

CONSTITUTION ET ÉVOLUTION DU THALLE DU *LEPTOPORUS LIGNOSUS* (KL.) HEIM RELATION ENTRE LES FORMES MYCELIENNES ET LA DIFFÉRENCIATION DES RHIZOMORPHES

par

Claude BOISSON

Maître de Recherches (ORSTOM)

Le *Leptoporus lignosus* (KL.) HEIM est un Champignon Basidiomycète de la famille des Polyporacées, capable de parasiter un grand nombre de plantes arbustives des régions tropicales humides. Beaucoup d'études ont porté sur l'écologie et la biologie du parasite, mais peu de recherches ont été consacrées au développement de l'appareil végétatif.

En Malaisie, NEWSAM (1960) a montré que la vitesse de croissance radiale varie selon l'origine des isolats, mais que cette valeur ne permet pas de les regrouper en classes à caractères bien définis. De plus, le même Auteur a mis en évidence des variations de la vitesse de croissance radiale en fonction du temps pour un certain nombre de souches d'origine monobasidiosporée provenant d'une même carpophore.

Les premières études de ce type faites en Côte-d'Ivoire (BOISSON, 1965) ont montré que les variations de la vitesse de croissance pour une même souche peuvent être d'amplitude comparable à celles observées dans des souches provenant d'une population de basidiospores. Elles ont permis également de constater des variations morphologiques concomitantes aux variations de la vitesse de croissance radiale.

Nous nous sommes par suite demandé si ces dernières variations correspondent à des phases morphologiques différentes. Est-ce que les filaments qui assurent l'extension du thalle sont les mêmes tout au long de son développement ?

1) LE DEVELOPPEMENT DES THALLES SUR MILIEU GELOSE

A) LES ETAPES DU DEVELOPPEMENT DE L'APPAREIL VEGETATIF

Il est facile de récolter des basidiospores sous un carpophore du *L. lignosus* et de les faire germer sur un milieu malté et gélosé à 2 %, à la température de 30°. La spore émet d'abord un seul tube germinatif, puis souvent un deuxième une dizaine d'heures après le premier. Le développement se poursuit ensuite en passant par deux phases que l'on peut distinguer par les caractères des filaments qui prennent part à l'édification du thalle.

La première phase commence par une période d'envahissement progressif du milieu durant laquelle le thalle acquiert une forme circulaire. Les tubes germinatifs s'allongent et se ramifient ; au bout de deux jours, ils ont un aspect typique de monopode. Ils prennent rapidement l'aspect d'axes à parcours très sinueux, portant des rameaux qui font avec eux un angle le plus souvent aigu et qui assurent l'envahissement latéral du substrat. La plupart des axes et de leurs rameaux sont couchés sur le milieu gélosé au début du développement, mais ils deviennent plus ou moins rapidement intramatriciels lorsque celui-ci se poursuit. A la fin de cette période, le thalle est constitué essentiellement par du mycélium intramatriciel. On observe des filaments superficiels en petit nombre ; ils sont de petit diamètre, à parcours très sinueux, parfois enroulés sur eux-mêmes, d'où leur dénomination d'hyphes en vrilles.

Au bout de 3 à 5 jours, on voit apparaître, en plus des filaments précédents, des rameaux aériens dressés qui naissent toujours à une certaine distance en arrière du front de croissance, et des axes couchés sur le substrat, à parcours plus ou moins rectiligne, orientés radialement, qui portent encore des rameaux en vrilles (fig. 1). La vitesse d'élongation du système rampant est au plus égale à celle du système intramatriciel ; dans la majorité des cas, elle est plus faible et le front de croissance est constitué uniquement par des filaments intramatriciels que nous appellerons désormais filaments A, donnant naissance à 2 ou 3 mm en arrière à des rameaux aériens dressés. Le thalle est alors de forme circulaire et d'aspect duveteux. Sa croissance en diamètre est assurée uniquement par les filaments immergés ; elle se poursuit sous cette forme durant des temps variables selon les souches (jusqu'à 8 à 12 jours après l'ensemencement).

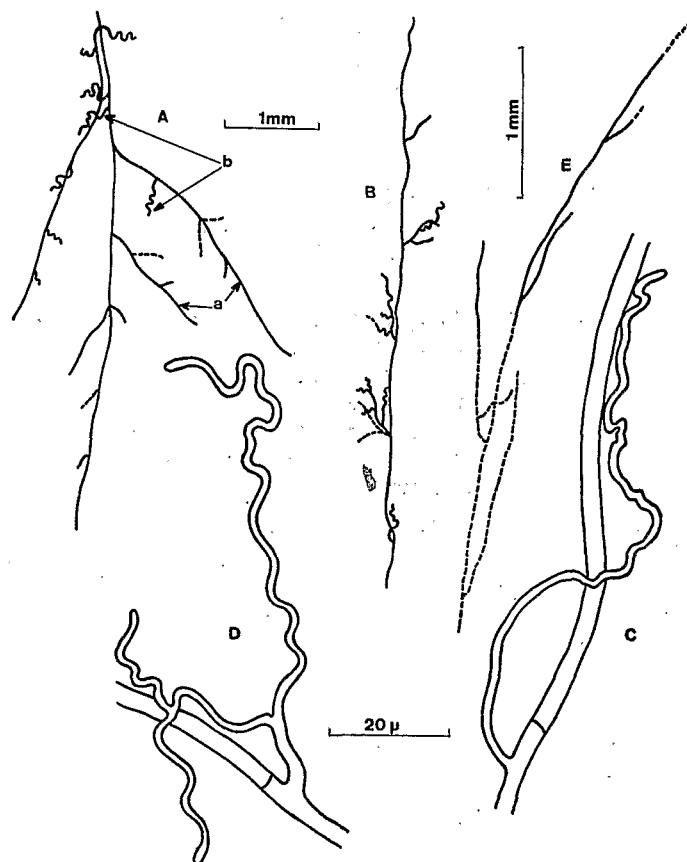


Fig. 1. — Aspect morphologique des filaments superficiels d'une culture du *L. lignosus* au cours de la première phase du développement.

— Filaments superficiels.
 - - - - Filaments intramatriciels.

Au début de la deuxième phase, le thalle perd sa forme circulaire et son contour devient plus ou moins irrégulier et festonné (fig. 2). L'aspect n'est plus duveteux comme précédemment mais rayonnant. Ceci correspond à l'apparition sur les cultures, en plus des systèmes précédents qui poursuivent leur croissance, de très nombreux filaments rampants, appelés filaments B, provenant de l'arrière-front qui s'allongent plus rapidement que les éléments intramatriciels. Au bout d'un certain temps, la marge de la culture est constituée uniquement par ces filaments couchés sur le substrat. A une certaine distance en arrière de l'apex, ceux-ci se ramifient en donnant des rameaux aériens dressés et des rameaux immergés. Ces rameaux aériens restent toujours moins abondants que dans la première phase de croissance.

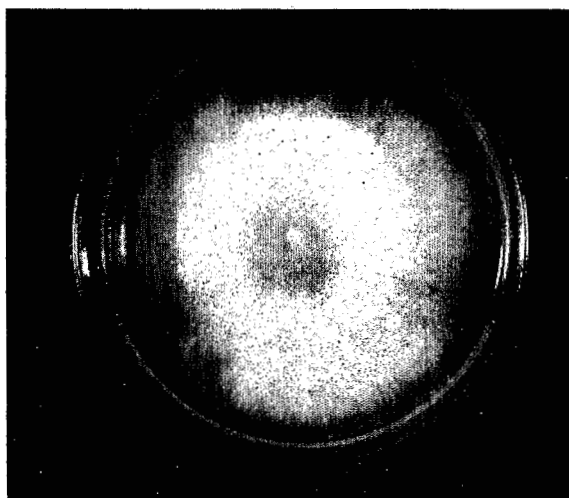


Fig. 2. — Culture du *L. lignosus* au moment du passage au deuxième stade du développement.

L'étude précédente montre que la morphogenèse d'un thalle passe par deux phases successives. Dans la première, appelée phase A, le système immergé s'allonge en général plus vite que le système rampant qui reste peu abondant (fig. 3 A). Dans la deuxième, appelée phase B, il se différencie un mycélium rampant qui croît beaucoup plus vite que le mycélium intramatriciel et qui assure à lui seul l'extension de la culture (fig. 3 B). Ceci se traduit par l'existence de deux phases de croissance linéaire ayant des vitesses différentes, caractéristiques de chaque souche, bien visibles sur la courbe de la figure 4. Celles-ci font suite à une phase de croissance exponentielle qui correspond à l'envahissement du milieu.

Ce changement de morphologie en fonction du temps a été observé sur toutes les cultures faites à partir de basidiospores. On n'a jamais trouvé de thalles qui se développent dès leur germination sous la forme B ; le système de filaments B ne se différencie qu'au bout d'un délai, variable selon les souches mais constant pour chacune d'elle.

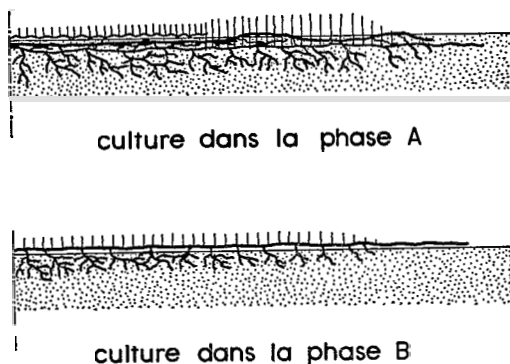


Fig. 3. — Schéma représentant les divers types de filaments du thalle du *L. lignosus* au cours des deux phases du développement.

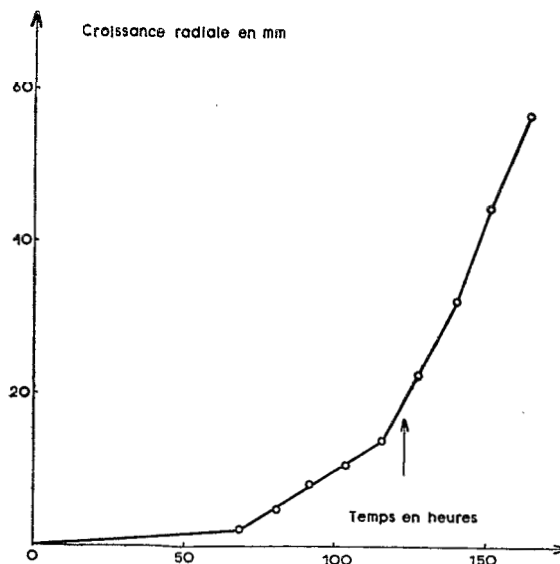


Fig. 4. — Courbe de croissance radiale en fonction du temps de la souche d'origine monobasidiosporée Q28. La flèche correspond au temps moyen d'apparition du mycélium B. Moyenne de quatre mesures sur des rayons perpendiculaires de la boîte de PÉTRI.

B) STABILITE DES ETATS MYCELIENS A ET B

Dans les conditions habituelles de culture, la forme A n'est pas stable mais est remplacée plus ou moins tôt par la forme B. Nous nous sommes demandé si l'état B est lui-même définitivement établi. Nous avons constaté qu'il est réversible et nous disposons de nombreux moyens pour provoquer sa réversion, par exemple la multiplication végétative. Nous ne donnerons ici que les résultats les plus importants obtenus dans les expériences de bouturage.

Lorsque le semis est très petit (0,4 mm de côté), le développement du thalle se fait de la même manière qu'à partir de basidiospores, la phase exponentielle de la croissance étant cependant beaucoup plus courte. Ceci est valable pour des boutures prélevées aussi bien dans des cultures de la phase A que dans des cultures de la phase B.

Les thalles obtenus avec des semis de grande taille (7 mm de côté) prélevés dans des cultures de la phase B régénèrent des filaments superficiels B dès la reprise : la première phase du développement observée sur les cultures à partir des basidiospores n'existe pas. Les mêmes explantats de 7 mm de côté pris dans des cultures de la phase A conduisent à des résultats différents selon le lieu de prélèvement et l'âge du mycélium repiqué.

Certains points importants sont à signaler dans les résultats précédents. Le caractère B n'est pas conservé lorsqu'on multiplie la culture avec des semis de petite taille. En revanche, il suffit d'utiliser des boutures de grande taille pour que le développement du thalle se poursuive immédiatement sous la forme B. Ceci montre comment on peut obtenir à coup sûr, par multiplication végétative, des thalles dans l'état A ou B, en faisant simplement varier la taille de la bouture.

II) RELATIONS ENTRE LES DIFFERENTES FORMES MYCELIENNES ET LA DIFFERENCIATION DES RHIZOMORPHES

Nous nous sommes demandé si l'agrégation du mycélium en rhizomorphes, seuls organes de propagation végétative d'un hôte à un autre, intervenait indifféremment à partir des mycéliums A ou B. Pour répondre à cette question, il nous fallait d'abord déterminer des conditions d'environnement convenables pour la formation de ces organes.

Une méthode possible consiste à déposer des bûchettes d'hévéa inoculées avec le parasite sur du sable maintenu constamment humide. Si les récipients utilisés sont suffisamment grands, le thalle peut donner de véritables rhizomorphes et l'examen de leur développement permet de distinguer trois stades successifs dans leur formation. Les **palmettes** sont caractérisées par une agrégation des filaments de plus en plus serrée quand on s'éloigne de la marge en croissance. On constate que les filaments situés à la base de la palmette sont plus gros et plus cloisonnés que ceux du front. Le passage du stade palmette au stade **cordonnet** est marqué par l'apparition de filaments de petit diamètre à parois épaisses qui se développent autour d'un groupe de filaments de gros diamètre, très cloisonnés, déjà présents dans la phase précédente ; cette formation prend alors l'aspect d'un cordonnet cylindrique. Certaines différenciations des hyphes portant sur leur diamètre, l'épaisseur de leurs parois et l'accumulation de pigments permettent de distinguer trois couches dans le **rhizomorphe** qui représente la dernière phase du développement.

Une deuxième méthode consiste à déposer sur le fond de boîtes de PÉTRI des disques de culture d'un diamètre de 35 mm au moins. Lorsque l'humidité ambiante est suffisamment élevée, le développement peut se poursuivre jusqu'au stade cordonnet.

Enfin, sur quelques substrats gélosés, les filaments peuvent s'agréger mais on ne peut aller au-delà du stade palmette. Citons, parmi les substances efficaces, certains sels d'ammonium (par exemple, nitrate d'ammonium à 1 ou 2 g/l), le chlorure mercurique à des doses subléthales (0,5 g/l), le glucose à des concentrations élevées (50 g/l).

Les résultats obtenus grâce à ces différentes techniques peuvent être résumés de la manière suivante :

1) Les bûchettes d'hévéa inoculées avec certaines souches ne conduisent jamais, sur sable, à des thalles agrégés ou le font rarement et, dans ce cas, toujours au bout de délais très longs. Or, nous constatons par ailleurs que ces mêmes souches ont perdu ou perdent au bout de quelques repiquages la possibilité d'édifier un mycélium de type B.

2) Selon que l'humidité de l'air est proche ou non de la saturation, les thalles obtenus sur le verre des boîtes de PÉTRI à partir de disques mycéliens sont d'aspect duveteux ou rayonnant. Certaines caractéristiques morphologiques et biométriques des hyphes rapprochent ces thalles respectivement des états A et B. Or, seuls les thalles rayonnants donnent naissance à des formes agrégées en palmettes et même en cordonnets. Cette identification des cultures duveteuses au type A et des cultures rayonnantes au type B est appuyée par les effets des changements de l'hygrométrie sur les thalles obtenus en utilisant des substrats gélosés où les différents constituants du mycélium peuvent être reconnus avec précision.

3) On peut, enfin, mettre à profit la facilité avec laquelle on obtient à coup sûr des cultures dans l'état A ou B selon les caractéristiques de la bouture. Pour cela, on réalise des cultures jumelles à l'aide de couples de semis identiques. L'un est déposé sur milieu malté où ses caractères A ou B s'affirment clairement, l'autre est placé sur des substrats favorables à l'agrégation. On constate alors :

a) lorsque, dans le couple, le semis déposé sur milieu malté prend d'emblée l'aspect B, l'autre sur le milieu favorable à l'agrégation s'agrège dès la reprise de la bouture ;

b) qu'il faut attendre un certain délai pour obtenir l'agrégation des filaments lorsque les cultures sont faites avec des semis suffisamment petits. L'étude des courbes de croissance radiale (fig. 5 a et b) et de la position des filaments par rapport au milieu montre que ce délai correspond exactement à celui qui est nécessaire à la formation des filaments B.

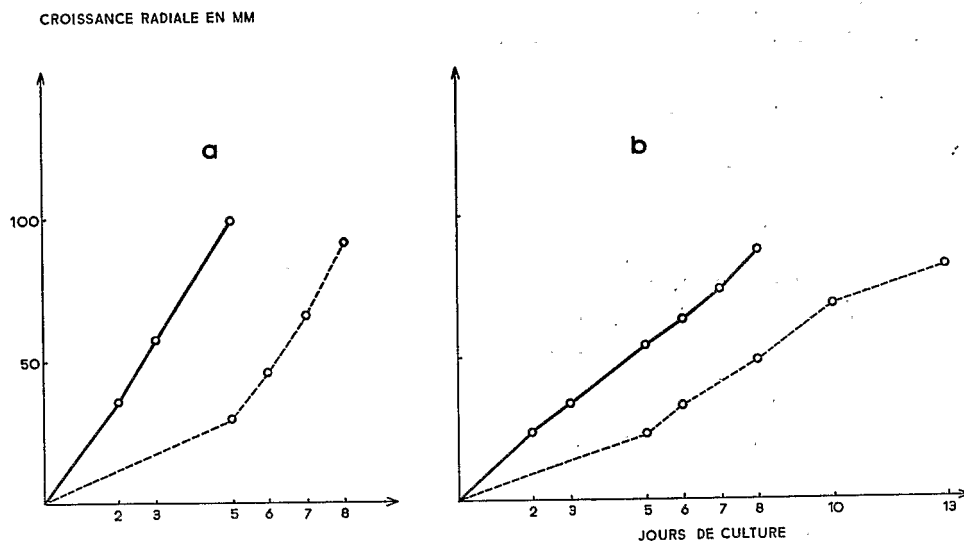


Fig. 5. — Courbes de croissance radiale du *L. lignosus* sur milieu malté (a) et sur milieu favorable à l'agrégation (b). Cultures obtenues à partir de grosses boutures (courbes en trait plein) et à partir de petites boutures (courbes en pointillés).

Ces différentes expériences amènent toutes à la conclusion que le mycélium A serait incapable de s'agréger pour former des palmettes et des rhizomorphes.

En résumé, il semble bien que la formation des rhizomorphes soit précédée d'une phase de différenciation des hyphes mycéliennes. Il ne peut pas y avoir d'agrégation avant que le thalle ait atteint l'âge à partir duquel les filaments B peuvent apparaître. On peut alors penser que ceux-ci seraient spécialisés dans la propagation du parasite. Quel serait alors le rôle des filaments A ? On sait que dans la nature, le champignon, après avoir envahi des substrats ligneux, se propage vers de nouveaux hôtes sensibles par des rhizomorphes. L'envahissement de masses ligneuses d'un volume souvent important doit supposer de la part du champignon une faculté d'adaptation à des conditions de privation d'oxygène plus ou moins sévères. Le mycélium A qui se développe surtout à l'intérieur du milieu doit lui aussi être capable de s'adapter à des conditions identiques. D'où l'idée que cette forme mycélienne serait la plus apte à l'envahissement des substrats ligneux. Certains faits semblent favorables à cette hypothèse mais la preuve indéniable de cette spécialisation reste encore à trouver.

BIBLIOGRAPHIE

- BOISSON (C.), 1965. Contribution à l'étude biologique du *Leptoporus lignosus* (KL.) HEIM.
Mémoire présenté à la Faculté des Sciences d'Abidjan, 101 p.
- NEWSAM (A.), 1960. Pathological Division, Report for the year 1959.
Rep. Rubber Inst. Malaya, p. 60-6.

RESUME. — *Le développement des cultures in vitro du Leptoporus lignosus passe par deux phases successives distinguables par les caractères des filaments qui assurent l'extension du thalle. Les filaments du premier stade sont incapables de s'agréger pour conduire à la formation des rhizomorphes.*

SUMMARY.—*FORMATION AND EVOLUTION OF THE THALLUS OF LEPTOPORUS LIGNOSUS (KL.) HEIM. RELATIONSHIP BETWEEN THE MYCELIAL FORMS AND THE RHIZOMORPH DIFFERENTIATION.*

The development of in vitro cultures of L. lignosus undergoes two successive stages distinguishable by the characters of the filaments which make the thallus grow. The filaments of the first stage are unable to aggregate to form rhizomorphs.

RESUMEN. — *CONSTITUCION Y EVOLUCION DEL TALO DE LEPTOPORUS LIGNOSUS (KL.) HEIM. RELACION ENTRE LAS FORMAS MICELICAS Y LA DIFERENCIACION DE LOS RIZOMORFOS.*

En el desarrollo de los cultivos in vitro de L. lignosus (KL.) se observan dos fases sucesivas que se distinguen entre sí por los caracteres de los filamentos que permiten la extensión del talo. Los filamentos de la primera fase no pueden agregarse para dar lugar a la formación de los rizomorfos.

**L'AGRONOMIE
TROPICALE**

Extrait du n° 12
DÉCEMBRE 1968

**CONSTITUTION ET ÉVOLUTION DU THALLE
DU *LEPTOPORUS LIGNOSUS* (KL.) HBIM
RELATION ENTRE LES FORMES MYCELIENNES
ET LA DIFFÉRENCIATION DES RHIZOMORPHES**

par

Claude Boisson

Maître de Recherches (ORSTOM)

12012