ÉTUDE COMPARATIVE DU C. ROLFSII (SACC.) CURZI ET DU S. COFFEICOLUM STAHEL.

PAR

M. GOUJON*

Résumé

Au cours d'une étude portant sur le comportement du C. rolfsii el du S. coffeicolum, en culture et sur leurs hôtes, nous avons pu constater que les différences qui séparent ces deux Champignons sont assez importantes pour estimer qu'ils appartiennent à des espèces distinctes. Toutefois, de nombreuses analogies, tant morphologiques que physiologiques, font la preuve de leur parenté et nous estimons que dès la découverte de la forme sexuée du S. coffeicolum, il sera possible de les unir au sein d'un même genre.

SUMMARY

By studiying the behaviour of C. rolfsii and S. coffeicolum grown in vitro and on their hosts, we have established that the differences between the two Fungi are strong enough to allow us to think they belong to different species. However, many similarities, morphological as well physiological, proof their relationship and we think that, as soon as the sexual form of S. coffeicolum will be found, it will be possible to relate them inside a same genus.

1. INTRODUCTION.

Pour des raisons d'ordre technologique, la Société Tropicale d'Allumettes (SOTROPAL) a introduit en Côte d'Ivoire un certain nombre de boutures de Peuplier (Populus nigra L.) en provenance d'Italie. La plupart des pieds issus de ces boutures sont cultivés à Sechi, dans une pépinière aérée, et végètent normalement; mais trois d'entre eux, plantés en pleine forêt, au voisinage de Cosrou, dans un bas-fond où l'hygrométrie voisine la saturation, ont subil'attaque d'un Champignon qui, en moins de quinze jours, a provoqué leur défoliation totale. Ce parasite, dont les caractéristiques correspondent exactement à celles du Sclerotium coffeicolum Stahel, est apparu dans une région que seuls les forestiers exploitent et où les rares cultures pratiquées, installées sur des brûlis de petites dimensions, sont représentées par des plantes introduites depuis longtemps et qui, jusqu'à présent, n'étaient pas considérées comme des hôtes possibles. Comme le S. coffeicolum n'a jamais été signalé dans les pépinières de pays tempérés dont proviennent les

^{*}Maître de Recherches de l'O.R.S.T.O.M. - Centre d'Adiopodoumé.

boutures, il est difficile de penser qu'il a été importé avec elles. Tout porte donc à croire qu'il était présent avant la plantation. Par suite, il ne peut s'agir que d'un pathogène que l'on rencontre à l'état endémique sur les végétaux sauvages, hypothèse déjà émise par Martyn [11]; mais la question se pose de savoir si ce pathogène végète normalement sous la forme où il attaque le Peuplier ou s'il revêt, sur d'autres hôtes, un aspect différent. Dans ce dernier cas, le S. coffeicolum pourrait n'être qu'une adaptation d'un Champignon déjà connu sous un autre nom.

Bien que Stahel [21] le rapproche du genre Authina Fr. ou du genre Typhula (Pers.) Fr. le S. coffeicolum, par sa morphologie en culture et par l'aspect des nécroses foliaires. diffère très peu du Corticium rolfsii (Sacc.) Curzi. De plus, une brève étude bibliographique suffit à démontrer que la distribution géographique des deux parasites coïncide et qu'ils sont tous deux capables de vivre sur des hôtes très divers. En effet le S. coffeicolum, décrit en 1913, par Kuyper [12] en Guyane Hollandaise comme l'agent d'une maladie nouvelle : Coremium disease, fut ensuite rencontré par Alston [1] en Guyane Britannique, par Nowell [16] à la Trinité, par Bally [2] aux Indes Néerlandaises, par Saccas [18] en République Centrafricaine, par Nag Raj et George [12] aux Indes, par Echandi et Salas [5] en Costa Rica et par Boisson et Frossard [3] en Côte d'Ivoire. Tous ces auteurs relatent les dégâts qu'il provoque sur feuille de caféier, mais Martyn [14] le signale aussi sur diverses plantes communes au voisinage des plantations de café et l'isole à partir de feuilles mortes en forêt. Boisson et Frossard [3], de leur côté, rendent compte d'une attaque sur manguier et nous avons, nous même, rencontré ce Champignon sur Peuplier et sur plusieurs plantes de forêt dont la liste figure dans le Tableau I. Il s'agit donc, comme dans le cas du C. rolfsii, d'un organisme pan-tropical, polyphyte et capable de subsister à l'état de saprophyte.

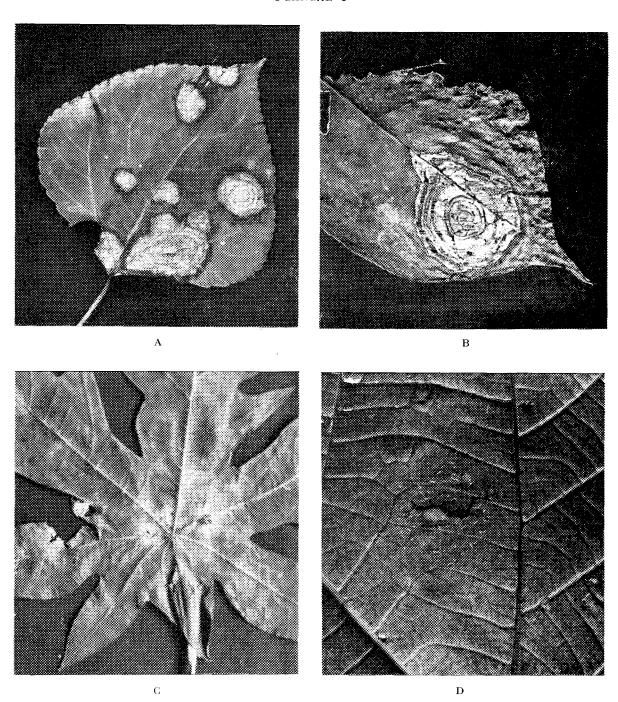
Saccas [18], qui avait déjà souligné la ressemblance existant entre les deux Champignons, pensait que des essais comparatifs d'infection permettraient peut être de démontrer leur identité. Nous avons effectué de tels essais et nous les avons assortis de l'étude parallèle de la morphologie et du comportement des deux parasites en culture.

2. COMPARAISON DU S. COFFEICOLUM ET DU C. ROLFSII SUR LEURS HÔTES.

2.1. — Symptômes présentés par les divers hôtes :

En prospectant la végétation autour de la pépinière de la SOTROPAL où se trouvaient les Peupliers atteints, nous avons rencontré le S. coffeicolum sur diverses plantes. La position systématique de ces plantes figure dans le Tableau I, à la suite de celle des hôtes du parasite déjà connus. Dans tous les cas les lésions sont uniquement foliaires. Elles se caractérisent par des taches nécrotiques dont l'aspect correspond en général aux descriptions déjà faites par les auteurs cités plus haut : alternance de bandes beige et brun sombre, portant des soies blanches produites par le Champignon et présence, en bordure de la nécrose, d'une zone translucide à partir de laquelle s'étendent des cordonnets rhizomorphiques. Toutefois quelques différences apparaissent selon la nature des hôtes. Sur les feuilles fragiles (Carica papaya, feuilles jeunes de Musanga cecropioides), les tissus nécrosés se détachent (Pl. I) et l'attaque se caractérise par des perforations du limbe, autour desquelles on retrouve un anneau zoné, précédant le front de progression rhizomorphique. Sur les feuilles coriaces, en revanche, les tissus mortifiés demeurent en place et, parfois, la nécrose est limitée par un cal (Macaranga huraefolia,

Planche I



Nécroses dues au S. coffeicolum: A — sur feuille de P. nigra, B — sur feuille de M. huraefolia, C — sur feuille de C. papaya, D — sur feuille jeune de M. cecropioïdes. Noter les perforations du limbe chez les deux derniers hôtes et la zonation des taches chez les deux premiers. Les soies sont bien visibles sur la feuille de Parasolier.

TABLEAU I
Liste des Hôtes connus du S. coffeicolum Stahel.

		Gravité de l'attaque			
Hôte	Distribution géographique	Nbre moyen de nécroses par feuille atteinte	Pourcentage de la surface folisire détruite		
Coffea esculsa A. Chev., (Rubiacée)	Guyane Hollandaise [10] et Britannique [1], Indes				
Coffea robusta Linden (Rubiacée)	[12], Indes néerlandaises [2], République Centra- fricaine [14], Costa Rica	_			
Coffea abeokutae Cramer (Rubiacée)	[5], Côte d'Ivoire [3], Trinité [13]	:			
Gardenia jasminoides? (Rubiacée)					
Vilis sicyoldes? (Ampelidacée)	Guyane Britannique [11].		_		
Commelina nudiflora Linn (Commelinacée)					
Mangifera indica Linn (Anacardiacée)	Côte d'Ivoire [3]	_			
Populus nigra (Salicacée)	Côte d'Ivoire	6,7	Т		
Carica papaya Linn (Caricacée)	Côte d'Ivoire	7,1			
Cola heterophylla (P. Beauv.) Schott et Engl. (Sterculiacée)	Côte d'Ivoire	2,4	7,83		
Musanga cecropioides, R. Br. (Moracée)	Côte d'Ivoire	3	0,02		
Macaranga hurifolia, Beille (Euphorbiacée)	Côte d'Ivoire	1,5	1,82		
Adenia lobata (Jacq.) Engl. (Passifloracée)	Côte d'Ivoire	4	9,77		
Adenia gracilis (Harms) (Passifloracée)	Côte d'Ivoire	3,2	29,04		
Gmellina arborea (Verbenacée)	Côte d'Ivoire	1,2	0,0005		

T = envahissement complet de la feuille. Le S. coffeicolum avait provoqué une défoliation totale des peupliers examinés.

Gmellina arborea) qui semble marquer l'arrêt de l'invasion. Enfin, les soies ou propagules, que l'on considère comme caractéristiques du Champignon, ne se forment pas sur tous les hôtes. Très abondantes sur Peuplier, Manguier, Caféier, elles sont peu nombreuses sur Parasolier et Papayer, en raison de la disparition du centre des nécroses, rares sur Cola heterophylla, Adenia lobata et A. gracilis et totalement absentes sur M. huraefolia et G. arborea. Comme ces soies constituent le plus efficace des agents de propagation du Champignon, on peut admettre que les derniers végétaux cités jouent un rôle réduit dans l'extension et la conservation de la maladie et qu'ils ne sont atteints qu'au voisinage d'un foyer d'infection. En revanche, le M. cecropioides, le C. papaya et le C. heterophylla, qui

portent des soies, peuvent assurer le maintien du parasite à l'état endémique car ils sont présents dans toutes les forêts secondaires de basse Côte d'Ivoire. Les sclérotes ne se forment jamais sur la plante, mais apparaissent sur les feuilles tombées à terre. Leurs

dimensions sont réduites (457 μ ±38) et leur forme est sphérique.

Le Corticium rolfsii a été rencontré beaucoup plus rarement sur feuille. Chevaugeon [4] décrit les dégâts qu'il cause aux folioles d'arachide en Casamance, Singh et Pavgi [20] lui attribuent un certain nombre de nécroses foliaires qu'ils qualifient de nouvelle maladie due à des sclérotes et que l'on rencontre sur des plantes ornementales ou adventices et John [11] l'a rencontré sur les feuilles de plantes de couverture. Les lésions décrites par ces divers auteurs diffèrent peu de celles que provoque le S. coffeico-lum. Comme ces dernières, elles présentent une alternance de zones claires et foncées et sont parfois limitées par une bordure brune au-delà de laquelle s'étendent des rhizomorphes. Il faut cependant noter qu'en aucun cas des propagules comparables à celles que forme le S. coffeicolum n'ont été signalées sur les nécroses et que les sclérotes naissent fréquemment sur les feuilles encore en place.

De très nombreuses publications [17,22], en revanche, démontrent que le *C. rolfsii* est la cause de maladies de collet. Ces publications, pas plus que les précédentes, ne font mention de la présence de propagules. Elles décrivent une annellation du collet à la surface duquel se développe un mycélium hyalin abondant, porteur de sclérotes. Il fallait donc pour étudier le comportement des parasites que nous désirions comparer effectuer des

inoculations parallèles, tant au niveau du collet que de la feuille.

2.2. — Infections expérimentales de feuilles :

Les infections expérimentales ont été réalisées par dépôt de soies ou de sclérotes sur feuilles détachées maintenues en survie par flottage sur une mince couche d'eau ou suspendues dans une enceinte dont l'atmosphère voisinait la saturation. Bien que les feuilles détachées se montrent plus sensibles à l'infection que les feuilles en place [3], nous n'avons pas jugé indispensable de procéder à des essais sur la plante car notre propos était de comparer les pouvoirs pathogènes et non de les évaluer de façon absolue.

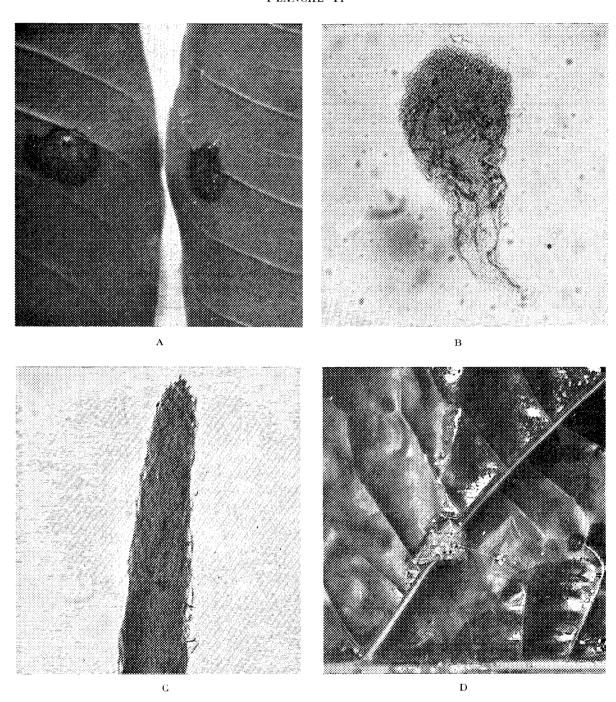
La liste des plantes dont les feuilles ont été inoculées et les résultats de ces infections sont fournis par le Tableau II. Il montre que le pouvoir infectieux des sclérotes de S. coffeicolum est beaucoup plus réduit que celui des soies. Ceci est dû à une très mauvaise germination des sclérotes qui souvent demeurent entièrement dormants ou émettent

quelques rares filaments en bouquet dont l'élongation cesse très vite.

La pénétration des tissus foliaires par les filaments du S. coffeicolum peut s'effectuer par les stomates ou directement au travers de la cuticule. Dans le second cas, particulièrement fréquent lorsque l'inoculum est déposé sur la face supérieure de la feuille, pauvre en stomates, il apparaît des organes de fixation au niveau desquels naissent les hyphes de pénétration. Quand il s'agit d'une soie ce sont les hyphes germinatives qui se collent à la cuticule et édifient une mince plaque mycélienne. Lorsque, en revanche, il s'agit d'un sclérote, les filaments germinatifs rampent à la surface de la feuille et s'agrègent en cordonnets d'allure rhizomorphique terminés par des appressoria. Ces appressoria, en forme de palmettes, apparaissent à l'issue d'un délai variable (1 à 3 jours). Lorsque le C. rolfsii est l'agent infectieux, le processus de la pénétration est le même mais les appressoria se forment régulièrement trois jours à trois jours et demi après la germination du sclérote. De plus alors que chez le S. coffeicolum la palmette demeure inerte, chez le C. rolfsii l'appressorium dont la structure enchevêtrée rappelle celle d'une jeune ébauche se transforme progressivement en sclérote tandis que se développe une tache nécrotique sur la feuille (Pl. II, D).

74 M. GOUJON

PLANCHE II



A — Comparaison de nécroses sur feuilles de Manguier inoculées 10 jours auparavant, à gauche S. coffeicolum, à droite C. rolfsii. B — Massif mycélien formé sur feuille de S. problematicum par le C. rolfsii. C — Aspect microscopique de l'extrémité d'une soie. D — Sclérotes developpés par le C. rolfsii à l'extrémité d'un rhizomorphe, à partir des appressoria (sur feuille de S. problematicum).

La progression des nécroses diffère selon la nature de l'hôte. Le Tableau III et la Figure I montrent qu'elle peut se poursuivre jusqu'à l'envahissement complet de la feuille ou se ralentir puis cesser, lorsqu'un certain diamètre est atteint. Dans ce dernier cas apparaît, souvent, un cal en bordure de la tache. Si l'on excepte le Mangifera indica, le comportement des deux parasites est le même pour un hôte donné. La formation du cal entraîne en général l'arrêt définitif de l'envahissement de la feuille, mais il arrive, sur caféier en particulier et surtout lorsqu'il s'agit du C. rolfsii, que des rhizomorphes franchissent le barrage et pénètrent la feuille à quelque distance, provoquant ainsi la formation de nouvelles taches. Il faut noter à ce sujet que les mèches rhizomorphiques ne se forment en abondance que si la progression du Champignon est difficile. Lorsque rien

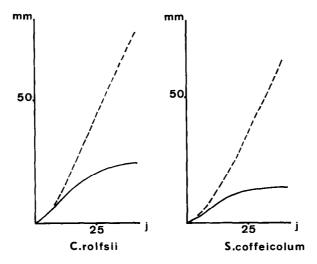


Fig. 1. — Extension diamétrale moyenne des nécroses foliaires produites par le C. rolfsii et le S. coffeicolum. Les courbes en pointillés correspondent aux lésions formées sur Schumaniophyton problematicum, Adenia lobata, Commelina nudiflora, Cola heterophylla, Manihot utilissima, Musanga cecropioldes et, dans le cas du S. coffeicolum, Mangifera indica. Les courbes en traits pleins représentent l'accroissement diamétral des nécroses formées sur les feuilles de Coffea excelsa, Massularia acuminata, Cissusoreophylla Carica papaya et, dans le cas du C. rolfsii, Mangifera indica.

n'arrête l'extension de la nécrose, elles n'apparaissent pas et la tache est bordée par une trame continue de filaments conducteurs. Nous avions déjà constaté cette différence de comportement en décrivant la formation de mèches rhizomorphiques en culture lorsque le milieu devient abiotique ou toxique [8]. Les végétaux capables de limiter l'invasion à des taches de dimension réduite contiennent donc, selon toutes probabilités, des substances qui sont libérées par la destruction des tissus et qui présentent une certaine toxicité pour le Champignon. Le brunissement marqué du bord des nécroses nous fait supposer qu'il s'agit peut être de polyphénoloxydases.

La zonation des taches nécrotiques n'apparaît pas, quelles que soient les variations de température, lorsque la feuille est au contact direct de l'eau ou lorsqu'elle est suspendue dans une enceinte humide maintenue à température constante. En revanche, elle se produit, aussi bien dans le cas du *C. rolfsii* que dans celui du *S. coffeicolum*, lorsque les feuilles sont placées dans une enceinte humide soumise à des variations de température. Elle résulte donc, selon toute probabilité, des changements d'hygrométrie provoqués par ces variations.

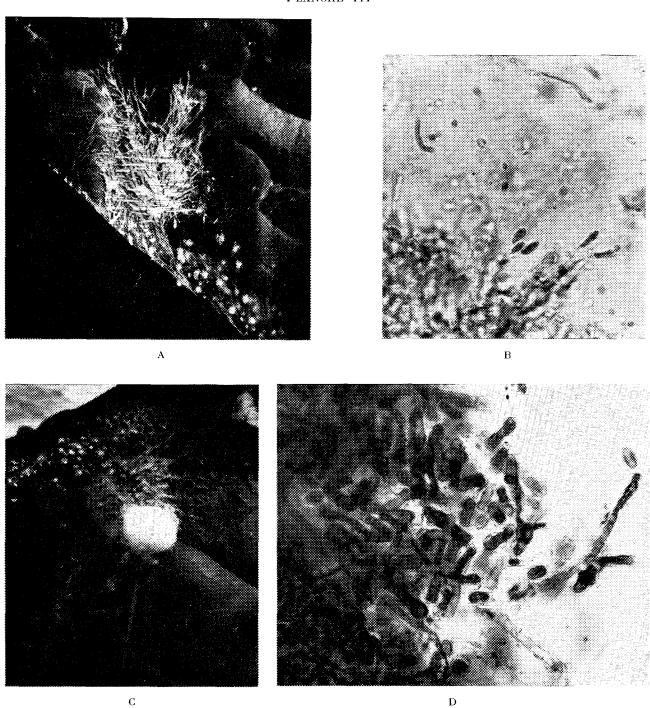
TABLEAU II

Sclé			rotes du <i>C. rolfsii</i>			Sclérotes de S. coffeicolum				Soles de S. coffeicolum			
Plante înoculée	Pour- cen- tage d'in- fec- tions	ĺ	Diamètre moyen en mm des nécroses après		cen- tage d'in- fec- tions	Diamètre moyen en mm des nécroses après			tage d'in- fec- tions	Diamètre moyen en mm des nécroses après			
	réus- sies j	5 jours	10 jours	20 jours	réus- sies	5 jours	10 jours	20 jours	réus- sies	5 jours	10 jours	20 jours	
Coffea excelsa A. Chev. (Rubia-cée)	100	12,3	21,1	26	0	_			100	9,5	12	12,5	
Schumaniophyton problematicum (A. Chev.) Anbr. (Rubiacée)	100	16	38	73	10		8	27	85	6,5	14,2	38,5	
Massularia acuminata (G. Don.) Bullock ex Hoyle (Rubiacée)	80	6	19	23	0	_		_	7 5	4,3	10,5	13	
Mangifera indica, Linn (Anacar- diacée)	75	8,25	17,5	22	35		13,6	33	100	9,5	20,5	Т	
Adenia lobata (Jacq.) Engl. (Passifloracée)	100	8	35,4	Т	10		8	46	100	9,8	36,1	Т	
Commelina nudiflora, Linn. (Commelinacée)	100	6	27,5	Т	50	2	15	50	100	8,	34	Т	
Cola heterophylla (P. Beauv.) Schott et Endl. (Sterculiacée)	65	10	23	39	20	_	14	25	100	11	28	42	
Cissus oreophylla Gilg. et Brandt (Ampelidacée)	60	7,3	18	12	0		_		70	6	15	17	
Manihot utilissima. Pohl. (Euphorbiacée)	100	15	70	Т	15	11	58	Т	100	5	50	Т	
Carica papaya, Linn (Caricacée)	95	9,5	17	25,5	25		4	15	90	7,3	16,2	19	
Musanga cecropioïdes, R. Br., (Moracée) feuilles jeunes	75	_	15	41	60	3	13	49	100	11	23,4	62	
M. cecropioïdes feuilles âgées	80	9	26	60	65	4	19	52	100	7,5	20	53	

2.3. — Anatomie des deux parasites sur feuille :

Le mycélium des deux parasites est morphologiquement presque identique. Chez le S. coffeicolum comme chez le C. rolfsii, on peut distinguer deux types essentiels de filaments : les hyphes latéraux que l'on rencontre au sein des tissus et qui, d'abord inter-

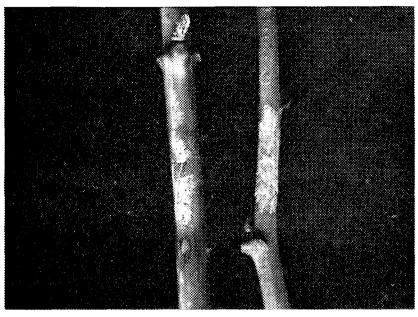
PLANCHE III



 $A \longrightarrow Hyménium \ de \ \emph{C. rolfsii} \ sur \ feuille \ de \ \emph{S. problematicum}. \ B \longrightarrow Basides \ et \ basidiospores. \ C \longrightarrow Massif mycélien formé à partir d'un hyménium âgé dont on distingue encore les traces. \ D \longrightarrow Arthrospores.$

78 m. goujon

PLANCHE IV



Infections artificielles de tiges de Manioc, à gauche le *C. rolfsii*, à droite le *S. coffeicolum* (l'inoculation a été effectuée 10 jours auparavant).

cellulaires pénètrent rapidement les cellules mortes et les hyphes conducteurs qui rampent à la périphérie de la nécrose et s'agrègent en rhizomorphes lorsque la progression de cette dernière est arrêtée. Tout au plus peut-on constater de légères différences quand on compare les conducteurs. Ceux du S. coffeicolum sont beaucoup moins régulièrement ansés que ceux du C. rolfsii et le diamètre moyen de leurs articles est un peu plus élevé : 5,6 μ contre 4,9 μ chez le C. rolfsii. De plus, les conducteurs du S. coffeicolum présentent des excroissances latérales ou terminales, de forme généralement circulaire, qui jouent le rôle d'organes de fixation. Ce sont les «cellules crampons» déjà décrites par Saccas [18].

Les sclérotes du *C. rolfsii* se caractérisent par une teinte beige ou brune et une medulla marquée. Ils ont mêmes dimensions (0,5 mm environ) que ceux du *S. coffeicolum* dont la medulla est difficile à mettre en évidence et dont la couleur est brun rougeâtre. Ils apparaissent tardivement (6 à 8 jours après l'infection) et uniquement lorsque la feuille est au contact direct de l'eau dans le cas du *S. coffeicolum* alors que, dans le cas du *C. rolfsii*, les premiers formés sont visibles quatre jours après l'inoculation à la seule condition que l'humidité au niveau de la feuille soit saturante.

Enfin, la différence la plus nette entre les deux Champignons réside dans l'existence de soies blanches ou propagules sur les nécroses provoquées par le S. coffeicolum (Pl. I, D et Pl. II, C). Ces soies sont de petits bâtonnets allongés, pouvant atteindre 5 mm de longueur et 0,11 mm de diamètre. Elles sont faites de filaments juxtaposés, privés d'anses, dont les articles ont une longueur moyenne de 116 μ et un diamètre moyen de 5,3 μ . Les rameaux émis par ces filaments se détachent selon des angles aigus, contribuent en longeant les axes à l'accroissement en épaisseur de l'organe et s'anastomosent fréquem-

ment entre eux, assurant la cohésion de l'ensemble. Tous ces caractères, si l'on excepte l'absence d'anses et les dimensions plus réduites des articles, sont ceux des cordonnets rhizomorphiques. Cependant, les soies naissent sur toute la surface de la zone nécrosée alors que les rhizomorphes ne se forment qu'à sa périphérie, elles sont dressées et non rampantes, elles se forment à partir des filaments latéraux intratissulaires et non à partir des conducteurs superficiels. Elles constituent donc un organe particulier, dont la construction est un nouvel exemple de la plasticité des filaments latéraux que nous avons soulignée chez le C. rolfsii [6].

La formation des soies dépend de la teneur en eau du milieu. Elle n'est possible que dans le cas où l'humidité relative est saturante, mais où la feuille n'est pas mouillée. Lorsque cette dernière trempe dans l'eau, sculs apparaissent les sclérotes. Comme nous avons vu que ces derniers exigent pour se former des conditions opposées, nous comprenons pourquoi les soies sont visibles sur les feuilles portées par l'arbre et les sclérotes sur les feuilles qui reposent sur la litière mouillée du sol. Il est à noter à ce sujet que les soies ne sont visibles au sol que sur les feuilles fraîchement détachées. Elles disparaissent rapidement pour être remplacées par les sclérotes. En fait, comme on peut le constater en plaçant au contact direct de l'eau les feuilles infectées, conservées dans une atmosphère humide, les soies, après avoir germé sur place, se vacuolisent et meurent et les sclérotes se forment, 48 heures plus tard, en des points apparemment quelconques.

Le C. rolfsii ne produit jamais de soies identiques à celles du S. coffeicolum. Sur certaines Rubiacées (Schumaniophyton problematicum, Massilaria acuminata), certains isolats forment de petits massifs mycéliens en forme de massue (Pl. II) faits de filaments latéraux étroitement serrés les uns contre les autres, mais il s'agit là, selon toute vraissemblance, d'ébauches avortées de sclérotes pédicellés. En revanche, ces mêmes isolats sont capables de se reproduire sexuellement sur les feuilles de S. problematicum où ils édifient des hyméniums de forme anormale. Des rhizomorphes s'étendent à la périphérie des taches nécrotiques, se ramifient, et le squelette de conducteurs qu'ils constituent s'entoure de latéraux étroitement enchevêtrés. A la surface du manchon mycélien ainsi formé (Pl. III, A) apparaît un hyménium, fait de basides rangées parallèlement les unes aux autres, qui, le plus souvent, demeurent stériles, mais qui, dans le cas d'une souche, portent des basidiospores (Pl. III, B).

Pendant la formation des basides, que celles-ci portent ou non des basidiospores, des pénétrations se produisent et une zone nécrotique nouvelle apparaît sous la palmette rhizomorphique. Alors, tandis que s'édifient des sclérotes sur les tissus récemment envahis, des formations massives, sphériques, de 4 à 12 mm de diamètre, naissent à partir de l'hyménium (Pl. III, C). Ces organes, faits d'hyphes latéraux enchevêtrés et déformés, diffèrent du sclérote en ce qu'ils ne présentent ni medulla, ni corlex, ni enveloppe mélanisée. En coupe, ils montrent un pseudo-parenchyme homogène, creusé au voisinage de la périphérie par des loges sphériques emplies de liquide (fig. 2) et leur surface est couverte d'un chevelu de filaments courtement articulés qui détachent, à leurs extrémités, des arthrospores sans différenciation morphologique particulière (Pl. III, D). La simultanéité de l'apparition de ces massifs mycéliens et des sclérotes laisse supposer que l'hyménium, comme les filaments végétatifs, est sujet à la transformation que subit le thalle à l'issue de la phase d'élongation initiale. Nous avons vu en effet qu'après une première période au cours de laquelle le thalle ne pouvait produire que des filaments végétatifs, tous les filaments latéraux néoformés devenaient capables de s'agréger et d'édifier des sclérotes [8].

Nous avons tenté de savoir si les basidiospores et les arthrospores peuvent contribuer à la propagation du C. rolfsii. En aucun cas, leur dépôt direct sur feuille maintenue en

survie par flottage ne nous a permis d'observer de lésions. Ces organes ne peuvent donc être considérés comme des agents directement infectieux. Cependant, ce premier résultat ne signifie pas qu'ils n'interviennent pas dans la dissémination du Champignon. Nous pouvons, en effet, supposer que, transportés sur un substrat plus facilement exploitable que le végétal vivant, ils régénèrent un thalle capable de produire des organes de conservation tels que les sclérotes qui eux seraient infectants. Nous avons donc semé isolément des basidiospores et des arthrospores sur milieu nutritif et nous avons constaté que :

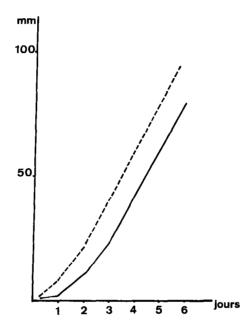


Fig. 2. — Accroissement diamétral en millimètres par jour des cultures de C. rolfsii (courbe en pointillés) et de S. coffeicolum (courbe en traits pleins) sur bouillon de pommes de terre glucosé et gélosé à la température de 23°C.

1º Le taux de germination des basidiospores est très faible (8,6 %). Lorsqu'elles régénèrent des thalles, ceux-ci sont de deux types différents : 84 % d'entre eux présentent une morphologie absolument identique à celle de l'isolat qui les a produit, 16 % en revanche, s'en distinguent par la lenteur de leur élongation mycélienne, la rareté et l'apparition tardive de leurs sclérotes.

2º Les arthrospores germent en totalité. Elles fournissent un mycélium ras, privé de conducteurs, qui ne porte jamais de sclérotes et dont l'élongation est extrêmement lente.

3º Les thalles nés d'arthrospores ne manifestent aucune virulence. En revanche, les thalles issus de basidiospores s'avèrent capables de pénétrer les tissus foliaires, mais, alors que ceux dont la morphologie est normale sont à l'origine de nécroses étendues, ceux dont l'élongation est lente ne produisent que des lésions de faible étendue dont l'extension cesse rapidement. Aucune des souches monobasidiosporées ne s'est avérée jusqu'à présent capable de reproduction sexuée. Certaines, cependant, parmi celles dont l'élongation est rapide, parviennent à produire des massifs porteurs d'arthrospores analogues à ceux qui se forment aux dépens de l'hyménium.

2.4. — Infections artificielles de tiges:

Nous avons infecté des tiges de Manihot utilissima et de Mucuna derringiana (Bort.) Holland en utilisant la méthode suivante : dans le cas du manioc, l'inoculum était déposé sur la tige non lignifiée, entre deux pétioles et entouré d'un sachet de polyéthylène au fond duquel un tampon de coton humide maintenait une humidité constante ; dans celui du Mucuna l'inoculum était déposé au niveau du collet, au fond d'un cornet de papier filtre entourant la tige puis recouvert de coton mouillé. Contrairement à ce qui se produit sur feuille, les soies ne manifestent aucun pouvoir infectieux, sans doute parce que leurs réserves ne leur permettent pas d'assurer un développement mycélien suffisant pour que la pénétration se produise. En revanche les sclérotes de C. rolfsii et ceux de S. coffeicolum, quand ils germent, s'avèrent capables de pénétrer et de détruire les tiges de M. derringiana et de Manioc. Par ailleurs, le mycélium jeune en culture sur milieu gélosé constitue toujours un inoculum efficace.

Dans le cas du manioc, le début du développement est identique à ce qui se produit sur les feuilles : des rhizomorphes se détachent du semis, courent à la surface de la tige et des appressoria apparaissent, après un délai de 3 à 4 jours. A l'issue des 10 jours qui suivent la germination de l'inoculum, la tige est entourée par le Champignon (Pl. IV) et ses tissus jaunissent. Enfin, 5 à 6 jours plus tard, les feuilles situées au-dessus du point inoculé se flétrissent et tombent tandis que la tige devenue fragile se rompt au moindre effort. La naissance des sclérotes est aussi précoce que sur feuille, mais leur maturation est beaucoup plus lente. En ce qui concerne ceux du C. rolfsii, des ébauches peuvent se développer à partir des premiers appressoria qui se forment trois jours après la germination, mais elles avortent le plus souvent et il faut attendre le dixième jour pour observer des sclérotes mûrs. Le S. coffcicolum produit également des sclérotes à l'issue d'un délai prolongé (10 à 15 jours). Contrairement à ce qui se produit sur feuilles, il n'édifie jamais de soies.

Dans le cas du *M. derringiana*, la pénétration de la tige est beaucoup plus aisée, cependant les soies, là encore, ne manifestent aucune virulence. On ne constate la formation d'appressoria ni dans le cas du *C. rolfsii* ni dans celui du *S. coffeicolum*. Les tissus de la tige rapidement envahis par le mycélium de type *latéral* d'abord inter puis intracellulaire noircissent et, 6 à 8 jours après l'infection, sont entièrement détruits. Les sclérotes se forment essentiellement au contact du coton qui maintient l'humidité nécessaire aux parasites.

3. COMPARAISON DE L'ANATOMIE ET DU DÉVELOPPEMENT DU C. ROLFSII ET DU S. COFFEICOLUM EN CULTURE.

3.1. — Édification du thalle:

Sur bouillon de pommes de terre glucosé et gélosé à la température de 23°C, les sclérotes du S. coffeicolum germent à l'issue d'un délai de 24 heures, en émettant des hyphes flexueuses dont les articles de petites dimensions, contiennent un nombre réduit de noyaux. Ces filaments germinatifs détachent, en des points apparemment quelconques, des ramifications qui forment avec l'axe qui les porte des angles très ouverts et, pour la plupart, plongent dans le substrat au sein duquel ils constituent un système mycélien

82

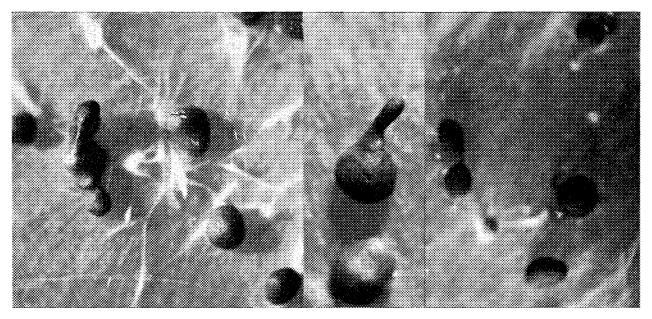
intramatriciel et très enchevêtré. Quelques hyphes, dont la morphologie est identique, rampent, cependant, à la surface du milieu et se transforment progressivement. Leur parcours devient rectiligne, leurs articles s'allongent et s'épaississent en même temps que s'accroît le nombre des noyaux qu'ils contiennent, leurs rameaux naissent au niveau des cloisons et s'allongent parallèlement à l'axe, édifiant ainsi des cordonnets de 3 à 8 filaments, enfin, des anses d'anastomose apparaissent. Cette évolution est exactement parallèle à celle que nous avons décrite chez le C. rolfsii. Les sclérotes du S. coffeicolum germent en émettant des hyphes de type latéral qui assurent l'envahissement en profondeur du substrat et adoptent progressivement, en surface, la morphologie conductrice. Les seules différences notables résident dans la taille et la fréquence des anses d'anastomose plus grosses (5,9 \mu contre 5,1 \mu) et plus rares chez le S. coffeicolum que chez le C. rolfsii; dans les dimensions des articles des filaments conducteurs $(5,7 \times 176 \mu \text{ contre})$ $4.9 \times 243 \mu$); dans le nombre des conducteurs qui constituent les cordonnets (3 à 8 contre 3 à 15), enfin, dans l'aspect des cultures car les filaments superficiels conducteurs, latéraux et intermédiaires, sont beaucoup plus abondants chez le C. rolfsii que chez le S. coffeicolum. La vitesse d'élongation des deux Champignons (fig. 3) est néanmoins peu différente mais, la courbe qui représente la croissance diamétrale du S. coffeicolum est décalée en raison de la germination tardive du sclérote.

3.2. — La formation des sclérotes :

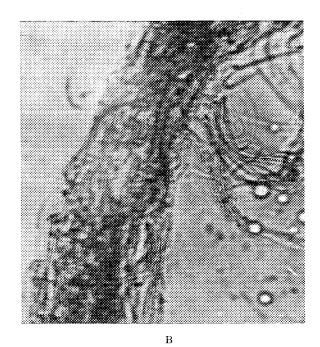
Alors qu'en l'absence d'arrêt de l'élongation mycélienne le C. rolfsii forme ses sclérotes à l'issue d'un délai de 8 à 11 jours sur des thalles dont le diamètre est supérieur à 15 cm [7], le S. coffeicolum édifie spontanément les siens, quatre jours après le semis, sur des thalles dont le diamètre moyen est de 40 mm. Il semble donc que la concurrence trophique qui oppose apex et ébauches de sclérotes chez le C. rolfsii [7, 8] n'intervient pas ou ne joue qu'un rôle réduit chez le S. coffeicolum. Cette différence peut provenir simplement d'une faible activité des transports protoplasmiques chez ce dernier Champignon. A l'appui de cette hypothèse vient le fait que les sections de mycélium, efficaces chez le C. rolfsii, ne sont jamais suivies d'effet chez le S. coffeicolum. Lorsqu'on blesse le thalle et cela quel que soit son âge, les filaments de régénération sont rares et aucune ébauche ne se forme sur les lèvres de la blessure. D'autre part, si, reprenant une nouvelle fois les expériences réalisées par Schütte [19] et par Larpent [13], nous obligeons le thalle du S. coffeicolum à passer d'un substrat sur un autre de richesse différente, nous constatons aisément que les transports vers l'arrière sont inexistants et que les transports vers l'avant sont beaucoup plus réduits que chez le C. rolfsii. Cette aptitude réduite au transfert de protoplasme est très probablement due à l'importance relativement faible du système conducteur qui, nous l'avons vu, est peu développé. Cependant les sclérotes sont de dimensions élevées (2,28 mm de diamètre moyen contre 1,16 chez le C. rolfsii) et la question se pose de savoir quelle est l'origine des matériaux plastiques qui s'accumulent dans ces très gros organes.

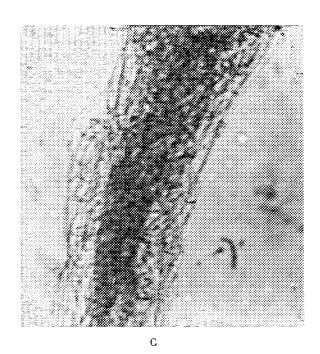
La morphogénèse des sclérotes débute par la formation de mèches mycéliennes aux dépens des latéraux (Pl. V, A et B). Ces mèches, dont le diamètre varie de 200 à 500 μ , sont d'abord dressées puis s'inclinent, sous l'effet de leur poids, vers le substrat. Leur structure rappelle celle des soies mais, contrairement à ces dernières, elles sont faites de filaments latéraux typiques et, de plus, elles sont capables de ramification et d'anastomose. Par la suite, se développe, sur toute la longueur de la mèche ou en certains de ses points, une végétation très enchevêtrée de filaments qui deviennent rapidement coalescents. Selon que toute la mèche participe à l'édification du sclérote ou qu'elle n'intervient

PLANCHE V



A





 $A - M \`{e} ches myc\'{e} liennes \textit{lat\'erales} et aspect des scl\'{e}rotes de \textit{S. coffeicolum} en culture. \textit{B et C} - Aspect microscopique des mèches de lat\'{e}raux chez le \textit{S. coffeicolum} (B) et le \textit{C. rolfsii} (C).$

84

que pour une part, on obtient des types sclérotiques différents. Dans le premier cas, les sclérotes sont en baguette, haltériformes ou pyriformes, dans le second, ils sont sphériques ou, plus souvent, et spécialement quand ils apparaissent à l'extrémité terminale de la mèche lenticulaires (Pl. V, A). Leur formation est analogue à celle des sclérotes du *C. rolfsii* mais nous n'avons jamais pu constater l'existence d'un cortex et par suite d'une médulla [23]. Une autre différence est l'absence des gouttelettes liquides qui apparaissent sur les sclérotes du *C. rolfsii* au niveau des macules. Ceci est à rapprocher, d'une part, du fait que les sclérotes sont alimentés par un épais faisceau mycélien qui doit être capable d'assurer à la fois l'apport des éléments plastiques et l'élimination de l'excès d'eau et, d'autre part, du fait qu'ils germent plus difficilement que ceux du *C. rolfsii*. Privés de macules, en effet, ils ne disposent pas de voies d'entrée privilégiées pour l'eau et les substances dissoutes.

La carence du système conducteur oblige l'ébauche de sclérote à s'approvisionner sur place. Les réserves de matériaux alimentaires exigées par son développement doivent donc être fournies par le mycélium immergé voisin de la mèche initiale. Si cette hypothèse est exacte, il est, sans doute, possible d'interdire ou tout au moins de retarder l'apparition des sclérotes en gênant le développement des hyphes intramatriciels. Afin d'obtenir ce résultat, nous avons tenté de cultiver le S. coffeicolum en le séparant de la gélose par un filtre d'acétate de cellulose dont les pores très fins interdisent le passage des hyphes (Millipore GS22) et nous avons pu constater que la formation des sclérotes est retardée de 12 heures environ, que leur maturation est très lente : 72 heures à 23°C alors qu'au contact direct de la gélose elle n'exige que 24 à 36 heures et que leur taille est réduite (1,75 mm de diamètre moyen).

Il apparaît donc que les transports de protoplasme ne jouent pas dans le cas du S. coffeicolum un rôle aussi important que dans celui du C. rolfsii. Cependant, nous avons vu que la formation des ébauches de sclérotes chez les deux Champignons ne suit pas immédiatement le semis, contrairement à ce qui se passe chez d'autres Champignons tels que les Rhizoctonia bataticola (Taub.) Butl., R. solani Kühn et Sterigmatocystis nigra Tiegh. par exemple. Nous pouvons donc supposer que, à l'exemple du C. rolfsii, le S. coffeicolum subit, à l'issue d'une première phase d'élongation mycélienne, une transformation due à l'intervention d'un facteur morphogénétique. Nous avons réalisé, pour tenter de nous en assurer, des expériences de greffe entre thalles de S. coffeicolum d'âges différents et entre thalles de S. coffeicolum et thalles de C. rolfsii. En aucun cas, nous n'avons pu constater le passage d'une substance active, mais nous ne pouvons, pour autant, nier son existence car nous savons que le transport d'une telle substance est lié au transit protoplasmique [9] et que celui-ci est peu important dans le cas du S. coffeicolum.

Notons, enfin, qu'il est possible de provoquer chez le *C. rolfsii* la formation de mèches superficielles analogues à celles que l'on trouve chez le *S. coffeicolum* à l'origine des sclérotes. Elles apparaissent lorsqu'on étale à la surface des boîtes un épais broyat mycélien. Ce mode d'ensemencement simultané de l'ensemble de la surface du substrat supprime la formation du système conducteur et oblige le *C. rolfsii* à adopter la solution choisie par le *S. coffeicolum*. Des mèches de latéraux se forment à la surface du substrat et des sclérotes de forme tourmentée sont construits à partir de ces mèches.

3.3. — La fin de l'élongation :

Sur milieu nutritif l'élongation s'arrête peu après que les hyphes aient atteint les parois du récipient de culture. Lorsque les bords du substrat sont atteints, les deux Champignons détachent des mèches mycéliennes qui tentent d'escalader l'obstacle

opposé à la progression du mycélium puis cessent de s'allonger. Chez le C. rolfsii [6] ces mèches ont la même morphologie que les cordonnets mycéliens dont elles diffèrent seulement par une plus grande épaisseur. Chez le S. coffeicolum, en revanche, les filaments qui les constituent forment, au contact du verre, des organes spéciaux, déjà décrits sur feuilles de caféier (Saccas), les « cellules crampons ». Il s'agit là d'articles de forme circulaire ou elliptique qui apparaissent à l'extrémité des hyphes ou qui résultent d'une hypertrophie des anses d'anastomose et dont le rôle paraît être d'assurer l'adhérence du mycélium à son support. Malgré de nombreux examens de feuilles infectées naturellement et artificiellement, nous n'avons jamais pu constater la formation d'hyphes de pénétration à partir de ces « cellules crampons ». Elles ne peuvent donc être considérées comme des appressoria quand on les envisage isolément. Cependant, comme elles figurent en grand nombre le long des conducteurs des palmettes, elles contribuent, certainement, à faciliter la pénétration en assurant le contact avec le substrat des plages mycéliennes que nous avons décrites plus haut et qui sont à l'origine de l'invasion de la feuille.

Contrairement à ce qui se produit chez le *C. rolfsii*, l'arrêt de l'élongation n'entraîne pas, dans le cas du *S. coffeicolum*, la formation d'ébauches de sclérotes. Cette observation confirme les conclusions du paragraphe précédent. Elle s'ajoute au faisceau des présomptions qui tendent à démontrer que les transferts de protoplasme ne jouent qu'un rôle réduit dans la formation de ces organes chez l'agent de la « *Coremium disease* ».

Si les soies n'apparaissent jamais en culture, des formations mycéliennes dressées, de structure voisine, se rencontrent tant chez le *C. rolfsii* que chez le *S. coffeicolum* (Pl. V, C et D). Elles diffèrent des soies par la dimension des articles de leurs filaments constitutifs qui sont des latéraux caractéristiques. Ces formations, qui chez le *S. coffeicolum* se transforment en sclérotes et chez le *C. rolfsii* ont tendance à le faire, ne sont donc pas de même nature que les propagules, lesquelles, nous l'avons vu plus haut, sont des organes très particuliers, incapables, même lorsqu'ils reprennent, in situ, leur activité, de se transformer en ébauches. Leur absence sur les milieux gélosés ou liquides provient peut être de l'excessive humidité du substrat car nous avons constaté qu'elles ne pouvaient se former au contact de l'eau.

4. CONCLUSION.

Les comportements parasitaires du S. coffeicolum et du C. rolfsii présentent de nombreux points communs. Ces deux Champignons sont capables de pénétrer les tissus végétaux directement par l'intermédiaire des stomates. Ils sont à l'origine de nécroses zonées dont l'extension, si l'on met à part les résultats obtenus sur Manguier, peut être représentée par des courbes très voisines et leur mycélium, d'abord intercellulaire devient très vite intracellulaire. Cependant, de nombreux Champignons très éloignés les uns des autres par leur position taxonomique se conduisent de façon analogue. C'est ainsi que la zonation des nécroses n'est pas l'apanage des seules lésions dues au C. rolfsii et au S. coffeicolum. Elle peut être provoquée par le Corticium solani (Pril. et Delacr) Bourd. et Galz, le Macrophomina phaseoli (Maubl.) Ash., de nombreux Phyllosticia Pers., certains Ascochyla Lib., etc. [17]. De même la position successivement inter puis intracellulaire des hyphes n'est pas caractéristique. Elle se retrouve dans de très nombreux cas lorsque l'agent infectieux n'est pas un parasite obligatoire. Le fait que la pénétration s'effectue indifféremment au travers de la cuticule ou par l'intermédiaire des stomates est connu

chez les rouilles, les oïdiums et de nombreux Champignons Imparfaits [10]. Enfin, le fait que l'extension des nécroses soit limitée ou non pour les deux parasites signifie probablement qu'ils sont sensibles aux mêmes agents toxiques, ce qui est le cas de la plupart des Champignons. Il semble donc que ces similitudes, prises séparément, ne peuvent être considérées comme des preuves de parenté. En revanche leur accumulation plaide en faveur d'un rapprochement des organismes que nous comparons.

La ressemblance entre le *C. rolfsii* et le *S. coffeicolum* ne se limite pas au comportement parasitaire. Elle apparaît également lorsqu'on étudie l'anatomie des thalles. Ceux-ci présentent, en effet, deux types mycéliens successifs, caractérisés, chez les deux Champignons, par des aspects presqu'identiques et portent des sclérotes de morphologie voisine. Cependant l'identité est loin d'être parfaite. Le *S. coffeicolum* diffère du *C. rolfsii* par la présence de « cellules crampons », par le faible développement du mycélium aérien et l'organisation rudimentaire du système conducteur, par l'absence chez les sclérotes des macules, du cortex et de la medulla, enfin et surtout, par l'existence des soies. Celles-ci, nous l'avons vu, sont des organes très particuliers dont il n'existe aucun équivalent chez le *C. rolfsii*.

A l'exception de la dernière, ces divergences anatomiques peuvent paraître mineures, mais certaines sont à l'origine de différences d'ordre physiologique. C'est ainsi que l'absence de macules est sans doute corrélative de la germination tardive des sclérotes. C'est ainsi, également, que la carence du système conducteur se traduit chez le S. coffeicolum par la réduction des transports protoplasmiques et, de ce fait, par une édification précoce des sclérotes qui ne supportent qu'une faible concurrence alimentaire. Une autre différence présentée par la morphogénèse de ces organes réside dans l'absence apparente, chez le S. coffeicolum, de substance inductrice analogue au facteur morphogénétique que l'on peut mettre en évidence dans les thalles de C. rolfsii.

Tout ce qui précède démontre que le *C. rolfsii* et le *S. coffeicolum* présentent trop d'analogies pour qu'on puisse penser que leur ressemblance résulte d'une simple convergence morphologique. Il est malheureusement difficile de les réunir au sein d'un même genre tant que la forme parfaite du *S. coffeicolum* n'aura pas été découverte mais tout nous incite à le faire. En revanche, les différences qui les séparent sont assez importantes pour estimer que ces deux Champignons appartiennent à des espèces différentes.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Alston R.A., 1926. The occurrence of Sclerotium disease of Coffee in the North West District. British Guiana, Combined court, 32.
- [2] Bally W., 1931. Handbock voor de Koffiecultuur. Eerste Deel : de ziekten van de Koffi, J. H. De Bussy edit. Amsterdam, pp. 180-186.
- [3] Boisson C. et Frossard P., 1965. Note sur deux maladies à sclérotes des feuilles de Manguier et de Caféier « Excelsa » en Côte d'Ivoire. Fruits, 20, 10, pp. 565-569.
- [4] Chevaugeon J., 1952. Maladies des plantes cultivées en Moyenne-Casamance et dans le delta central nigérien. Rev. Pathol. vég. Entomol. agric. Fr. XXXI, 1, 3-51.

- [5] ECHANDI E. et Salas A., 1964. Third Annual Meeting of the Caribbean Division of the American Phytopathological Society, San José, Costa Rica, Abstract in Phytopathol. 54, 5, p. 498.
- [6] Goujon M., 1966. Mise en évidence d'un type fondamental d'hyphe chez le Corticium rolfsii (Sacc.) Curzi, C. R. Ac. Sci. Paris, 263, série D, p. 1695.
- [7] GOUJON M., 1967. Orientation et fonctions des transferts de protoplasmes chez le Corticium rolfsii (Sacc.) Curzi, C. R. Ac. Sci. Paris, 264, série D, p. 261.
- [8] Goujon M., 1967. Mise en évidence de trois phases distinctes dans le développement du *Corticium rolfsii* (Sacc.) Curzi en ce qui concerne la formation des sclérotes C. R. Ac. Sci. Paris, 264, série D, p. 2889.
- [9] Goujon M., 1968. Mise en évidence, dans le thalle du C. rolfsii (Sacc.) Curzi, d'un facteur morphogénétique responsable du développement. C. R. Ac. Sci. Paris, 267, série D, p. 409.
- [10] Horsfall J. G. et Dimond A. E., 1960. Plant Pathology, Vol. 2 The Pathogen Academic Press New York and London.
- [11] John K. P., 1963. Rhizoctonia and other diseases of cover Plants. R. R. I. Plant Bull., 68, pp. 187-190.
- [12] KUYPER J., 1913. -- Overzicht van de Koffeiziekten in Suriname. Department van den Landbouw. in Suriname Bull. 31, cité par Saccas A. M. (cf. plus bas).
- [13] LARPENT J. P., 1966. Caractère et déterminisme des corrélations d'inhibition dans le mycélium jeune de quelques Champignons. Ann. Sci. Nat. 12e série T. VIII Fasc. 1 Masson Edit. Paris.
- [14] Martyn E. B., 1930. The Sclerotium disease of Coffee. Some notes on the origin of the disease, its outbreak and control. *Agric. J. Bril. Guiana* III, 1, pp. 28-34.
- [15] NAG RAJ T. R. et GEORGES K. V., 1960. A disease of Coffee hitherto undescribed from India. Indian Coffee, Mon. Bull. Indian Coffee Bd. 24, 3, pp. 120-122.
- [16] Nowell W., 1926. Diseases of Coffee. Proc. Agric. Soc. Trinidad Tobago, XXXVI, 7, pp. 339-342.
- [17] ROGER L., 1951-1952. Phytopathologie des pays chauds. Tomes I et II Lechevalier édit. Paris.
- [18] Saccas A. M., 1957. La maladie des taches zonées de *Coffea excelsa* en Oubangui-Chari, due à *Sclerolium coffeicolum* Stahel, *supplément Rev. Mycol.*, 22, pp. 65-84.
- [19] Schütte K. H., 1956. Translocations in fungi. New Phytologist Vol 55, no 2, pp. 164-182.
- [20] Singh U.P. et Pavgi M.S., 1965. Spotted leaf rot of plants. A new Sclerotial Disease. Pl. Dis. Rep., 49, 1, pp. 58-59.
- [21] STAHEL G., 1921. De Sclerotium. Ziekt van de Liberiakoffie in Suriname. Dept van den Landbouw. Bull., 42, Résumé dans la R.A.M., 1922, 1, p. 14.
- [22] Symposium on Sclerotium rolfsii, 1961. Phytopathology, vol. 51, pp. 107-128.
- [23] Towsend B.B. et Willets, 1954. The development of sclerotia of certain fungi Trans. Brit. Mycol. Soc. vol. 87, pp. 213-221.
- [24] Weber G. F., 1931. Blight of carrots caused by Sclerolium rolfsii, with geographic distribution and host range of the Fungus. Phylopathology, 21, pp. 1129-1140.