dans le tableau ; les différences sont significatives à 2 ‰. Ce test ne permet pas, en revanche, de différencier entre elles les séries 3, 5 et 7 : toutes trois présentent le même type de répartition caractérisé par des mesures étroitement groupées autour de leurs moyennes respectives.

En d'autres termes, il apparaît que le clonage de la souche sauvage a produit en première génération une descendance hétérogène (série 1) composée de souches qui diffèrent par leur vitesse de croissance, alors que les descendance 3, 5 et 7, issues de lignées clonales mono-zoospores ou mono-oospores, sont homogènes. Cela tend à indiquer que la souche sauvage possédait différents types de noyaux, associés en hétérocaryose ou répartis en une mosaïque de filaments diversement nucléés, et que les clones dont proviennent les séries 3, 5 et 7 étaient au contraire *homocaryotiques*. Ces résultats montrent aussi que les descendance mono-zoospores de la souche utilisée ici ne semblent pas soumises à cette variabilité phénotypique d'origine cytoplasmique décrite chez d'autres *Phytophthora* [(¹), (⁴)].

La même méthode de comparaison permet de constater que les souches mères homocaryotiques des séries de seconde et troisième générations dont les descendance d'origine asexuelle sont homogènes, produisent en revanche, par la voie sexuelle, des descendance hétérogènes. Les valeurs de F pour les couples 3-4, 5-6 et 7-8 sont indiquées dans le tableau. La différence entre les deux distributions de chaque couple est hautement significative (signification à 2 ‰).

Enfin, nous noterons que toutes les séries de descendants qui proviennent de la germination des oospores présentent une variance élevée qui traduit une importante dispersion des valeurs autour de la moyenne de chaque distribution. Chacun de ces groupes comprend donc des souches dont la vitesse de croissance diffère considérablement de celle des souches parentales. Or, l'histogramme 5 et d'autres contrôles effectués sur divers descendants démontrent que ces caractères modifiés se transmettent sans variation à travers les mitoses et la fragmentation cytoplasmique qu'impose la reproduction asexuelle, ce qui permet d'écarter l'hypothèse de modifications temporaires d'origine cytoplasmique. De même, pouvons-nous rejeter l'hypothèse de mutations affectant certains noyaux du thalle, car ces noyaux mutants se manifesteraient également dans les descendance asexuelles ; ce qui n'est pas. Tout semble donc indiquer que ces différences phénotypiques reflètent des modifications génotypiques consécutives à des recombinaisons génétiques au cours de la méiose. De plus, la diversité des phénotypes observés tend à montrer que ces recombinaisons affectent probablement plusieurs gènes impliqués dans la régulation de la croissance.

Suivant cette interprétation, l'origine des recombinants de la série 2 issue de l'autofécondation de la souche sauvage composée de différents types nucléaires s'explique aisément, mais il n'est pas possible, si le cycle du champignon est *haploïde*, de rendre compte de la formation des lignées filles aux caractères modifiés dans les

séries 4, 6 et 8. Ces descendances proviennent en effet de lignées clonales *homocaryotiques*, et l'autofécondation chez un organisme *haploïde* et *homocaryotique* ne peut produire que des descendants identiques à la souche parentale.

En revanche, les recombinaisons exprimées par une partie des descendants des séries 4, 6 et 8 se conçoivent, si les souches mères *homocaryotiques* de ces descendances sont également *diploïdes*, et si certains des gènes qui participent à la régulation de la croissance sont à l'état hétérozygote. Dans ces conditions, en effet, au cours de la reproduction sexuelle, les deux allèles de chaque couple ségrègent la méiose, et la caryogamie peut amener la formation de combinaisons alléliques nouvelles expliquant ainsi l'apparition des lignées filles dont la vitesse de croissance est modifiée.

Il semble que dans le cas présent ces conditions se soient trouvées réunies.

Nos résultats conduisent donc à écarter l'hypothèse de l'haploïdie et permettent de conclure que le cycle biologique du *Phytophthora syringae* est essentiellement diploïde. Cette conclusion rejoint celle de Shaw et Khaki chez le *Phytophthora dreschleri* ⁽⁹⁾ et confirme les travaux cytologiques antérieurs [(³), (⁶), (⁷)].

(*) Séance du 10 juillet 1972.

(1) C. E. CATEN et J. L. JINKS, *Can. J. Bot.*, 46, 1968, p. 329.

(2) J. GALINGO et G. A. ZENTMYER, *Nature*, 214, 5095, 1967, p. 1300.

(3) B. HUGUENIN et B. BOCCAS, *Comptes rendus*, 271, Série D, 1970, p. 660

(4) KOFFI DONGO, *Thèse de 3^e Cycle*, Fac. Sc. Orsay, 1971.

(5) S. ROMERO et D. C. ERWIN, *Phytopathology*, 59, 1968, p. 1310.

(6) E. SANSOME, *Nature*, 191, 1961, p. 827.

(7) E. SANSOME, *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 46, 1963, p. 63.

(8) M. M. SATOUR et E. E. BUTLER, *Phytopathology*, 58, 1968, p. 183.

(9) D. S. SHAW et I. A. KHAKI, *Genet. Res. Camb.*, 17, 1971, p. 165.

(10) L. W. TIMMER, J. CASTRO, D. C. ERWIN, B. N. BELSER et G. A. ZENTMYER, *Amer. J. Bot.*, 57 (101), 1970, p. 1211.

Laboratoire de Phytopathologie,
Centre ORSTOM, B. P. n° 181, Brazzaville, Congo.