

L'antracnose des Cucurbitacées

III. Parasexualité chez le *Colletotrichum lagenarium*

(Pass.) Ell. et Hals.

Yacouba SERE*

avec la collaboration technique
de Françoise GRISOLLET

Résumé

Deux lignées du *C. lagenarium* ont été marquées par des mutations affectant leur morphologie, leur aptitude à produire des conidies, leur sensibilité à deux inhibiteurs (déhydroacétate de sodium, 2,6 dichloro, 4 nitroaniline), leurs capacités de biosynthèse. Incapables de croître séparément sur milieu minimum sans apport d'uracile pour l'une et de leucine pour l'autre, elles sont susceptibles de le faire lorsqu'elles sont confrontées dans des conditions qui autorisent la réalisation d'anastomoses. On peut alors extraire des cultures mixtes des lignées nouvelles, stables par isolements monoconidiens répétés, qui associent de diverses façons les caractères phénotypiques des deux lignées parentales. L'ensemble de l'expérimentation montre que certaines au moins de ces lignées nouvelles résultent vraisemblablement de l'accomplissement d'un cycle parasexuel et que ce phénomène, s'il est peu fréquent, arrive en revanche rapidement à son terme. Les conséquences de la recombinaison mitotique sont discutées dans le cadre de la lutte contre les maladies parasitaires par l'utilisation de la résistance génétique des hôtes et par le recours aux traitements chimiques.

Mots-clés : *Colletotrichum lagenarium* — Hétérocaryoses — Mutagenèse — Parasexualité — Résistance génétique.

Abstract

ANTHRACNOSE OF *Cucurbitaceae*. III. PARASEXUALITY IN *Colletotrichum lagenarium* (PASS.) ELL. ET HALS. Two strains of *C. lagenarium* were characterized by mutations concerning their morphology, their ability to produce conidia, their susceptibility to two inhibitors (sodium dehydro-acetate, 2,6 dichloro, 4 nitro-aniline) and their biosynthetic power. Although they cannot grow separately in a minimum medium without being supplied with uracil in one case and leucine in the other, they are, however, likely to grow under conditions which allow anastomoses to be made. Then, mixed and stable cultures can be extracted from new strains through successive mono-conidial isolations which give various combinations of the phenotypic features of the two parental strains. The whole experimentation shows that some of these new strains at least result from the probable achievement of a parasexual cycle and that this phenomenon, although it is rare, comes quickly to an end. The consequences from the mitotic recombination are discussed as part of the fight against parasitic diseases by using the genetic resistance of hosts and by applying chemical treatments.

Key words : *Colletotrichum lagenarium* — Heterocaryoses — Mutagenesis — Parasexuality — Genetic resistance.

Introduction

Le *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Hals. doit satisfaire à une première condition nécessaire pour l'initiation d'un cycle parasexuel :

des anastomoses se produisent entre mycéliums de génotypes différents et conduisent à des filaments dont quelques cellules recèlent au moins deux noyaux (SERE, 1981 b). Mais cette condition initiale n'est pas suffisante, le déroulement d'un cycle

* Laboratoire de Cryptogamie, Associé au C.N.R.S. (L.A. 115), Université de Paris-sud, 91 405 Orsay.

complet de recombinaison parasexuelle exige d'autres étapes : diploïdisation, échanges interchromosomiques, retour à l'état haploïde. Seule l'obtention de lignées nouvelles associant des caractères apportés par deux souches parentales fournirait la preuve de son intervention (PONTECORVO, 1956; BURNETT, 1975). C'est cet objectif qui est visé ici.

Matériel et méthodes

1 CHOIX DES SOUCHES PARENTALES

Ces souches doivent présenter plusieurs propriétés : être susceptibles de contracter des anastomoses, conférer à l'hétérocaryon qu'elles constituent un avantage sélectif vis-à-vis d'elles-mêmes, porter le plus grand nombre possible de caractères phénotypiques marqueurs différents pour accroître la probabilité de mise en évidence des phénotypes recombinants. Compte tenu de ces exigences, deux lignées auxotrophes compatibles ont été retenues parmi celles utilisées précédemment pour étudier l'hétérocaryose (SERE, 1981 b).

Le mutant 67-528 est reconnaissable à son thalle vert sombre et sa croissance lente sur extrait de malt, à sa pigmentation verte moins accusée sur bouillon d'avoine, à son incapacité à croître sur milieu minimum sans apport d'uracile ou des métabolites qui le précèdent dans la chaîne de biosynthèse de bases pyrimidiques. Enfin, il est résistant au déhydroacétate de sodium (0,3 g.l⁻¹) et au 2,6 dichloro, 4 nitroaniline (0,5 g.l⁻¹).

Le mutant 8-68 dérive de la même souche sauvage mais se distingue par sa croissance rapide et sa teinte gris verdâtre sur extrait de malt, par l'absence de croissance sur bouillon d'avoine non supplémenté en leucine, par l'apparition d'une coloration rosâtre sur ce dernier milieu ainsi complété, par sa double sensibilité aux actions inhibitrices du déhydroacétate de sodium (0,1 g.l⁻¹) et du 2,6 dichloro, 4 nitroaniline (0,3 g.l⁻¹).

D'autre part, à titre de contrôle, il a été fait usage du mutant auxotrophe T₄171 de *Glomerella cingulata* (Ston.) Sp. et Schr., incapable de former des anastomoses avec les deux précédents (SERE, 1981 b).

2 MILIEUX ET MODES DE CULTURE

Trois substrats nutritifs ont été constamment utilisés : extrait de malt gélosé, bouillon d'avoine gélosé et milieu minimum préparés comme il est indiqué dans une publication antérieure (SERE, 1981 b). Des inhibiteurs ont parfois été incorporés à l'extrait de malt : déhydroacétate de sodium

à raison de 0,3 mg.ml⁻¹. Sauf mention particulière, les cultures sont conduites à 26 °C et sous 60 % d'humidité relative.

La création et le maintien de l'état homocaryotique des souches sont effectués comme il a déjà été indiqué (SERE, 1981 a) par dispersion de conidies et prélèvement de microthalles.

Certains protocoles expérimentaux exigeaient l'isolement d'apex et de fragments de filaments. Pour écarter tout risque de prélever plusieurs extrémités d'hyphes à la fois, des cultures mères sont réalisées sur une fine couche de milieu minimum, supplémenté lorsqu'il est nécessaire. Après 2 à 4 jours dans ces conditions, les jeunes filaments sont suffisamment distants les uns des autres pour que l'ablation et le transfert un à un des apex soient aisés. L'isolement de fragments intercalaires de filaments mycéliens peut être effectué sur des thalles plus âgés à condition de les débarrasser au préalable de conidies par des lavages successifs à l'eau stérile sur des filtres en verre fritté (porosité n° 3).

3 SYNTHÈSE DES HÉTÉROCARYONS

Deux boutures provenant l'une de la lignée 67-528, l'autre de la lignée 8-68 sont semées face à face sur un film de cellulose (*Cellophane*) déposé au centre d'une boîte de Petri contenant le milieu minimum gélosé. Comme les boutures prises dans des cultures effectuées sur des substrats gélosés sont inévitablement prélevées avec une petite quantité des aliments sous-jacents, elles parviennent parfois à régénérer et à produire des thalles qui croissent suffisamment puisque les hyphes néoformées se rejoignent et sont à même de fusionner. Mais le plus souvent, il est nécessaire d'initier leur reprise de croissance en les plaçant 12 h sur bouillon de malt avant de les transporter sur le milieu minimum.

Trois types de vérifications de l'état hétérocaryotique ont été pratiqués pour distinguer les cas de prototrophie vraie par association de deux génomes dans un même protoplasme des cas où la croissance sur milieu minimum peut résulter d'autres phénomènes.

Pour écarter les cas de supplémentation réciproque des deux mutants par l'intermédiaire du substrat, il a été fait appel à deux procédés. D'une part, une membrane de cellulose a été interposée entre les deux boutures de manière à interdire la formation des ponts d'anastomose tout en autorisant les échanges de métabolites. D'autre part, chacun des deux mutants a été confronté avec la lignée T₄171 du *C. cingulata* qui est susceptible de corriger leurs déficiences par ses excréments mais qui ne peut se lier à elles par des anastomoses.

Enfin, pour évaluer la fréquence des cas de réversion de l'une ou l'autre des lignées vers la prototrophie et de sélection du révertant dans la zone d'interaction des deux microthalles, chacune des lignées est confrontée avec elle-même.

Le contrôle plus direct de la réalisation de systèmes hétérocaryotiques par dissociation et identification de leurs constituants s'est révélé impraticable. Les raisons en apparaîtront avec les résultats des expériences.

Résultats

La confrontation de chacun des deux mutants *67-528* et *8-68* avec lui-même sur le milieu minimum conduit souvent à la régénération d'un mycélium pauvre dont la croissance est bientôt stoppée.

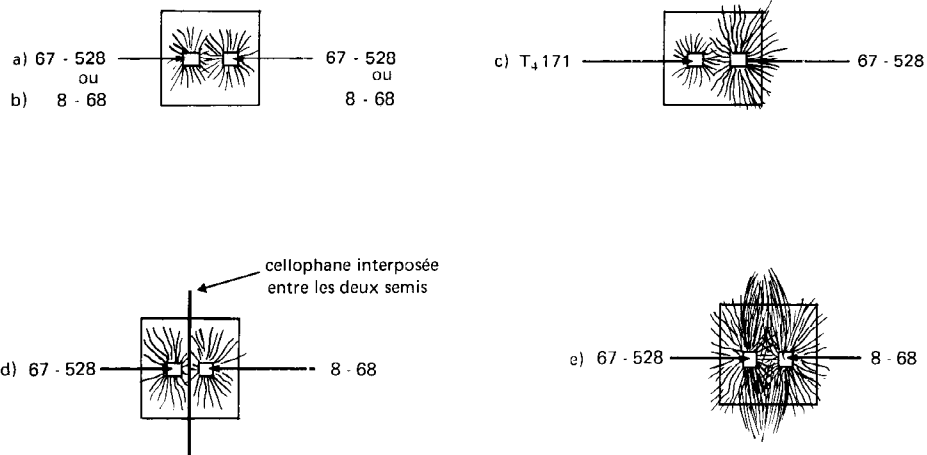


FIG. 1. — Confrontation sur milieu minimum de lignées mutantes auxotrophes du *C. lagenarium*. a, b : affrontement de deux boutures d'une même souche ; c : confrontation de lignées incapables de s'anastomoser ; d, e : confrontation de lignées auxotrophes complémentaires avec interdiction (d) ou liberté (e) des anastomoses.

La séparation des deux mutants *67-528* et *8-68* par une barrière perméable aux petits métabolites n'interdit pas totalement leur reprise de croissance sur milieu minimum (fig. 1 d) mais le développement des thalles demeure faible en comparaison de ce qui est observé lorsqu'ils sont libres de s'anastomoser (fig. 1 e). Dans cette dernière situation, l'interpénétration des deux thalles sur leurs marges est suivie de la formation de filaments nombreux et densément ramifiés, dirigés en majorité parallèlement à la ligne de rencontre.

Pour les quatre combinaisons *8-68/8-68*, *67-528/67-528*, *T₄171/67-528* et *67-528/8-68*, des boutures ont été prélevées sur les lignes de rencontre et déposées sur milieu minimum neuf. Seules les

En aucun cas, il n'a été constaté la formation de secteurs à croissance plus rapide et continue, ce qui témoigne de la faible fréquence des retours à la prototrophie de ces mutants, soit par prototrophie soit par démasquage d'une voie de remplacement de la chaîne de biosynthèse bloquée par la mutation (fig. 1, a et b).

La confrontation, dans les mêmes conditions de l'un ou l'autre de ces deux mutants avec la souche *T₄171* de *G. cingulata* ne conduit pas non plus au développement continu de thalles comparables à ceux observés sur milieu complet. Les boutures du mutant *67-528* émettent quelques hyphes qui se ramifient peu et cessent bientôt leur élongation (fig. 1 c). Les boutures *8-68* ne forment que de rares filaments qui demeurent à l'état d'ébauches.

boutures prises dans la plage dense formée entre les deux mutants auxotrophes compatibles *67-528* et *8-68* édifient des thalles qui atteignent 10 à 15 mm de diamètre et sont couverts d'un duvet blanchâtre semblable à celui de la souche originelle prototrophe cultivée dans les mêmes conditions.

À l'issue de deux semaines de culture, ces thalles présentent deux régions concentriques : un disque central qui conserve le duvet blanchâtre des cultures plus jeunes, un anneau périphérique de mycélium ras fait en majorité de filaments immergés dans le substrat. Les exigences nutritives de chacun des deux types mycéliens ont été comparées par des prises de boutures échelonnées sur leur diamètre.

Le mycelium provenant du disque central et de la région périphérique proche de ce disque reproduit, sur milieu minimum, les thalles prototrophes de départ et différencie une marge rase après deux semaines. Sur milieu minimum supplémenté soit par l'uracile, soit par la leucine, ce mycélium régénère des thalles fertiles : selon le complément ajouté au milieu minimum, les conidies appartiennent en majorité respectivement aux types 67-528 et 8-68.

Le mycélium pris dans la marge rase des thalles âgés de plus de deux semaines ne croît pas sur milieu minimum. Sur milieu supplémenté comme précédemment, il est fertile et les isoléments monoconidiens fournissent le plus souvent les deux types de mutants parentaux.

Malgré leurs morphologies différentes, les deux régions des thalles nés de la confrontation des lignées 67-528 et 8-68 hébergent donc les deux types nucléaires originels. Pour en analyser plus complètement la constitution génétique, des apex d'hyphes et des fragments mycéliens intercalaires ont été mis individuellement en culture.

Sur 142 apex pris, sous le microscope stéréoscopique, en bordure de cultures âgées de 24, 48 et 78 heures et déposés sur milieu minimum, un seul a poursuivi sa croissance et construit un mycélium ras, très semblable à celui de la zone périphérique des thalles précédents. Ce caractère est demeuré stable au cours de nombreux clonages monoconidiens successifs. Ce mycélium nouveau, prototrophe, est donc très probablement homo-

caryote. La lignée nouvelle (RM_0) est résistante au déhydroacétate de sodium et à la 2,6 dichloro, 4 nitroaniline, comme la lignée parentale 67-528 (tabl. I). Elle s'en distingue (fig. 2) par sa morphologie propre sur extrait de malt : verdâtre avec des éléments superficiels feutrés et gris, faiblement conidiogène, et non pas vert sombre et produisant des conidies en abondance. Sa vitesse de croissance, plus élevée que celle du parent 67-528 et la rareté des acervules, l'apparente en revanche au mutant 8-68.

Parallèlement aux prélèvements d'apex dans la marge, plusieurs centaines de fragments intercalaires ont été pris au centre et semés un à un sur les divers milieux. Pour comparaison, la même expérience a été réalisée avec des cultures de chacune des deux lignées parentales : elle n'a fourni que des thalles identiques à celui du parent. En revanche, si la majorité des fragments provenant d'une confrontation conduit à une descendance de l'un ou l'autre type parental, quelques descendants présentent des caractères nouveaux. Certains, sur extrait de malt, sont vert sombre comme le mutant 67-528 mais s'en distinguent par leur croissance radiale nettement plus lente. D'autres produisent des filaments aériens abondants entremêlés en un feutrage gris teinté de vert. Quatre d'entre eux ont été plus complètement comparés aux deux lignées parentales.

Pour ce faire, ces quatre descendants de fragments d'hyphes nés de confrontations mixtes et deux descendants issus de fragments pris dans des confrontations témoins uniparentales, sont bouturés sur extrait de malt ou bouillon d'avoine où

TABLEAU I

Caractères phénotypiques des lignées parentales et des lignées nouvelles

		Aspects cultureux sur malt	Déficiences	Résistances aux inhibiteurs	
				DHA 0,3 mg.ml ⁻¹	DCNA 0,5 mg.ml ⁻¹
Lignées parentales	67-528	VSR a ⁺	uracile	+	+
	8-68	VG a ⁻	leucine	—	—
Lignées nouvelles	RM0	VG a [±]	prototrophe	+	+
	RM1	VSL a ⁻	uracile	—	—
	RM1a	VSL a [±]	uracile	—	—
	RM2	GV a [±]	uracile	—	+
	RM3	VSR a ⁺	uracile	—	+
	RM4	VSR a ⁺	leucine	—	+

LÉGENDE. — Aspects cultureux : VSR : vert sombre, croissance rapide ; VSL : vert sombre, croissance plus lente ; VG : vert pâle et mycélium ras ; GV : verdâtre à feutrage gris ; a⁺ : fructifications abondantes ; a[±] : acervules peu nombreux ; a⁻ : pas de conidies. Résistance aux inhibiteurs : DHA : déhydroacétate de sodium ; DCNA : 2,6 dichloro, 4 nitroaniline ; + : croissance continue ; — : pas de croissance.

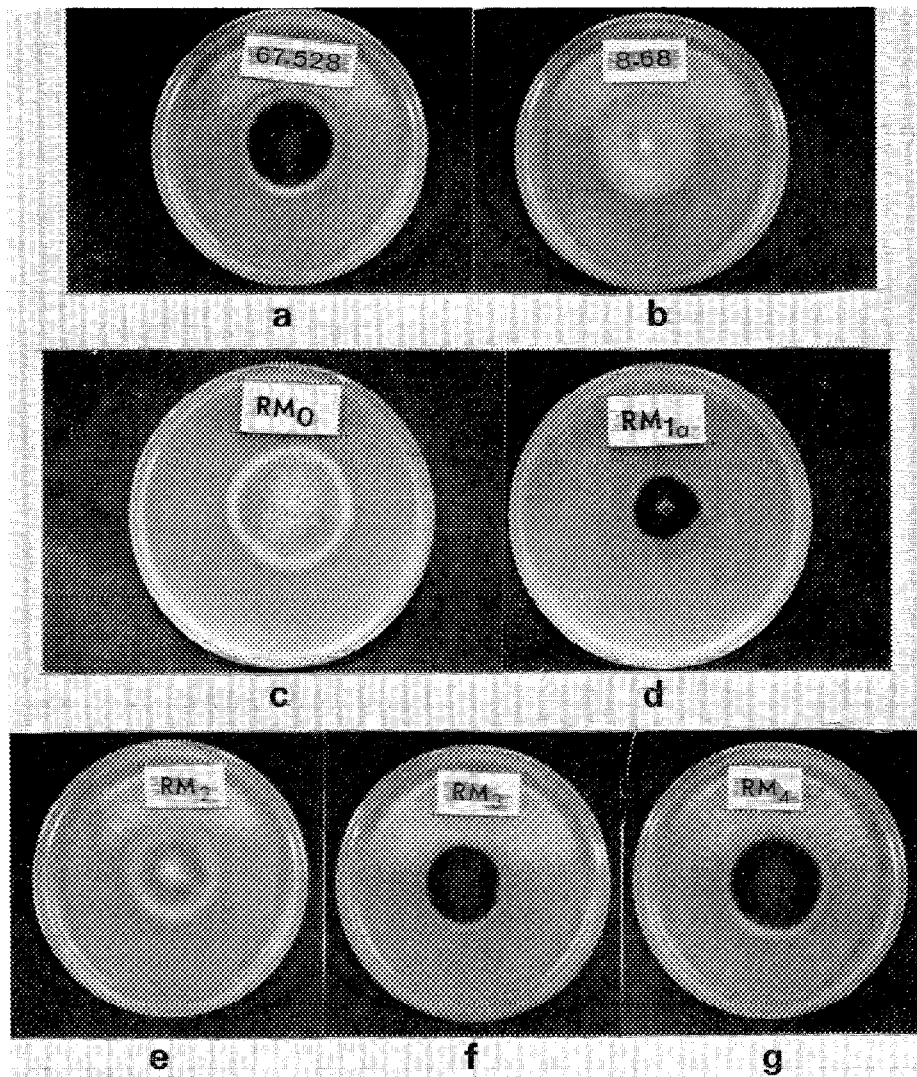


FIG. 2. — Aspect cultural sur extrait de malt gélosé des lignées parentales (67-528, 8-68) et de lignées nouvelles : prototrophe (RM_0), exigeantes en uracile (RM_1 , RM_2), en leucine (RM_4).

ils fructifient. L'isolement de conidies, qui sont uninucléées (SERE, *loc. cit.*), permet alors d'analyser leur constitution nucléaire (tabl. I).

Les lignées parentales, homocaryotiques à l'origine, demeurent stables dans leurs morphologies; elles conservent les auxotrophies et les comportements vis-à-vis des inhibiteurs qui les caractérisent. En revanche, la descendance des quatre fragments pris dans les cultures mixtes présente, outre les traits morphologiques déjà décrits (fig. 2), d'autres changements phénotypiques. Toutes sont auxotrophes pour l'uracile, comme le parent 67-528, mais deux lignées (RM_1 et RM_{1a}) manifestent la même sensibilité aux deux inhibiteurs que le parent 8-68

et deux (RM_2 et RM_3) ne sont sensibles qu'au déhydroacétate de sodium, ce qui les éloigne à la fois des deux lignées parentales. Perpétuées uniquement par des clonages monoconidiens, elles se montrent toutes parfaitement stables dans toutes les caractéristiques; elles sont donc, selon toute vraisemblance, à l'état homocaryote pour l'ensemble des caractères marqueurs.

Le délai nécessaire pour l'apparition de ces lignées nouvelles a été évalué au cours d'expériences complémentaires fondées sur la sensibilité de la lignée parentale 8-68 aux inhibiteurs: elle est incapable de la moindre croissance en présence de quantités de déhydroacétate de sodium même

réduites à 0,1 mg.ml⁻¹ ou de 2,6 dichloro, 4 nitro-aniline abaissées à 0,3 mg.ml⁻¹. Des boutures ont été prises sur la ligne de rencontre des deux parents en confrontation libre sur milieu minimum et transférées sur le milieu malté et gélosé auquel l'un ou l'autre des inhibiteurs a été incorporé.

En présence de déhydroacétate de sodium (0,3 mg.ml⁻¹), la croissance des cultures est comparable à celle de la lignée parentale résistante 67-528. Les fragments de mycélium, dès qu'il s'en forme, appartiennent en totalité à cette lignée. La pression de l'inhibiteur s'exerce donc très tôt et très fortement au désavantage du parent sensible 8-68.

En présence de 2,6 dichloro, 4 nitroaniline (0,5 mg.ml⁻¹), la croissance est plus lente au cours de la première semaine, puis il apparaît des secteurs qui s'étendent très rapidement. Dans ces secteurs, l'isolement d'hyphes et, après transfert sur malt, l'isolement de conidies ne révèlent que des noyaux du type 67-528. Du disque central, on peut extraire de la même façon, des éléments du génotype 67-528, auxotrophes pour l'uracile et résistants aux deux inhibiteurs, et des éléments de génotype 8-68 auxotrophes pour la leucine et doublement sensibles, mais on recueille aussi des constituants d'un type nouveau et unique (*RM₄*) : exigeant de la leucine comme le parent 8-68 et comme lui sensible au déhydroacétate de sodium mais résistant au second inhibiteur comme le parent 67-528 et de même morphologie que ce dernier sur extrait de malt (fig. 2). Ce phénotype nouveau est stable par isolement répété de conidies. De son côté, un témoin constitué par des paires de boutures 8-68 confrontées sur milieu minimum ne fournit que des mycéliums pauvres incapables de la moindre croissance sur l'extrait de malt contenant l'un ou l'autre des inhibiteurs.

Si la formation de la lignée nouvelle *RM₄* exige la coexistence des deux lignées parentales, cela implique qu'elle apparaisse au plus tard pendant la première semaine de culture sur malt en présence du dérivé de l'aniline. Mais l'absence de tout signe de reprise des boutures témoins 8-68 soumises à l'action de cet inhibiteur incite à penser que sa formation est probablement antérieure et doit intervenir au cours des trois jours de confrontation des deux lignées parentales sur le milieu minimum.

Discussion et conclusion

La croissance sur milieu minimum de thalles nés de l'affrontement de deux lignées déficientes pour des métabolites différents peut recevoir plusieurs explications.

Celles qu'on peut fonder sur une réversion phénotypique vers la prototrophie consécutive à des mutations ou à d'autres sortes d'adaptation qu'aurait subie l'une ou l'autre des lignées parentales sont rendues insoutenables par la parfaite stabilité de ces mêmes lignées lorsqu'elles sont cultivées séparément ou confrontées avec elles-mêmes à titre de témoins.

Une deuxième catégorie d'hypothèses explicatives peut être avancée : l'une des lignées parentales déficientes synthétise et libère le métabolite nécessaire à la croissance de l'autre et réciproquement. Mais lorsque les anastomoses sont empêchées entre mycéliums de génotypes différents, soit par une barrière perméable soit par l'incompatibilité du partenaire, il n'y a pas d'autre reprise des boutures que celle, très temporaire, permise par leur prétraitement sur milieu complet. Une correction des deux déficiences par l'intermédiaire du substrat apparaît, par conséquent, peu vraisemblable.

En revanche, la nécessité d'un contact étroit entre les partenaires pour obtenir leur croissance en culture mixte sur milieu minimum, peut signifier que la prototrophie de ces cultures est consécutive à la réalisation d'anastomoses entre elles et à la formation de cellules où les deux types nucléaires coopèrent au sein d'une même unité fonctionnelle. Rappelons que la formation de ponts d'anastomose entre les deux lignées parentales a été effectivement mise en évidence (SERE, 1981 b).

S'il en est bien ainsi, il faut noter que cette association hétérocaryotique ne semble pas stable. L'aspect des cultures mixtes change après une semaine à 26 °C sur milieu minimum, la croissance ralentit et le mycélium s'appauvrit, les hyphes des deux partenaires coexistent encore mais paraissent être simplement juxtaposées. Dans la zone centrale de ces mêmes cultures mixtes, la preuve absolue de l'existence de cellules hétérocaryotiques n'est pas apportée. Les apex pris individuellement et les fragments d'hyphes isolés régénèrent un mycélium qui exprime d'emblée les caractères de l'une ou l'autre des deux lignées parentales, ou bien qui exprime des caractéristiques nouvelles mais se montre alors indéfiniment stable, indissociable en éléments indépendants par semis de conidies uninucléées.

D'autres auteurs ont prouvé les mêmes difficultés pour isoler des cellules hétérocaryotiques, soit parce que les cellules du champignon sont normalement uninucléées (PUHALLA et MAYFIELD, 1974; GENOUESI et CLINT, 1976), ce qu'est le cas des souches de *C. lagenarium* étudiées ici, soit parce que les deux types nucléaires sont associés de façon fortement disproportionnée (DAVIS, 1966).

La fusion de cellules des deux partenaires en articles mixtes demeurent cependant l'hypothèse la plus plausible pour rendre compte de l'apparition

des lignées homocaryotiques nouvelles. La parfaite stabilité de l'ensemble des caractères phénotypiques marqueurs des lignées parentales dans les cultures témoins ne s'accorde pas avec l'intervention spontanée de mutations nucléaires multiples nécessaires pour conduire à ces phénotypes nouveaux. La stabilité de ces lignées nouvelles par bouturages et isollements répétés de spores ne correspond pas non plus aux propriétés habituelles des hétérocaryons. Force est alors d'admettre que ces lignées nouvelles résultent soit d'une redistribution de facteurs génétiques provenant des deux partenaires au sein d'un même noyau soit d'une expression nouvelle des caractères héréditaires de l'un des partenaires à la suite de la fusion de leurs seuls cytoplasmes.

Des caractères phénotypiques comme la résistance et la sensibilité à des inhibiteurs peuvent effectivement être liés à des propriétés des membranes constitutives d'organites cytoplasmiques (GEORGOPOULOS, 1976). D'autres attributs morphologiques, physiologiques et biochimiques d'un champignon peuvent être gouvernés par des facteurs génétiques extrachromosomiques (JINKS, 1966). Les combinaisons phénotypiques nouvelles pourraient donc traduire l'existence d'associations hétéroplasmiques. Par exemple, les lignées RM_{1a} et RM_1 pourraient résulter du fonctionnement d'un noyau 67-528 codant l'information Ur- dans un environnement cytoplasmique 8-68 qui commanderait la sensibilité aux deux inhibiteurs. Les lignées RM_2 et RM_3 pourraient naître de l'association de noyaux 67-528 avec des organites cytoplasmiques des deux origines, le cytoplasme 8-68 apportant la sensibilité au déhydroacétate et le cytoplasme 67-528 la résistance à la dichloro-nitroaniline.

Mais, d'une part, certains au moins de ces hétéroplasmons devraient conduire à des phénotypes variés lorsqu'ils sont soumis à des clonages monospores répétés. Or, c'est leur parfaite stabilité qui a toujours été constatée. D'autre part, il est peu vraisemblable que l'ensemble des propriétés distinctives des lignées nouvelles (morphologie et vitesse de croissance, pigmentation, conidiogénèse, besoins trophiques, comportement vis-à-vis des inhibiteurs) soit attaché à des facteurs héréditaires cytoplasmiques.

La conclusion la plus vraisemblable est donc qu'en dépit de la rareté et de la fragilité des hétérocaryons formés au cours des anastomoses contractées par les partenaires, la pression sélective exercée par le milieu minimum en leur faveur suffit pour leur permettre d'amorcer un cycle parasexuel.

Dans cette dernière hypothèse, il est exclu que les lignées nouvelles étudiées soient toutes identiquement diploïdes ou haploïdes : elles sont phénotypiquement différentes. RM_0 est prototrophe,

RM_4 exige de la leucine, les autres sont auxotrophes pour l'uracile. RM_1 ne produit pas de conidies sur extrait de malt, RM_{1a} et RM_2 en produisent quelques-unes, RM_3 en produit beaucoup. RM_1 et RM_{1a} sont sensibles aux deux inhibiteurs; RM_2 , RM_3 et RM_4 résistent au dérivé de l'aniline. Certaines de ces lignées au moins pourraient donc être à l'état haploïde et recombinées. Le petit nombre de ces lignées témoignerait alors de la faible fréquence des événements qui jalonnent nécessairement un cycle de recombinaison mitotique. De son côté, l'impossibilité d'isoler, au cours des confrontations, d'autres lignées que les lignées parentales ou des lignées nouvelles parfaitement stables indique que ces événements, s'ils sont rares s'accomplissent en revanche très rapidement. Cette rapidité est encore attestée par les résultats des analyses effectuées par transfert des constituants de cultures mixtes sur les deux milieux inhibiteurs : un type de recombinant au moins (RM_4) apparaît en l'espace de quelques dizaines d'heures.

Les méthodologies suivies pour les travaux qui viennent d'être exposés favorisent la réalisation des anastomoses par la confrontation des mycéliums sur un film de cellulose et forcent la production puis le maintien des associations nucléaires par l'avantage que confère sur le milieu minimum la prototrophie en comparaison de l'auxotrophie des deux mutants parentaux. Enfin, les caractères marqueurs introduits facilitent la détection des génomes recombinés. Il n'en demeure pas moins que certaines informations recueillies à la suite de ces expériences *in vitro* peuvent permettre de mieux comprendre le comportement du *C. lagenarium* et d'autres champignons imparfaits dans leur habitat naturel.

L'absence de sexualité n'est pas un obstacle absolu à l'apparition de nouvelles combinaisons génétiques au sein des populations de ces espèces. Au cours de leur vie saprophytique comme de leur vie parasitaire, les pressions exercées sur ces populations par l'altération des substrats, les changements affectant les hôtes ou les traitements fongicides peuvent avoir pour contrepartie l'apparition de nouveaux individus adaptés aux nouvelles conditions d'environnement, par le biais des anastomoses et de la recombinaison mitotique. Cela soulève un problème pratique dans le domaine de la lutte contre les maladies parasitaires des plantes cultivées.

Beaucoup d'espèces fongiques polyphages, comme c'est le cas de nombreux représentants du genre *Colletotrichum* *Cda*, se composent d'individus spécialisés, les uns à peu près démunis de pouvoir pathogène, les autres parasites de telle ou telle fraction de la gamme complète des espèces-hôtes ou susceptibles d'attaquer telles et telles variétés

d'une même plante utile. Ces individus coexistent-ils simplement, génétiquement isolés par l'absence de reproduction sexuelle, leur descendance asexuelle n'évoluant que par mutation et variation extranucléaire ? Ou bien, des échanges génétiques entre les différentes composantes de la population du parasite peuvent-ils intervenir et conduire à des individus de types nouveaux ?

La réponse à ces questions présente un intérêt en matière d'amélioration de la résistance des plantes cultivées aux maladies. Si les génotypes parasites défavorisés par la substitution d'une nouvelle variété à d'anciennes plus sensibles ou par l'adoption d'un nouvel assolement, subsistent tels quels, on peut espérer en réduire considérablement la fréquence, voire les faire disparaître par ces pratiques. En revanche, si des échanges se produisent avec d'autres catégories d'individus de la même espèce,

on peut craindre que leurs potentialités propres ne soient pas perdues, qu'elles se diluent dans le reste de la population, y compris éventuellement dans ses éléments saprophytes et que par recombinaison et sélection apparaissent de nouveaux génotypes aussi agressifs et aussi virulents que les anciens dans le système cultural antérieur.

Les mêmes raisonnements peuvent s'appliquer à la lutte contre ces champignons parasites par l'emploi de traitements chimiques et les mêmes conséquences peuvent être prédites : que deviennent les facteurs génétiques, nucléaires et extrachromosomiques de sensibilité et de résistance aux fongicides lorsqu'intervient un changement de formulation ?

Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M.
le 23 février 1981.

BIBLIOGRAPHIE

- BURNETT (J. H.), 1975. — Mycogenetics. John Wiley and Sons, London, 375 pages.
- DAVIS (R. M.), 1966. — Mechanism of inheritance : heterocaryosis. In *The Fungi*, 2 : 567-588, Ainsworth G. C. et Sussman A. ed. Academic Press, New York.
- GENOVESI (A. D.) et CLINT (W. M.), 1976. — Heterocaryosis and parasexuality in *Pyricularia oryzae* Cav. *Can. J. Microbiol.*, 22 : 531-536.
- GEORGOPOULOS (S. G.), 1976. — The genetics and biochemistry of resistance to chemicals in plant pathogens. *Proc. Ann. Phytopathological Soc.*, 3 : 53-60.
- JINKS (J. L.), 1966. — Mechanism of inheritance : extranuclear inheritance. In *The Fungi*, 2 : 619-657. Ainsworth G. C. et Sussman A. ed. Academic Press, New York.
- PONTECORVO (G.), 1956. — The parasexual cycle in fungi. *Ann. Rev. Microbiol.*, 10 : 393-400.
- PUHALLA (J. E.) et MAYFIELD (J. E.), 1974. — The mechanism of heterokaryotic growth in *Verticillium dahliae*. *Genetics*, 76 : 411-422.
- SERE (Y.), 1981 a. — L'antracnose des Cucurbitacées. I. Pouvoir pathogène du *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Hals. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Biol.*, n° 44 : 49-53.
- SERÉ (Y.), 1981 b. — L'antracnose des Cucurbitacées. II. L'hétérocaryose chez le *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Hals. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Biol.*, n° 44 : 55-61.