# OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER CENTRE D'ADIOPODOUME

Laboratoire de Phytopathologie

Rapport d'Elève de 2ème année

ETUDE DES CHAMPIGNONS RESPONSABLES DES ANTHRACNOSES

par Yacouba SERE

#### AVANT PROPOS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Cryptogamie de la Faculté des Sciences de l'Université de Paris-Sud (Orsay) et au Laboratoire de Phytopathologie du Centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé (Côte d'Ivoire).

Notre stage en Côte d'Ivoire devait nous permettre de nous familiariser avec les principaux champignons parasites des cultures de la région de savane (Nord) du pays, principalement ceux des cultures maraîchères et de la Canne à sucre. En outre, afin de répondre, dans le délai qui nous était imparti, à l'une des préoccupations qui s'était dégagée de l'étude faite à Orsay sur l'agent de l'anthracnose des Cucurbitacées, nous pensions disposer d'une population naturelle assez variée de ce parasite que nous aurions testée sur une large gamme d'hôte. Cependant, en l'absence de Colletotrichum lagenarium, nous nous sommes intéressés aux agents d'anthracnose des plantes cultivées en Côte d'Ivoire dont l'inventaire est réalisé par le laboratoire de Phytopathologie du Centre ORSTOM d'Adiopodoumé.

Le présent rapport comprendra, de ce fait, trois parties :

- 1º- Etudes sur le pouvoir pathogène du <u>Colletotrichum</u> lagenarium.
- 2° Etudes sur la morphologie et le comportement parasitaire d'agents d'anthracnose isolés en Côte d'Ivoire.
- 3° Aperçu de l'état phytosanitaire de quelques cultures de l'Ouest et du Nord de Côte d'Ivoire.

Nous tenons à remercier M. le Professeur CHEVAUGEON d'avoir accepté de diriger nos deux années de formation à l'ORSTOM, ainsi que H. GOUJON qui a assuré la direction locale d'une partie du travail.

Nous n'oublions pas tous ceux qui, à Orsay comme à Adiopodoumé nous ont apporté leur aide morale et matérielle.

#### INTRODUCTION GENERALE

Les champignons qui ont été réunis dans le groupe des Imparfaits sont ceux dont le cycle de développement se limitait, dans la nature, à la reproduction végétative. En fait, nombre d'entre eux appartiennent au cycle biologique de champignons sexués (parfaits); et si les deux formes se retrouvent sous des noms génériques ou spécifiques différents, c'est qu'elles ne sont pas toujours associées et que la liaison entre les deux n'est parfois pas évidente.

D'une manière générale, les formes imparfaites présentent une importance phytopathologique plus grande que les formes sexuées correspondantes. Le plus souvent, ces dernières interviennent peu dans l'évolution des maladies, soit parce qu'elles apparaissent sur des organes déjà morts et se comportent alors en saprophytes, soit parce que les spores sexuées ne sont pas des organes de propagation importants (ROGER, 1953). FORD et al. (1967), étudiant une pourriture des cabosses de Cacaoyer dûe à un Fusarium, montrent que les souches présentant en culture les formes imparfaite (Fusarium rigidiusculum) et parfaite (Calonectria rigidiuscula) ne sont pas pathogènes, tandis que les souches pathogènes sont exclusivement des formes imparfaites. FOLLIN (1969) isole du Cotonnier les formes conidienne (Colletotrichum) et ascosporée (Glomerella) du champignon responsable de l'anthracnose ; il montre que seule la première est pathogène, tandis que la seconde se comporte en parasite secondaire. Chez la Banane il a été établi que la forme parfaite (Glomerella cingulata) du Colletotrichum musae, n'est pas pathogène sur fruits (Françoise LE GRAND-PERNOT et Cathérine GERLINGER (1974)).

Chez de tels organismes où il semble que le pouvoir pathogène soit le seul fait de la forme conidienne, l'étude des facteurs génétiques de la pathogénie est rendue délicate par l'impossibilité de procéder à une analyse mendélienne d'hybridation et recombinaisons.

Par ailleurs, l'absence de reproduction sexuée et d'organes sexuels chez ces types de champignons ne permet pas de disposer des critères habituellement utilisés dans la délimitation des unités spécifiques. Les bases de la classification généralement adoptées reposent donc sur des critères morphologiques, dont

l'illégitimité en matière de taxonomie est évidente quand on observe le changement de phénotype d'une même souche dans des conditions différentes. La présentation du Colletotrichum manihotis, en zone forestière de Côte d'Ivoire, sous une forme dont les acervules sont dépourvus de soies et qui a longtemps été classé dans un genre différent (Gloeosporium manihotis)(1)en est un exemple. Il apparait donc que le système général de classification des espèces chez les Imparfaits, est purement conventionnel, parce qu'il ne tient pas compte du fait qu'une unité spécifique est avant tout une unité de reproduction, c'est-à-dire une unité biologique. Or, bien souvent, il est important pour un phytopathologiste de pouvoir établir avec précision un tableau complet des espèces et races d'une population parasite, avec la gamme des hôtes attaqués. Il lui faut aussi, dans la recherche de l'amélioration de la résistance variétale et pour une bonne gestion de cette résistance, apprécier les limites de la variation du pouvoir pathogène des éléments constitutifs de cette population. Il ne peut donc pas se contenter d'une délimitation conventionnelle des espèces qui ne permet pas de cerner leur degré de parenté, leur origine et leur évolution.

Les travaux de NELSON (1960) sur la signification des ressemblances et des différences entre espèces voisines chez les Helminthosporium montrent l'interêt des recherches sur l'interfertilité pour apprécier la validité des espèces pratiques. SNYDER et HANSEN, en 1940, simplifient la nomenclature et la taxonomie du genre <u>Fusarium</u> en minimisant les différences morphologiques. Sur la base de la spécificité vis-à-vis de l'hôte, ils réunissent dans une même unité spécifique, <u>Fusarium oxysporum</u> (Sch.) emend. Snyder et Hansen, les 10 espèces, 18 variétés et 12 formes reconnues depuis 1913 par WOLLENWEBER (GARBER et coll. 1961).

Chez les Imparfaits du genre <u>Colletotrichum</u> (ou <u>Gloeosporium</u>) il n'est pas exclu, à priori, qu'on puisse, grâce aux possibilités d'échange de matériel génétique par hybridation parasexuelle, non seulement définir la signification réelle des espèces décrites, mais aussi et surtout, disposer d'informations précises sur les facteurs génétiques responsables du pouvoir pathogène. De plus, l'étude du spectre de pathogénie d'une large population naturelle de ces champignons devrait permettre de les regrouper en fonction de leurs affinités biologiques et surtout de fixer les limites de la variation du pouvoir pathogène.

<sup>(1)</sup> CHEVAUGEON, (1956).

ETUDES SUR LE POUVOIR PATHOGENE DU COLLETOTRICHUM LAGENARIUM

Cette première section, réalisée dans le cadre du D E A d'Amélioration des Plantes (Option Phytopathologie) est jointe au présent rapport. Nous en rappelons le plan.

- Introduction
- <u>lère Partie</u> : Comportement du <u>Colletotrichum lagenarium</u> et du <u>Glomerella cingulata</u> in vitro.
- I Description des souches utilisées
  - A Le Colletotrichum lagenarium
  - B Le Glomerella cingulata
  - C Reflexion sur certains mutants
- II Caractères culturaux du Colletotrichum et du Glomerella
  - A Milieu de culture utilisé
  - B Mode de culture
  - C Etude de la croissance
    - <u>2ème Partie</u> : Comportement du <u>Colletotrichum lagenarium</u> sur son hôte, le <u>Melon</u>.
- I Généralités sur la maladie
  - A Les symptômes
  - B Cycle du parasite
- II Etudes expérimentales du pouvoir pathogène du Colletotrichum sur des plantules de Melon.
  - A Variétés de Melon utilisées
  - B Test de pathogénie sur plantules cultivées en tube
    - 1º/ Mode opératoire
    - 2º/ Résultats
  - C Test de pathogénie sur plantules cultivées en serre
    - 1º/ Mode opératoire
    - 2º/ Résultats
  - D Discussion et conclusions.

- III Recherche d'une échelle fine
  - A Description de l'échelle
  - B Expérimentation et résultats
  - C Discussion.
    - . 3ème Partie : Etude préliminaire sur la parasexualité
- I Définitions
- II Résistance et sensibilité du Colletotrichum et du Glomerella aux inhibiteurs de croissance et aux fongicides.
- III Réalisation de mutants auxotrophes chez Colletotrichum lagenarium
  - A Technique de mutagenèse
  - B Résultats obtenus
  - C Détermination des substances exigées par les mutants auxotrophes
    - 1º/ Besoins en amino-acides
    - 2º/ Méthode HOLLIDAY
  - D Etude du pouvoir pathogène des mutants C<sub>4</sub> (309) et C<sub>8</sub>(14).
- IV Essai de mise en hétérocaryose de deux mutants auxotrophes de Colletotrichum
  - A Première méthode : Méthode des fils
  - B Deuxième méthode avec le couple  $C_8(14)/C_4(309)$ .
    - . Conclusion générale

### DEUXIEME SECTION

ETUDES SUR LA MORPHOLOGIE ET LE COMPORTEMENT PARASITAIRE D'AGENTS D'ANTHRACNOSE ISOLES EN COTE D'IVOIRE

#### PLAN

### I - INTRODUCTION

# II - ETUDES MORPHOLOGIQUES DES DIFFERENTS ISOLATS

- A Aspects culturaux
  - 1º- Présentation du matériel
  - 2º Caractéristiques apparemment stables
    - a) Aspect du mycélium
    - b) Nature et aspect des fructifications

#### B - Evolution in vitro des souches

- 1º- Etude de la croissance
- 2º- Quelques remarques sur la sexualité
- 3° Confrontation de souches d'origine différentes
  - a) Confrontation des souches "papaye" avec des Glomerella
  - b) Confrontation de souches Glomerella entre elles
- C Conclusion à l'étude morphologique.

# III - COMPORTEMENT PARASITAIRE DES SOUCHES

- A Etude du pouvoir pathogène sur des fruits
  - 10 Technique d'inoculation
  - 2° Résultats et discussion
- B Etude du pouvoir pathogène sur plantules
  - 1º- Matériel utilisé
  - 2º Test de plantules cultivées sur terrau
  - 3° Test de plantules cultivées sur milieu synthétique
    - a) Technique d'inoculation
    - b) Résultats et discussion
  - 40 Remarques sur les tests de plantules : conclusion

# IV - CONCLUSION

# I - INTRODUCTION

Sous le nom d'anthracnose sont désignées des alterations nécrotiques plus ou moins brunes, souvent déprimées, affectant les écorces des rameaux, les feuilles ou les fruits. D'une manière générale c'est une maladie de faiblesse des plantes due soit à un déséquilibre physiologique, soit à une attaque primaire.

Les principaux agents responsables de ces affections appartiennent au genre Colletotrichum, dont la forme parfaite, lorsqu'elle existe, est un ascomycète du genre Glomerella. En Côte d'Ivoire, RESPLANDY et al. (1954) signalent l'existence de ces parasites sur 18 hôtes. Plus récemment, différentes espèces de ces champignons ont été décrites notamment sur le Navet (J.L. RENARD, 1965) sur le Concombre, le Haricot, l'Aubergine locale (C. BOISSON, 1965) sur le Melon (C. BOISSON et M. LOURD, 1972). Le Colletotrichum circinans fut observé pour la première fois en 1972 sur des feuilles d'Oignon (C. BOISSON 1972). La plupart de ces champignons sont associés à d'autres parasites sur les lésions. Ils ne semblent pas constituer, dans l'immédiat, un grave danger pour les hôtes qui les abritent. Cependant, leur étude n'est pas à négliger pour autant, car des parasites d'importance secondaire peuvent proliférer considérablement sous l'effet d'un déséquilibre biologique naturel et causer d'importants dégâts. ROGER (1953) rapporte qu'en 1934, des plantations de Café en Guinée établies sur sol pauvre avaient subi de graves attaques de Colletotrichum coffeanum; les pertes y furent estimées à près de 50 %.

Les deux aspects liés à la biologie des champignons imparfaits et que nous avons précédemment abordés (difficulté à analyser genétiquement les facteurs responsables du pouvoir
pathogène par les voies classiques d'hybridation, et nature conventionnelle du système de classification des espèces) se retrouvent fréquemment chez la plupart des agents d'anthracnose.

Aussi, pour pouvoir préciser les rapports existants entre les espèces décrites, l'étude de la population naturelle de ces parasites isolés en Côte d'Ivoire devrait-elle tenir compte de certains caractères biométriques, mais aussi et surtout des caractères biologiques tels l'aptitude à échanger du matériel génétique et le spectre de pathogénie sur une large gamme d'hôte. De ce fait, il serait certainement possible d'apprécier la validité des espèces décrites et approfondir les connaissances sur la valeur et les limites de la variabilité des caractères spécifiques.

# II - ETUDES MORPHOLOGIQUES DES DIFFERENTS ISOLATS

### A - Aspects culturaux

## 1º- Présentation du matériel

Les souches utilisées ont été isolées de macules d'anthracnose développées sur fuits, feuilles, tiges et rameaux de plantes diverses récoltées dans différentes régions de Côte d'Ivoire (Tableau 1).

Souche	Organe de prélèvement	Plan te hô te	Lieu du prélèvement
Rz		Riz	Bouaké
C <sub>s</sub> I C <sub>s</sub> II	! !	Canne à sucre	Adiopodoumé
Fv Mg Ce Hv Br Si Ig Kf	Feuilles et pétioles	Fève Manguier Orgueil de Chine Hévéa Broenia Sipo Igname Kénaf	Adiopodoumé Korhogo Adiopodoumé "" Oumé Bouaké
P <sub>p</sub> I P <sub>p</sub> II			! ! ! ! !
P <sub>p</sub> III P <sub>p</sub> IV P <sub>p</sub> V	Fruits	Papaye	Dabakala "
Agl II! Ag II Bn		Aubergine locale Aubergine "longue violette" Banane	! Adiopodoumé ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! ! !
Mc		Manioc	Adiopodoumé
CfI C <sub>f</sub> II	! ! Tiges et !! ! rameaux !	Café	Man Adiopodoumé
Pt To	! ! !	Patate Tomate	Dabakala Port-Bouët

Tableau 1 : Origine des agents d'anthracnose étudiés.

A partir des fructifications produites par ces souches, des clonages monospores ont été réalisés. Les clones, conservés en tube sont rajeunis par repiquage tous les deux mois environ. Les milieux de culture, identiques à ceux utilisés dans le précédent travail (voir Première section du présent rapport) sont les suivants:

- Milieu à l'extrait de malt gélosé
- Milieu amidon gélosé
- Milieu avoine gélosé.

Les cultures sont conservées à l'obscurité, dans les conditions du laboratoire (25°C ± 2 ; 60 à 70 % d'humidité relative).

### 2º - Caractéristiques apparemment stables.

#### a) - Aspect du mycélium

La coloration des thalles des différentes souches est difficile à apprécier de façon rigoureuse, et peut revêtir des nuances allant du gris foncé au blanc. C'est l'aspect du mycélium qui semble le plus caractéristique. Il se présente sous trois principaux aspects selon le champignon et, chez la même souche, selon les milieux de culture et leur âge :

- le type aérien caractérisé par un feutrage plus ou moins abondant,
  - le type mycélium ras,
- le type mycélium non apparent, caractérisé par une coloration rouge orangée ou rose saumon du thalle résultant de la présence de fructifications conidiennes réparties sur toute la culture.

## b) - Nature et aspect des fructifications.

Elles sont de deux types :

- Les acervules typiques du genre Colletotrichum analogues à ceux du C. lagenarium. Les conidies, hyalines, sont oblongues ou arquées chez les souches isolées de la Canne à sucre. Les cultures monoconidiennes successives permettent d'aboutir, pour chaque souche, à des clones où l'abondance relative parait stable et permet de les classer dans des catégories distinctes (voir Tableau 2).
- <u>Les fructifications</u> sexuées apparaissent plus tard (en une dizaine de jours) et sont constituées par des périthèces bruns sombres, isolés ou réunis en glomérules noirs caractéristiques du genre Glomerella.

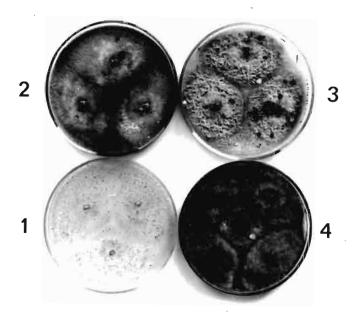


Photo nº1: Présentation des types mycéliens

- Mycélium non apparent (notation -) = 1
- . Mycélium ras (notation +) = 2
- . Mycélium aérien
  - peu abondant (notation + +) = 3
  - abondant (notation + + + +) = 4

3)	×	k, ngodiurudadu fu kir 1989	Co	rach	éris	tiques	ç	×	a surando ambo	Ja	ract	éris	stiques
Souche	ن ۾ آ	Myca	liom	ľ	r 10 C fi	Fications	o Cris	Miliaus	Myco	Élium	;	Fructi	Fications
ŝ	Σ	A.,	Co.	Ac.	Pq.	Dresc	30	Σ	As.	Co.	Ac.	Pe.	Dmc.
Ra.	M Au Am	+	90	4: 4: 4: 4: 4: 4:		15,5 ± 0,3 × 5,6 ± 0,2		id Av Am	2000	5	* * *		12,4±0,3 × 4,3±0,1
Cer	M Av Am	* * * * * * * * * * * * * * * * * * * *	9,56			22,7± i × 5,7± 0,2	Frin	tea Fra Augus	+	fэ	*	-	16,7±0,5 × 4,4±0,2
Coll	M Av Am	***	90 90 90			31,5 ± 1 × 6,0 ± 0,2	P. S	Av Am	-		* * * * * *	a=-1	15,2±0,5 × 4,7±0,1
+	M Au Am	**	99-11	4		15,7±0,6 × 4,9±0,2	P.V.	M Av Am	* +	ع د ا	4	∓ł. ∻£	15,8 ± 0,5 × 4,4 ± 0,2
<b>2</b>	M Av Am	*	ge gel-b	***		19,8 ±0,6 x 5,0 ± 0,2	Agl	M Au Am	-4-	15	*** ***	sed Send	15,3 ± 0,4 × 4,5 ± 0,1
Ce	M Av Am	+++ ++ ++	gs-n ge gel	+ +	.¢ .¢	15,3 ± 0,5 * 5,0 ± 0,2	Agi	M Au Am	+ +	gs.n gel gel	+ +	*t *t	15,0±0,9 × 4,9±0,1
77	M Av Am	+ +	90 90 90	+ + +	**	16,1 ± 0,2 × 5,1 ±0,1	B C	Av Av Am	+		+ → + + + + +	ann ann	13,8±0,4 * 5,7±0,1
Br	M Av Am			***	-	14,5 ± 0,3 × 5,2 ± 0,2	Mc	M Av Am	+	gs-n	+ ++ +++	-	13,9 ± 0,5 *X 5,4 ± 0,2
Si	M Au Am	., .,	95-n 9c 9c	++		16,7 ± 0,5 +,8 ± 0,2	CFr	M Av Am	+	9 c	+	* f * f	15,4 ±05 × 5,1 ±0,1
Ιŋ	M Av Am	+++	95-n 95 95		++	14,3± 0,5 × 5,2±0,1	CFI	M Av Am	* * * *	р р	+ + + +	-	13,6 ± 0,3 × 5,7 ± 0,2
KF	M Av Am	+ +	gc gcl	+++		12,4±0,4 × 4,1±0,1	Pt	M Av Am	*	<i>t</i> 5	- + + -+ + -+ + +	-	15,6±0,4 * 5,7±0,1
PpI	M Av Am		۲5	* + + + + + + + + + + + + + + + + + + +		14.3 ± 0,4 5,5 ± 0,1	To	M Av Am		gel	++ +++	-	14,6 ± 0,5 * 4,5 ± 0,1

Tableau 2

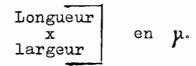
Tableau 2 : Caractéristiques morphologiques des différentes souches à l'issue de 10 à 14 jours de culture à 25°C ± 2 et 60 à 70 % d'humidité relative.

## Légende

```
1º) - Milieux de cultures :
     M = Extrait de malt gélosé
     Av= Avoine gélosé
      Am= Amidon gélosé
2º) - Aspect du mycélium = As.
     +++ = aérien abondant ; ++ = aérien peu abondant ;
     + = ras; - = non apparent.
3°) - Couleur du mycélium = Co.
      gs = gris sombre ; gc = gris cendre ; gcl = gris clair
      gs-n = gris sombre à noir ; gcl-b = gris clair à blanc
      r = rouge; b = blanc; rs = rougeatre sombre.
4°) - Acervules : Ac.
     +++ = abondants et éparpillés ;
     ++ = peu abondants et le plus souvent localisés;
         = rares :
         = absents.
5°) - Périthèces = Pe.
     +f = périthèces fertiles
     +f = perithèces plus ou moins fertiles
         = pas de périthèce.
```

6°) - Dimension moyenne des conidies = Dmc.

(Communication personnelle de M. LOURD)



NB. Ces dimensions, pour chaque souche, représentent la moyenne de 30 mesures et son intervalle de confiance.

La nature des fructifications permet alors de distinguer deux groupes au sein de la population parasite étudiée : celui des souches asexuées et celui des sexuées. Toutefois, au sein de ces deux ensembles, les acervules n'ont jamais pu être observés chez C<sub>S</sub>I, C<sub>S</sub>II et Ig. Mais des broyats mycéliens filtrés de ces dernières permettent d'obtenir une suspension conidienne ; il est donc probable que leur mycélium porte des conidies isolées ou de petits acervules masqués par l'abondance des hyphes aériens.

D'une manière générale, l'abondance du mycélium s'accompagne d'une rareté des acervules, ce qui peut être corrélatif du fait qu'in vitro tout au moins, la formation de conidies est accélérée par les conditions défavorables au développement végétatif : blessures et chocs physiques, pauvreté du milieu de culture, vieillissement des cultures.

#### B - Evolution in vitro.

#### 1º- Etude de la croissance

Des fragments de culture calibrés par un emporte-pièce (Ø 6 mm) sont disposés au centre d'une boîte de pétri de milieu à l'extrait de malt gélosé. Les boîtes sont placées dans une étuve à 27°C. La mesure de diamètres des thalles au bout de 6 jours donne les résultats suivants :

Souches	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5	Moyenne
Rz CsI CsII Fv Mg Ce Hv Br Si Ig Kf PpII PpIV PpIV PpV CfI Pt	77 100 101 84 68 90 75 84 30 79 74 88 88 79 79 88 89	74 99 85 76 80 93 77 86 87 99	77 102 1086 867 97745 8287745 868 96896	80 101 101 85 67 88 72 75 81 77 76 81 89 69	77 102 100 83 66 81 89 75 87 31 80 77 74 74 84 59 69 95	77 100,4 100,6 84,6 89,4 26,1 26,6 87,7 84,6 82,7 75,6 84,6 87,7 84,6 87,6 84,6 87,6 84,6 87,6 84,6 87,6 84,6 87,6 84,6 87,6 84,6 89,6 89,6 89,6 89,6 89,6 89,6 89,6 89

Tableau 3: Diamètre en mm des thalles des souches, après 6 jours d'incubation à 27°C.

(M. LOURD: Données non publiées).

Une comparaison statistique des moyennes a été effectuée au moyen de l'analyse de variance.

Origine des variations	ddl	SCE	CM	Fc	Ft 5%	Conclusion
Variation totale	99	24.340,5				
! Variation inter souche!	19	23.419,7	1232,6	64,8		S
Variation intra souche	4	31,8	7 <b>,</b> 9	0,7		NS
Variation résiduelle	<b>7</b> 8	889	11,3			
<u> </u>		!				

Tableau 4 : Analyse de variance sur les données expérimentales du tableau 3 .

Légende:

ddl = nombre de degré de liberté

SCE = Somme des carrés des écarts

CM = Carré moyen

Fc = F calculé

Ft 5% = F théorique au seuil de 5%

S = significative

NS = non significative.

Nous en déduisons que les mesures des diamètres d'une même souche après 6 jours de culture à 27°C sur milieu à l'extrait de malt gélosé donne des resultats homogènes (variation intra souche non significative) mais qu'elles peuvent servir à différentier les souches les unes des autres (variation inter souche significative). Pour connaître le degré de signification à accorder aux différences entre les souches, nous les avons classées au moyen du test de Tackey ce qui donne les réunions suivantes :

$$(C_{S}I = C_{S}II = T_{O}) > (Hv = CfI * Fv = Ig = P_{p}V = P_{p}I = S_{i}=C_{e}) > M_{C} > Kf$$

$$= Mg = P_{p}II = Rz = P_{p}III = P_{p}IV = Br = Pt) > M_{C} > Kf$$

#### 2º - Quelques remarques sur la sexualité

Toutes les souches sexuées possèdent les formes "PLUS" et "MINUS" décrites pour la première fois en 1912 par EDGERTON et de même nature que celles du <u>Glomerella cingulata</u> (voir Première section). La confrontation des deux formes issues d'une même souche produit un bourrelet de périthèces isolés et de glomérules

au contact des deux mycéliums. Selon EDGERTON, il s'agit d'un hétérothallisme particulier, différent de celui qui existe fréquemment
chez d'autres organismes dont les deux formes sont indépendantes
(c'est-à-dire que l'une ne peut pas produire l'autre) et autostériles.

Les premières observations faites sur des cultures de PpV avaient montré l'absence de fructifications sexuées (Communication personnelle de M. LOURD). Par la Suite, nous avons observé l'apparition fréquente, sur les cultures âgées principalement, d'un dimorphisme des thalles : la souche typique à mycélium aérien et à gros acervules rares ou confluents et localisés différentie des secteurs à mycélium ras et à nombreux petits acervules isolés. Les clonages monoconidiens réalisés à partir des zones couvertes de mycélium aérien donnent des clones (PpV1) de même morphologie, différenciant eux aussi des secteurs. Ceux réalisés à partir des secteurs couverts de mycélium ras donnent des clones (PpV2) qui concernent la même morphologie et restent stables. Ce dimorphisme rappelle ce qui se passe chez les Glomerella. La confrontation des deux types a fourni au bout de 2 à 3 semaines, des périthèces en majorités stériles ou contenant des asques anormaux. Nous nous trouvons donc bien en présence d'un Glomerella mais dont la sexualité semble perturbée ; en effet la formation des fructifications sexuées est inconstante chez les différentes cultures de cette souche.

Certains auteurs signalent que les rayons ultraviolets favorisent la formation de périthèces chez les souches qui en produisent normalement. Nous avons donc envisagé l'action de ces rayonnements sur les souches "Papaye" puisque certaines cultures de PpI PpII, PpIII, PpIV auraient présenté des protopérithèces (Communication personnelle de M. LOURD) et que nous avons observé des périthèces chez PpV. AgII qui présente une sexualité normale nous a servi de témoin. Des thalles de ces différentes souches âgés de 4 jours sont soumis au rayonnement produit par une lampe à Ultra Violet de 15 watts. Les cultures, placées à 1 mètre de la source lumineuse, sont exposées pendant 30 mn ou 1 heure. A l'issue de 12 jours de conservation à 25°C ± 2, on obtient les résultats suivants:

- Chez les souches PpI PpII PpIII et PpIV, l'exposition aux U.V. provoque des développements de secteurs, mais il n'y a pas d'apparition de périthèces.

- Chez PpV<sub>1</sub> et PpV<sub>2</sub>, on constate une légère augmentation du nombre de périthèces formés consécutive à la radiation d'une heure. En outre, il semble apparaître plus de périthèces fertiles.
- Enfin, l'irradiation pendant une heure des cultures de AgII conduit à la formation de nombreux périthèces isolés surtout à la limite de la portion de thalle irradiée. La plupart de ces fructifications sont cependant vides d'asques.

Par conséquent, si, dans les conditions expérimentales employées, la lumière U.V. augmente la production périthéciale des souches Glomerella, elle n'a aucune action sur celle des souches PpI PpIII PpIV.

### 3° - Confrontation de souches d'origine différente.

Nous avons vu que chez les <u>Glomerella</u>, les formes "PLUS" et "MINUS" donnent, à leur contact, un bourrelet de périthèces isolés ou rassemblés en glomérules. Que se passe-t-il dans le cas de "PLUS" et "MINUS" provenant de souches d'origines différentes ?

# a) - Confrontation des souches "Papayes" avec Glomerella

L'échec de l'irradiation ultra violette en ce qui concerne la production de périthèces chez les souches PpI PpII PpIII PpIV nous a conduit à tenter leur confrontation avec des <u>Glomerella</u> afin de voir s'il n'existe pas de possibilités de complémentation et de fertilisation.

Sur des boîtes de pétri de milieu avoine gélosé ou à l'extrait de malt gélosé, trois semis provenant d'une souche "Papaye" et des formes "PLUS" et "MINUS" d'un même Glomrella sont disposés de sorte que, lors de leur développement, chaque thalle puisse entrer en contact avec les deux autres. Ces confrontations, maintenues à 25°C ± 2 pendant deux semaines donne les résultats résumés par le tableau 5:

!	Ag	II	C	Э	_	Fv	Cf:	Γ	/qq	τ
	P	! M	P	M	P	М	P	М	1	2
PpI	_	! ! –	! ! –	! –	! ! –	! - !	_	! - !	_	<b>–</b>
PpII	_	! -	! ! –	! ! —	! ! <b>-</b>	: ! - !	-	-	-	-
PpIII	_	! -	: ! –	: !	: ! –	! – !	_	_	-	; ! ;
PpIV	_	! - !	: ! –	: ! !	: ! –	<u> </u>	_	! - !	-	
PpV <sub>1</sub>	_	! -	: ! -	: ! !	: ! – !	: ! — !	-	! - !	_	+
V <sub>p</sub> V <sub>2</sub>	-	! ! !	! !	: ! !	: ! !	! ! !	-	-	<u>+</u>	_
Temoins		+	!	+		<del>!</del> -		+		

Tableau 5 : Confrontation des souches "Papaye" avec des Glomerella.

Légende :

P = "PLUS"

M = "MINUS"

- = pas de périthèce au contact des deux thalles

± = présence de quelques périthèces

+ = formation d'un bourrelet de périthèces

NB : les témoins représentent les confrontations entre "PLUS" et "MINUS" du même Glomerella.

Tandis que la confrontation des formes "PLUS" et "MINUS" du même Glomerella présente de nombreux périthèces isolés ou rassemblés en glomérules au contact des deux thalles, rien ne se passe lors de la rencontre de ces formes avec les souches "Papaye". Peutêtre est-ce l'effet d'une barrière de reproduction entre souche d'origine différente. Peut-être, et cela est plus vraisemblable, est-ce le fait que les souches "Papaye" sont des Colletotrichum incapables de former des fructifications sexuées.

# b) - Confrontation de souches Glomerella entre elles.

Les semis de type "PLUS" et "MINUS" d'une même souche sont disposés en face de semis "MINUS" et "PLUS" d'une autre ; nous avons ainsi dans la même boîte les confrontations entre <u>Glomerella</u> différents et identiques. Les observations effectuées à l'issue de deux semaines sont consigmées dans le tableau 6.

	! - !	Glomerella "PLUS"						
	! - !	AgII Ce Fv CfI						
!	AgII	+		+	-			
Glomerella	Ce		+	-				
"MINUS"	Fv	+		+	<b>-</b>			
<u>!</u>	CfI	_	_	-	+			

Tableau 6 : Résultat des confrontations entre souches Glomerella à l'issue de deux semaines.

#### Légende:

- + = Présence de bourrelet périthécial au contact des 2 thalles
- = Absence de bourrelet périthécial.

L'existence de complémentation entre les "MINUS" et "PLUS" de Fv et AgII est donc mise en évidence. Etant donné que ces deux Glomerella ne peuvent être différentiés morphologiquement, il faudrait les marquer différemment afin d'étudier la fertilité des hybrides éventuellement formés à leur contact. L'absence d'isolement sexuel entre ces deux souche conduirait à conclure qu'elles appartiennent à la même espèce, malgré la nature différente des organes et des plantes d'où elles ont été prélevées.

Par contre, l'absence de complémentation entre les autres souches ne permet pas de conclure qu'elles appartiennent à des unités spécifiques différentes. En effet, l'impossibilité de croisement n'est pas un critère universel dans la définition de telles unités, puisque les exemples d'incompatibilités entre souches de même espèce sont connues chez d'autres champignons. L'utilisation de la technique appliquée précédemment pour observer les figures d'anastomose entre mutants auxotrophes de Colletotrichum lagenarium devrait permettre, ici, de savoir si cette absence de complémentation est liée à l'impossibilité pour les souches de s'anastomoser.

# C - Conclusion à l'étude morphologique.

Les critères morphologiques apparemment stables chez les champignons isolés de lésions d'anthracnose en Côte d'Ivoire sont réunis dans le tableau 7.

Mycélium	Périthèces	Acervules	Autres caractères	Conclusion : groupes morphologiques
! ! !	!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!	! ! !	Petits acervules	Br, PpI, PpII, PpIII !PpIV, Agl <sub>II</sub> , Pt
! ! (-)	! ! !	! ! !	! !Gros acervules !	Rz <b>–</b> To
! !	! ! -	! ! +	Stroma	Mc - Bn
! !	1 1	! !		Mg - Hv - CfII - Si
! ! !	! ! !	! ! !	Croissance rela- tivement faible	! ! Kf !
! ! (+)	! !	! –		CsI - CsII
! !	!			Ig
! !	! +		Complémentation	AgII - Fv
!	! !	!		Ce - PpV - CfI

Tableau 7: Regroupement des agents d'anthracnose étudiés sur la base de l'observation macroscopique de leur morphologie sur des cultures de 10 à 14 jours sur milieu avoine gélosé à 25°C ± 2.

#### Légende:

- 1°) Mycélium :
  - (+) = mycélium visible ; (-) = mycélium non apparent
- 2°) Périthèces et Acervules
  - + = présence ; = absence.

Ces observations conduisent donc à caractériser 9 groupes morphologiques, à l'intérieur desquels on peut difficilement distinguer les souches les unes des autres. Il nous faut à présent déterminer l'aptitude parasitaire des champignons de ces groupes.

## III - COMPORTEMENT PARASITAIRE DES SOUCHES.

### A - Etude de leur pouvoir pathogène sur fruits

#### 10 - Technique d'inoculation

Nous nous sommes inspirés de la technique utilisée par FROSSARD (1970) pour étudier l'anthracnose de la Banane.

La surface des fruits est désinfectée avec du coton imbibé d'une solution de chlorure mercurique à 0,1 % puis soigneusement rincée à l'eau stérile. Une à deux gouttes d'une suspension conidienne de 1 à 2 106 spores par ml. sont déposées sur des blessures effectuées à l'aide d'un emporte pièce de 6 mm de diamètre. Des dépôts sans blessure sont réalisés parallèlement. L'incubation a lieu à 25°C ± 2, sous une cloche de verre où une humidité saturante est maintenue par du coton imbibé d'eau.

Des tests ont été ainsi effectués sur des fruits d'Aubergine (variété longue violette) d'Aubergine locale (variété N'Drowa) de Poivron (variété Yellow Wonder) de Papaye et de Tomate. Les fruits d'Aubergine "longue violette" d'Aubergine locale, de Poivron et de Tomate provenaient de cultures en fin de production. Ceux de Papaye ont été récoltés immatures, sur des pieds isolés.

# 2º- Résultats et discussion

Les symptômes, lorsqu'ils se manifestent, se caractérisent par des macules rondes ou allongées, affaissées, brunâtres puis noires, couvertes d'acervules en nombre variables. Les résultats obtenus au bout d'une semaine d'incubation sont réunis dans le tableau 8.

Souches testées	! !		Hôte uti	lisé	
! testees	Aubergine	Papaye	Tomate	Poivron	AGL
Rz	(+)		! (+)	-	_
Mg	! (+)	(+)	! (+)	! -	. –
Ce	-	х	x	i x	x
! Hv	! (+)	(+)	! -	! (+)	! -
Br	(+)	x	<u>.</u> –	(+)	x
! Si	! (+)	! (+)	! (+)	! (+)	! x
Kf	(+)	(+)	(+)	(+)	x
! PpI	! -	-	! -	! x	! x
P <sub>p</sub> II	-	-	(+)	! x	! x !
P <sub>p</sub> III	(+)	(+)	-	! x	. x
PpIV	_	+	-	-	x
P <sub>p</sub> v <sub>1</sub>	! ! —	(+)	-	! ! –	! ! x
P <sub>p</sub> v <sub>2</sub>	-	(+)	! (+)	! ! (+)	x
! Agl <sub>II</sub>	! ! –	-	! (+)	! ! –	! ! – !
AgII	(+)	(+)	(+)	! -	_
! Bn	! - !	x	! x	! x	! x
! Mc	! -		: ! —	! ! (+)	: ! – !
! Pt	(+)	x	! (+)	! –	; - ;
! To	<u> </u>	(+)	<u> </u>	! (+)	! !

Tableau 8 : Résultats des tests sur fruits, après blessure de l'épiderme.

Légende:

(+) = symptômes

- = pas de symptômes

x = non testé

AGL = Aubergine locale

Nous avons pu constater que les blessures sont nécessaires à la formation de lésions d'anthracnose par les souches pathogènes. Toutefois, sur les jeunes fruits de Papaye, quelques jours après le dépôt des gouttes de suspension conidienne sans blessure, il apparait une sécretion de substance laiteuse se solidifiant au contact de l'air, ce qui atteste la penétration des souches Rz, Mg et Si; en effet, la moindre blessure à la surface des fruits verts de Papaye provoque ce type de sécrétion. Le fait que les souches pathogènes ne le sont en général qu'après blessure suggère qu'elles ne peuvent pas d'elles mêmes, vaincre les barrières mécaniques constituées par l'épiderme des fruits.

Toutes les souches n'ayant pas pu être testées sur tous les hôtes, nous ne pouvons pas établir de comparaison de leur pouvoir pathogène. Cependant, tels qu'ils se présentent, les résultats conduisent aux remarques suivantes :

- Si l'on se refère à l'étendue de la gamme d'hôtes attaqués,  $S_i$  et Kf apparaissent les plus polyphages. Par contre  $P_pI$  et  $P_pIV$  ne semblent pathogène sur aucun fruit.
- Les souches "Papaye" provocant des symptômes sur fruits sont celles qui avaient été isolées de cet organe, ce qui traduit peut- être une spécialisation parasitaire de ces champignons. Il pourrait en être de même de la souche To isolée de lésions sur tige et qui n'apparaît pas pathogène sur fruit de Tomate.
- On observe une plus grande polyphagie de la souche  $P_pV$  de forme "MINUS" que celle de forme "PLUS".

Cependant, les résultats obtenus dans certains de ces tests sont bien souvent délicats à interpréter, en raison des difficultés que nous avons eues à maintenir les fruits longtemps en survie. La décomposition rapide des Tomates mûres, le nombre très limité des fruits d'Aubergine locale et de Poivron, font qu'il faut prendre les résultats obtenus chez ces 3 hôtes avec réserve. Ils mériteraient d'être vérifiées sur des fruits non mûrs avec suffisamment de répétitions.

Ce qui nous intéressait en premier lieu, c'était la détermination de l'étendue du spectre de pathogénie des différentes souches. Il serait cependant intéressant d'établir leur degré d'agressivité, en tenant compte du pourcentage de fruits attaqués, du diamètre des macules, etc.... Pour cela, il faudrait pouvoir disposer de fruits homogènes en grande quantité.

#### B - Etude du pouvoir pathogène sur plantules.

#### 1º - Matériel utilisé

Nos tests portent sur des plantules de <u>Vigna sinensis</u>, d'Igname (issues de graine) de Papaye de Melon et de Cornichon. Les deux premières espèces d'hôte nous ont été fournies par le laboratoire de Virologie; les plantules de Papaye proviennent de graines fraichement récoltées. Les 3 variétés de Melon (les Cantaloup Doublon, Orlinabel et Ido) ont été obtenues à partir de semences des "Graines d'élite" Clause, et les 2 Cornichons (Vert long et Vert petit de Paris) viennent de la Société "SIMON".

#### 2º - Test de plantules cultivées sur terreau.

Des suspensions conidiennes de 1 à 2 106 spores par ml. sont étalées sur les feuilles de jeunes plantules avec ou sans blessure. Ces plantules, abritées par des cages plastiques perforées sont mises à incuber en chambre climatisée réglée à 27° sous éclairement continu; un brumificateur assure une atmosphère saturée d'humidité sans interruption les trois premiers jours qui suivent l'inoculation, puis pendant deux à trois heures tous les jours suivants.

Les tests réalisés sur des plantules de Melon (les Cantaloup Doublon Orlinabel et Ido) de Cornichon vert petit de Paris, d'Igname, de Papaye et de <u>Vigna sinensis</u> n'ont permis de déceler aucune lésion caractéristique d'anthracnose (c'est-à-dire des macules portant des acervules) même après deux semaines d'incubation. Il apparait donc que dans les conditions expérimentales utilisées, les différentes souches n'ont pas de pouvoir pathogène sur les hôtes testés.

En l'absence de <u>Colletotrichum lagenarium</u> dont le pouvoir pathogène est connu sur le Melon et le Cornichon, nous ne pouvons pas savoir si cette absence de lésion est due aux conditions expérimentales ou à l'avirulence des souches. En effet, trois facteurs concourent à la réalisation d'une maladie : la pathogénie du parasite, la sensibilité de l'hôte et l'environnement. En ce qui concerne le comportement de l'hôte, on doit à J.C. WALKER la définition de deux types de résistance des plantes aux maladies :

- Un type à hérédité simple (gènes dominants) qui possède une efficacité totale quel que soit l'âge des plantules et l'environnement.
- Un type à hérédité complexe, de nature polygénique, qui est exprimé seulement par des plantes poussant dans de bonnes conditions et en présence d'un inoculum peu important.

Ce sont les résistances dites verticales et horizontales (VAN DER PLANK, 1968).

Dans le cas qui nous intéresse, le déssèchement rapide de la chambre d'incubation chaque fois qu'on arrête l'humidificateur conduit à penser que les souches, même pathogènes, ne se trouvent pas dans une condition favorable à la manifestation de leur pouvoir pathogène. Il est possible aussi que les hôtes testés soient résistants aux agents d'anthracnose utilisés.

Devant cette absence de pathogénie des différents champignons, nous nous sommes orientés vers des tests sur des plantules cultivées en tube, sur milieu synthétique puisque, ainsi que nous l'avions observé lors de l'étude du pouvoir pathogène de Colletrotrichum lagenarium, cette technique permet d'obtenir des lésions plus importantes que dans le cas des tests de plantules cultivées sur terreau.

## 3° - Test de plantules cultivées sur milieu synthétique.

### a) - Technique d'inoculation

La méthode employée dans la première section est appliquée ici pour déterminer le pouvoir pathogène des souches sur des plantules de Melon et de Cornichon. Nous la rappelons brièvement :

Les graines prégermées sont repiquées dans des tubes contenant un milieu synthétique gélosé à base de sels minéraux. Les plantules obtenues sont inoculées au stade une ou deux feuilles en étalant sur les organes aériens une suspension conidienne. Dans le cas présent des suspensions de l'ordre de 1,5 106 spores par ml. ont été utilisées à raison de 0,5 ml environ par plantule. Les essais sont maintenus en chambre climatisée reglée à 27°C dans les conditions identiques à celles employées pour les tests des plantules sur terreau.

Nous avons pu observer que sur le milieu synthétique, des plantules de Poivron Yellow Wonder pouvaient se développer à partir de graines prégermées. Des boutures de jeunes rameaux d'Igname portant une feuille pouvaient aussi y être maintenues en survie et démarrer au bout d'une dizaine de jours. Cependant, le nombre réduit des essais réalisés ne nous ont pas permis de déterminer le pouvoir pathogène des différentes souches sur ces plantules.

### b) - Résultats et discussion

Les symptômes, observés débutent généralement par un jaunissement des organes aériens atteints, qui évolueen taches nécrotiques brun clair devenant brun sombre. Un examen à la loupe binoculaire des lésions révèle la présence de quelques acervules.

Si l'on considère l'aspect qualitatif du pouvoir pathogène des souches utilisées, c'est-à-dire la présence ou l'absence de taches portant des fructifications sur un ou plusieurs essais d'un lot de 4 plantules, on obtient les résultats reunis dans le tableau 9 au bout d'une semaine d'incubation.

Hôtes		MELON	" CORNICHON		
Souches	D	0	I	" AT	! VP
Rz Mg Ce Hv Br Si Kf PII PIV PV AgII Bn CfI CfII Pt To	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	+ + + + + + - + - + - + + + + +	-+-++ ++	# + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	+ + + + + + + + + + + + + + + + + + +

Tableau 9 : Aspect qualitatif du pouvoir pathogène sur des plantules cultivées sur milieu synthétique.

#### Légende:

- + = présence de symptômes ; = absence de symptômes D = Cantaloup Doublon ; O = Cantaloup Orlinabel
- I = Cantaloup Ido ; VL = Vert long de Paris VP = Vert petit de Paris.

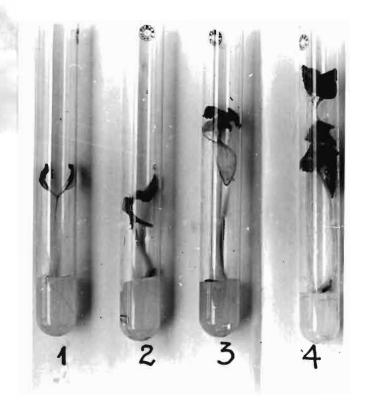


Photo nº2

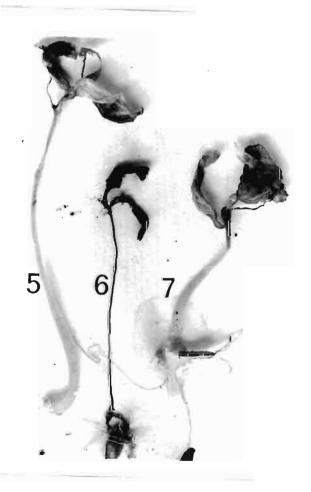


Photo nº3

Plantules de Cornichon cultivées sur milieu synthétique. (Les photographies ont été effectuées 2 semaines après l'inoculation, soit 3 semaines après le repiquage en tube des graines prégermées).

1, 2, 3, 5, 6, 7 = plantules inoculées présentant des symptômes à des degrés divers

4 = plantule témoin.

Les plantules 5, 6 et 7 ont été extraites de leurs tubes.

Ces résultats permettent de constater une identité de comportement des deux variétés de Cornichon, tandis que chez le Melon les Cantaloup Doublon et Orlinabel, sensibles aux mêmes souches, sont attaquées par un plus grand nombre de parasites que Cantaloup Ido. Par conséquent, si l'on souhaite établir une gamme d'hôte de façon à différentier les agents d'anthracnose, il serait préférable de n'utiliser qu'un seul des hôtes dont le comportement est identique et de compléter la gamme avec d'autres variétés.

D'une manière générale, les souches à spectre d'hôtes attaquées étendu sur les plantules sont celles qui ont été isolées de lésions sur feuille, tige ou rameaux. Ceci est peut-être lié à une spécialisation parasitaire des pathogènes à un type d'organe.

Enfin, ce spectre d'hôtes permet de classer les agents d'anthracnose testés dans quatre groupes :

I/ : Mg, Hv, Br, Si, Pt, To, virulents pour tous les hôtes,

II/ : Rz, Ce, AgII, CfI,  $P_p$ II avirulents dans le cas d'Ido,

III/: Kf, Cf<sub>II</sub>, P<sub>p</sub>IV, P<sub>p</sub>V, virulents seulement pour les deux variétés de Cornichon,

IV/ : Mc, Bp totalement avirulents.

Cependant, ce regroupement s'avère incomplet, car les différentes souches manifestent leur pouvoir pathogène avec des intensités différentes. C'est pourquoi nous avons quantifié les symptômes sur la base de l'indice d'agressivité (I) mise au point dans la première section concernant le Colletotrichum lagenarium:

I = Somme des degrés d'atteinte

Nombre total d'organes

Les résultats quantifiés, réunis dans le tableau 10 représentent la moyenne des indices sur des lots de 6, 8 ou 10 plantules.

Souch	es	Ir	ndice sur Me	elon	Indice	
Nom	G.S	D	0	I	" VL	VP
Mg }	!	0,3	0,1	0,1	", 1,1	0,5
Hv		5	3,9	1,1	" 3,8	3,8
Br }	I !	0,2	1 <b>,</b> 4	0,1	" 2,3	3 <b>,</b> 7
! Si }	!	0,2	0,2	0,1	" 3	3
Pt }	!	4,8	4,8	1,3	, 4,6	4,7
! To }	!	4,1	3,6	! 0 <b>,</b> 5	" 2,3	0,6
Ce	} !	0,1	0,1	0	" O,5	0,2
P <sub>p</sub> II	}	3,3	3	0	4,8	2,2
AgII	} II	0,3	0,1	0	" 0,4	0,5
CfI	{	0,1	0,1	0	" 0,6	1 <b>,</b> 5
! Rz	}	1,8	1,9	. 0	" 0,5	0,7
Kf	}	0	0	0	0,4	0,9
PpIV	}	0	0	0	4,2	2,1
P <sub>p</sub> V	) III )	0	0	0	.,7	0,7
: ! CfII !	}	0	0	0	" 0,5	0,6
Me	) ;	0	0	0	<b>"</b> 0	0
Bn	) IV	0	0	0	" O	0

Tableau 10 : Aspect quantitatif du pouvoir pathogène des souches sur des plantules cultivées sur milieu synthétique.

#### Légende:

GS = groupes à spectre d'hôte semblable

D = Cantaloup Doublon; O = Cantaloup Orlinabel
I = Cantaloup Ido; VL = Vert long de Paris

VP = Vert petīt de Paris.

NB : Les lectures ont été effectuées au bout d'une semaine d'incubation à 27°C sous éclairement continu.

Sur la base de la gravité des lésions, il apparait deux types de souches pathogènes : celles qui, principalement sur les Canta-loup Doublon et Orlinabel, possèdent un indice d'agressivité égal ou supérieur à 3 et celles pour lesquelles il est inférieur à 2. On constate en outre que les souches qui manifestent la plus forte agressivité sur les plantules (à l'exception de PpIV sur Cornichon) sont celles qui ont été prélevées de feuilles, tiges et rameaux ; celles qui proviennent de lésions sur fruits manifestent une faible agressivité.

Par ailleurs, c'est sur Ido, resistante au plus grand nombre de souches, que les symptômes sont les moins apparents.

Les valeurs obtenues avec les indices d'agressivité confirment les résultats observés lors de l'étude qualitative.

- une grande sensibilité des deux variétés de Cornichon
- une sensibilité unalogue des Melon Doublon et Orlinabel, et une relative résistance de Cantaloup Ido
- enfin une spécialisation parasitaire.

En nous basant sur l'indice d'agressivité, nous avons comparé, chez Mg et Hv, le pouvoir pathogène d'un inoculum de 1,7 106 conidies par ml. provenant d'une culture de ces souches sur milieu avoine gélosé, à celui d'un inoculum de même concentration réalisé à partir de fructifications développées sur des plantules de Cornichon "vert long". Les résultats obtenus au bout d'une semaine d'incubation à 27°C sous éclairement continu, sont réunis dans le tableau 11.

Souches	Н	[v	!	Mg		
Cornichons	E	R	! ! E	! ! R		
Vert long	3,8	5	1,1	2,8		
Vert petit	3,8	! 4	0,5	3,7		

Tableau 11 : Effet de l'origine de l'inoculum sur la gravité des symptômes.

#### Légende :

E = inoculum provenant de culture sur avoine gélosé R = inoculum provenant des lésions sur Cornichon.

NB: les valeurs consignées dans ce tableau constituent la moyenne des indices d'agressivité sur des lots de 6 à 8 plantules. Ces résultats montrent que le passage sur l'hôte semble augmenter l'agressivité des souches Hv et Mg sur Cornichon. Une situation analogue existe dans l'anthracnose du Caféier où NUTMAN et ROBERTS (1960) ont comparé le pouvoir infectueux de conidies provenant de baies mures et vertes et de cultures in vitro. Ils ont montré que l'inoculum de ce dernier type est le moins infectueux, celui issue de baies mures étant le plus infectueux.

Cependant, en l'absence de répétition, il ne nous a pas semblé rigoureux de procéder dans ces tests, à une analyse statistique qui permettait de connaître le degré de signification attribuée aux différences observées, et de classer les souches selon la moyenne de leurs indices d'agressivité. Ceci pourrait être intéressant afin de définir avec plus de précision, les différents éléments de la population parasite étudiée.

#### 4°- Remarques sur les tests de plantules. Conclusion.

L'observation, dans le cas de plantules cultivées sur milieu synthétique, de pouvoir pathogène de souches qui n'en possédaient pas sur les mêmes hôtes cultivées sur terreau peut s'expliquer par le fait que les agents d'anthracnose qui sont généralement des parasites de faiblesse, se trouvent confrontés à des hôtes peu vigoureux, donc possédant un faible niveau de résistance horizontale. Malgré cette réduction de résistance, on constate que le Cantaloup Ido est résistant à certaines souches qui sont cependant pathogènes sur les autres variétés de Melon. Il est donc possible que Ido possède un système de résistance non affecté ou faiblement affecté par les conditions qui réduisent la vigueur des plantules.

La possibilité de culture de Poivron et de boutures d'Igname sur milieu synthétique en tube suggère qu'on utilise cette technique pour tester ces plantes. Un élargissement de la gamme d'hôte permettra certainement de caractériser avec plus de précision les différents agents d'anthracnose suivant leur spectre d'hôte d'une part et suivant leur agressivité d'autre part. Ensuite, il faudra s'attacher à étudier ce qui se passerait dans le cas de plantules vigoureuses en améliorant la technique d'inoculation. Pour cela on pourra utiliser comme source d'inoculum les fructifications développées sur des plantules en tube, et réaliser les inoculations par pulvérisation fine d'une suspension conidienne puisque GONDRAN et MAINER-CASADO (1973) rapportent qu'un inoculum finement pulvérisé favorise l'infection de la luzerne avec Colletotrichum trifolii.

# IV - CONCLUSION.

L'étude des champignons de différentes origines, isolés de lésions d'anthracnose en Côte d'Ivoire a permis de les classer sur la base de l'observation macroscopique de leur aspect morphologique en culture in vitro. La caractérisation de leur pathogénie met en évidence le fait que certains peuvent posséder un pouvoir pathogène étendu au-delà des hôtes d'où ils proviennent, alors que d'autres se montrent avirulents. En rassemblant les résultats, il apparait qu'il n'y a pas de coïncidence étroite du comportement morphologique et de l'aptitude parasitaire, c'est-à-dire qu'une même unité morphologique peut inclure des souches dont le pouvoir pathogène est différent et inversement. En outre, ils confirment le fait que la description des unités spécifiques chez les Colletrotrichum (donc leur séparation ) suivant les hôtes où elles ont été trouvées ne repose pas sur l'idée d'unité biologique que comporte la notion d'espèce.

Le polyphytisme mis en évidence chez les parasites étudiés est sûrement lié à la nature des tests : usage de fruits blessés, de plantules à faible niveau de résistance horizontale. Mais ceci permet de se faire une idée du comportement pathogène de la population parasite dans les conditions favorisant l'anthracnose (environnement favorable au développement du champignon et baisse de la vigueur de l'hôte). Il est alors remarquable de constater que le Melon Cantaloup Ido est résistant à certaines souches qui sont cependant pathogènes sur les deux autres variétés de Melon; il est donc possible que Ido possède un système de résistance non affecté ou faiblement affecté par les conditions qui réduisent la vigueur des plantules.

L'absence d'isolement sexuel entre AgII et Fv demande à être confirmé. L'échec constaté dans les essais de confrontration des autres souches sexuées d'origine différentes incite à étudier les possibilités d'anastomose entre filaments mycéliens de ces souches, afin de préciser le degré de leur compatibilité à ce premier niveau. En outre, cette étude effectuée avec les <u>Colletotrichum</u>

de la population parasite, notamment entre les souches hautement pathogènes et celles qui le sont peu, devrait permettre d'envisager une analyse des bases génétiques du pouvoir pathogène selon l'optique définie dans la première section du présent rapport. Toutefois, la mise en évidence de pouvoir pathogène de <u>Glomerella</u> sur des plantules affaiblies et sur des fruits blessés, permet d'envisager, dans ces cas précis, l'analyse génétique classique de leur virulence et de leur agressivité. La différence de pathogénie constatée entre "PLUS" et "MINUS" de la souche PpV conduit à étudier, dans l'avenir, chez les autres <u>Glomerella</u>, le pouvoir pathogène des deux formes de façon séparée.

#### TROISIEME SECTION

APERCU DE L'ETAT PHYTOSANITAIRE
DE QUELQUES CULTURES DU NORD ET DE L'OUEST DE LA COTE D'IVOIRE

Les observations qui suivent constituent un compte-rendu de deux tournées que nous avons effectuées au mois de juillet, avec l'équipe phytosanitaire du laboratoire de Phytopathologie du Centre ORSTOM d'Adiopodoumé.

## ARACHIDE

A Korhogo, nous avons observé deux types de lésions foliaires.

- 1º/- De petites taches brun noir (2 à 3 mm) sur la face supérieure des feuilles correspondent, sur la face inférieure, à des taches un peu plus étendues (4 à 5 mm), brun clair à roux; ces macules sont entourées d'un halo jaune et portent des touffes de fructifications éparses de <u>Cercospora arachidicola</u> sur les deux face du limbe.
- 2º/- Des spots bruns (2 à 3 mm) sur les deux faces de la feuille, et portant des conidiophores abondant disposés en cercles concentriques ou en touffes denses ; la morphologie des conidiophores et des conidies permettent de déterminer le Cercospora personata.

Ces deux espèces de <u>Cercospora</u> se distinguent nettement par la forme des conidies : claires et effilées chez <u>C</u>. <u>arachidicola</u>, brune, courte cylindrique et arrondies aux deux extrémités chez <u>C</u>. <u>personata</u>.

A Waninou, seule la première espèce a été observée sur les feuilles d'arachide. En outre, quelques plants étaient atteints d'une maladie probablement d'origine virale provoquant l'avortement des fleurs.

# AUBERGINE LOCALE (N'Drowa)

A Waninou, certaines feuilles présentent à la face supérieure des taches diffuses, jaune pâle, auxquelles correspondent, sur la face inférieure, des plages recouvertes d'un revêtement poudreux dû au mycéliumet aux conidies d'un oïdium du genre Leveillula.

A la SOCIABE de Dabakala, quelques feuilles de cette plante présentent des taches brun rouge à centre gris et à contour mal délimité:, souvent coalescentes, dues à un Alternaria.

## AVOCATIER

Des dessèchements d'extrémités de rameaux ("Die back") ont été observés dans une plantation de la SOCIABE. Ils présentent des acervules dont nous avons isolé un <u>Colletotrichum</u> sp., et les pycnides d'un Botryodiplodia sp. .

### CANNE A SUCRE

Dans les champs expérimentaux de l'IRAT à Ferkéssedougou, les principales lésions observées sur feuille sont de trois types :

- Certains sont brunes à rougeâtre, plus ou moins confluentes, entourées d'un halo chlorotique, ressemblant au symptôme d'"eye spot" dûs à <u>Helminthosporium sacchari</u> (J. M. MARTIN, 1961). L'observation microscopique révèle la présence de conidiophore et conidies d'Helminthosporium.
- D'autres sont brunes, irrégulières, entourant une zone plus claire et correspondent à des attaques de Cercospora.
- Enfin des taches brun rougeatre, débutant au bord de la feuille et se retrécissant vers la nervure caractérisent une attaque de Cercospora acerosa.

## CROTON

Ces plantes ornementales, à la Station IRAT de Ferkessedougou, présentent, sur leurs feuilles, de taches grisâtres, fortement déprimées, desséchées et souvent déchirées, entourées d'un liseré brun. Ces feuilles, placées en chambre humide, laissent apparaître de nombreuses acervules en marge des taches, dont nous avons isolé un Colletotrichum sp.

### MANGUIER

A Waninou, nous avons observe de larges taches brun chocolat, plus foncées sur les jeunes feuilles que sur les vieilles et limitées par une mince ligne brun sombre à noir, caractéristiques de l'anthracnose. Les lésions mises en chambre humide présentent de rares acervules de Colletotrichum et surtout de nombreuses pycnides réniformes, inoperculées, à membrane coriacée, jaune orangé à brun plus ou moins sombre, ornementées de soies de 10 à 20 µ de long. Les isolements effectués sur milieu à l'extrait de malt gélosé montrent des pycnides dont les plus grosses ont une taille de l'ordre de 400  $\mu$  x 300  $\mu$  . Ecrasées entre lame et lamelle, elles libèrent une une masse liée de petites conidies hyalines de 5,5  $\mu$ 2,8 µ de taille moyenne. La nature des pycnides (superficielles, bien développées, inoperculées, non enfermées dans un stroma) et la morphologie des conidies (hyalines, cylindriques à extrémités arrondies) caractérisent le genre Chaetophoma, Sphaeropsidale de la famille des Sphaerioïdacées hyalosporées (ROGER, 1953).

A la SODEFEL de Ferkessedougou, des cas d'anthracnose sur feuilles et de "Die back" sur rameaux ont été observés plus particulièrement sur les pieds au feuillage jauni, affaiblis soit par une déficience ou un trouble physiologique, soit par la présence de termites au voisinage des racines. Ces "Die back" et ces lésions sur feuilles ont présenté, en chambre humide, des acervules dont nous avons isolé un Colletotrichum sp. .

Dans une plantation de la sortie est de Korhogo, des cas d'anthracnose sur feuille et de "Die back" sur rameaux ont été observés. Ces organes, principalement les rameaux, présentent outre les fructifications de <u>Colletotrichum</u>, des acervules de <u>Pestalozzia</u> noirs, situés sous l'épiderme ou qui, ayant déchiré l'épiderme laissent apparaître des spores pluricellulaires brunes, portant 2 à 4 cils. La morphologie de ces conidies (3 brunes au centre ét deux hyalines aux extrémités, taille moyenne de 20  $\mu$  x 7  $\mu$ ) et la nature de l'hôte sur lequel se trouve ce champignon suggèrent qu'il pourrait s'agir du <u>P. funerea</u> ou du <u>P. mangiferae</u> (ROGER, 1953).

## PIMENT

A Waninou, nous avons observé deux petites parcelles distantes d'un mètre et comportant deux variétés locales caractérisées l'une par ses fruits sains tombants, l'autre par ses fruits dressés atteints d'anthracnose : taches brunes à noires, circulaires ou allongées dans le sens de l'axe du fruit, présentant des acervules noirs dont il a été isolé un Colletotrichum, probablement le C. nigrum . Etant donné la proximité des deux parcelles et le fait que nous nous trouvions en raison de pluies favorables à la dissémination des organes infectueux du Colletotrichum, l'absence de lésion sur les fruits tombants suggère que cette variété est résistante à l'anthracnose.

## POIREAU

A la SOCIABE, quelques feuilles présentent des taches grises, zonées, ovales, recouvertes d'un feutrage sombre constitué par les conidiophores et conidies d'Alternaria pori. D'autres taches plus sombres, non zonées et moins étendues que les précédentes, portent des acervules d'un Vermicularia sp. en plus du feutrage de conidiophores et conidies d'A. pori.

## POIVRON

Sur les feuilles apparaissent des taches grisâtres, ovales ou circulaires, bien délimitées entourées d'un halo jaune, correspondant à une attaque de Cercospora, probablement le C. capsici.

## TOMATE

Toujours à la SOCIABE, deux grandes parcelles en pleine production dévastées par <u>Alternaria</u> solani et <u>Stemphyllum</u>. Ce fut la seule attaque sérieuse que nous avons eue à remarquer au cours des deux tournées.

BIBLIOGRAPHIE

- BOISSON, C. (1965). Note sur la pathologie des cultures maraîchères en Côte d'Ivoire. Rapp. Dactyl. ORSTOM, Adiopodoumé, 25 pp.
- BOISSON, C. (1972). Examen phytosanitaire des cultures maraîchères de la SOCIABE à Dabakala. Rapp. dactyl. ORSTOM, Adiopodou-mé, 14 pp.
- BOISSON, C. et M. LOURD (1972). Etat phytosanitaire des cultures maraîchères de la SODEFEL. Rapp. dactyl. ORSTOM, Adiopodoumé, 15 pp.
- CHEVAUGEON, J. (1956). Les maladies cryptogamiques du manioc en Afrique Occidentale. 70-78 Paul LECHEVALIER, Paris, 205 pp.
- FOLLIN, J.C. (1969). Sur les différentes formes de <u>Glomerella</u>

  Spaul. et Schr. et <u>Colletotrichum</u> Cda isolées du Cotonnier.
  - I Localisation et étude morphologique Cot. Fib. trop. 24 : 337-343
  - II Etude du pouvoir pathogène, premières conclusions Cot. Fib. trop. 24: 345-350
- FORD, E.J., J.A. BOURRET, W.C. SNYDER (1967). Biologic specialization in Calonectria (Fusarium) rigidiuscula in relation to green point gall of Cocoa. Phytopathology 57: 710-712.
- FROSSARD, P. (1970). Etude de la sensibilité des Bananes à l'anthracnose de blessure dûe au Colletotrichum musae (Berk et Curt) Arx.

  Mémoire DES Orsay 34 pp.
- GARBER, E.D., E.G. WYTTENBACH, T.S. DHILLON (1961).- Genetic of phytopathogenic fungi.

V Heterocaryons involving formae of <u>Fusarium</u> oxysporum.

<u>Amer. J. Bot.</u> 48: 325.

- GONDRAN, J., A. MAINER CASSADO (1973). Inoculation artificielle de la luzerne avec Colletotrichum trifolii Bain. et Essary. Classement de 19 cultivars de luzerne suivant leur résistance au parasite.

  Ann. Amélior. Plantes 23 (4): 367-379.
- LE GRAND-PERNOT Françoise et Cathérine GERLINGER (1974).- Création expérimentale de lignées pathogènes et sexuées à partir d'un Colletotrichum musae et d'un Glomerella cingulata Fruits 29: 181-189.
- MARTIN, J.P., E.V. ABBOTT, C.G. HUGHES (1961). Sugar-canne diseases of the world.

  Vol. 1: 166-178 ELSEVIER PUBLICHING COMPANY Amsterdam

  542 pp.
- NELSON, R.R. (1960). Evolution in sexuality and pathogenicity

  I. Interspecific crosses in the genus <u>Helminthosporium</u>.

  <u>Phytopathology</u> 50: 375-377.
- NUTMAN, F.J. and F.M. ROBERTS (1960). Investigation on a disease of <u>Coffea</u> arabica caused by a form of <u>Colletotrichum</u> coffeanum Noack.
  - I. Some factors affecting infection by the pathogen.

    Tans. Brit. mycol. Soc. 43 (3): 489-505
- RENARD, J.L. (1965). Les principaux champignons parasites de cultures maraîchères en Côte d'Ivoire.

  Rapp. dactyl. ORSTOM, Adiopodoumé. 54 pp.
- RESPLANDY, R., J. CHEVAUGEON, M. DELASSUS, M. LUC (1954). Première liste annotée de champignons parasites de plantes cultivées en Côte d'Ivoire.

Ann. Epiphyties  $\underline{1}$ ; 1-9, 40-43.

- ROGER, L. (1953). Phytopathologie des pays chauds. 3 Vol. Paul LECHEVALIER Paris.
- VAN DER PLANK, J.E. (1968). Disease resistance in Plants Academic Press Inc. 206 pp.