

## Création expérimentale de lignées pathogènes et sexuées à partir d'un *Colletotrichum musae* (CKE. et MASSEE) et d'un *Glomerella cingulata* (STON.) SPAUL. et SCHR.

Françoise LE GRAND-PERNOT et Catherine GERLINGER\*

CRÉATION EXPERIMENTALE DE LIGNEES PATHOGENES ET SEXUEES A PARTIR D'UN *COLLETOTRICHUM MUSAE* (CKE. ET MASSEE) ET D'UN *GLOMERELLA CINGULATA* (STON.) SPAUL. ET SCHR.

Françoise LE GRAND-PERNOT et Catherine GERLINGER

*Fruits*, mars 1974, vol. 29, n°3, p. 181-189.

RESUME - L'étude du pouvoir pathogène du *Colletotrichum musae* est rendue difficile par l'absence de reproduction sexuée chez ce champignon.

Provoquer un tel phénomène, chez ces champignons imparfaits reste, à l'heure actuelle, difficile à réaliser, et les rares succès sont souvent contestés.

Comparer cette espèce à celle d'un *Glomerella* (*Glomerella cingulata*) semble raisonnable, si l'on se réfère à un certain nombre de caractères morphologiques et physiologiques.

Tenter d'associer dans un même individu la pathogénie du *Colletotrichum musae* et la sexualité du *Glomerella cingulata* paraissait audacieux, il semble pourtant que nous ayons pu créer de telles lignées (par l'intermédiaire de la formation d'hétérocaryons).

Si cette réussite est incontestable il n'en reste pas moins que nous sommes incapables à l'heure actuelle de qualifier avec précision la nature génétique de ces individus.

Le *Glomerella cingulata*, en plus des quelques amas conidiens, les acervules, produit en culture sur milieu avoine gélosé, spontanément ou après irradiation aux U.V., des périthèces ; en revanche le *Colletotrichum musae*, qui produit un grand nombre d'acervules, n'a jamais donné la moindre ébauche sexuelle dans les mêmes conditions (LE GRAND - PERNOT, 1).

Quand on dépose une suspension de spores de *Colletotrichum musae* sur une banane verte blessée on induit facilement des pourritures de péricarpe. Si on procède de la même façon avec une suspension de conidies de *Glomerella cingulata*, aucune nécrose ne se développe (photos 1, 2 et 3).

Cependant un certain nombre d'arguments morphologiques et physiologiques sont en faveur d'un rapprochement entre ces deux champignons. Si on suppose un degré de parenté suffisamment élevé, il n'est pas improbable que dans la nature, un certain nombre de lignées soient à la fois sexuées et pathogènes. Il semble que ce soit le cas pour des souches isolées de bractées florales chez le bananier, néanmoins parmi les isolats sexués, 50 p. cent seulement ont un pouvoir pathogène (KAISER et LUKEZIC, 2).

Il se peut aussi que dans la nature, ces deux potentialités s'expriment rarement ensemble, mais qu'on puisse les révéler au laboratoire, c'est ce qu'aurait obtenu pour la première fois LIU LIH-JANG (3), avec la formation du stade sexuel chez le *Colletotrichum gloeosporioides*.

Néanmoins ces deux exemples ne suffisent pas pour

\* - Laboratoire Biologie expérimentale - Faculté des Sciences Orsay.

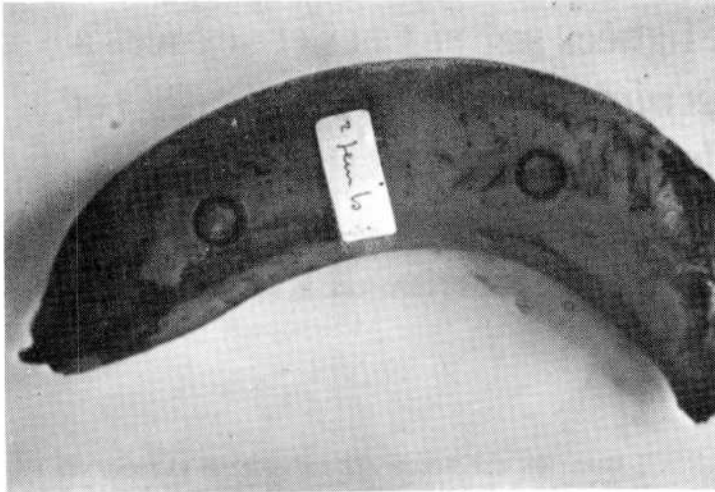
POUVOIR PATHOGÈNE DU *COLLETOTRICHUM MUSAE*.

Photo 1. Expérience témoin : les bananes sont blessées, mais elles ne sont pas inoculées.

Photo 2. Expérience Gba : les bananes blessées sont inoculées par une suspension conidienne de *Glomerella cingulata*. Dix jours après, aucune nécrose ne s'est développée.

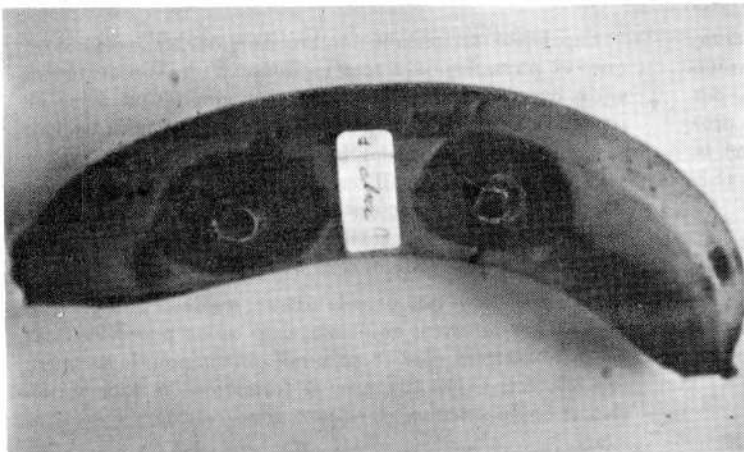


Photo 3. Expérience Cha : les bananes blessées sont inoculées par une suspension conidienne de *Colletotrichum musae*. Quelques jours après, de fortes nécroses se développent au niveau des blessures.

généraliser ce phénomène et pour remettre en cause les données couramment appliquées pour définir la notion d'espèce.

Posséder une souche à la fois sexuée et pathogène était nécessaire pour aborder le problème posé ci-dessus, et pour faciliter l'étude génétique du pouvoir pathogène, puisque une recherche par la voie sexuée est de loin celle qui apporte le plus d'informations, par la fréquence de ses recombinaisons au cours de la méiose. Le moyen utilisé est différent des deux premiers cas, nous envisageons ici de créer des individus recombinés à partir de cellules somatiques, dans lesquelles les noyaux haploïdes sont capables de fusionner pour donner des noyaux diploïdes, puis de perdre progressivement un certain nombre de chromosomes et de retrouver un état de ploïdie initial.

Pour fabriquer de tels individus, nous partons de cellules végétatives uninucléées et haploïdes : les conidies, présentes chez les deux souches. La grande variabilité du matériel, la ressemblance stricte des conidies, nous empêche de contrôler facilement le phénomène. Nous devons donc marquer artificiellement les souches pour tenter de démontrer cet événement. Les marqueurs sont des mutants ponctuels affectant une fonction métabolique simple, comme la synthèse d'un acide aminé ou d'une vitamine. Sur un milieu approprié, le milieu minimum, on peut obliger ces mutants à se compléter, en formant des anastomoses, puis en échangeant leurs informations dans un même cytoplasme (phénomène d'hétérocyose). Enfin, si le matériel est suffisamment compétent, on peut espérer la fusion des noyaux (stade diploïde), puis après la perte progressive de chromosomes remaniés, aboutir à un stade, de nouveau, haploïde mais recombiné (phénomène de recombinaison mitotique (PONTECORVO, 4).

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Les souches.

Les thalles sont cultivés sur milieu avoine gélosé, à l'obscurité, dans une enceinte à 26°C et 70 p. cent d'humidité relative.

#### *Colletotrichum musae.*

La souche présente un mycélium ras, clair, et de très nombreuses petites masses oranges, les acervules, formés par l'agglutination de conidies. Ces spores assurent la propagation de l'espèce.

#### *Glomerella cingulata.*

Nous nous sommes intéressés à une souche mutante qui rassemble un certain nombre de propriétés intéressantes que ne possède pas toujours la souche sauvage d'origine (stabilité au cours du temps, production intense de conidies et de périthèces, ressemblance morphologique importante avec le *Colletotrichum musae*, si on exclut bien sûr la présence des périthèces). Cette souche a pour origine une ascospore isolée sur la souche mère qui a subi une exposition aux

radiations ultra-violettes (LE GRAND-PERNOT, 1).

A l'oeil nu elle apparaît comme une souche de type conidial, à la loupe binoculaire on observe des petits périthèces isolés sur les acervules ; une préparation microscopique montre qu'un périthèce contient au maximum une vingtaine d'asques, chacun renfermant huit ascospores.

La modification par rapport à la souche sauvage est stable au cours des repiquages, et se transmet héréditairement par les ascospores. Il semble d'après quelques croisements que cette différence soit due à un seul gène.

### Obtention de mutants auxotrophes.

Il est difficile de s'assurer, par simple observation morphologique de l'aptitude des conidies, ou des mycéliums, à s'anastomoser et à contracter des associations hétérocyotiques, force est donc d'adjoindre aux caractères étudiés (pathogénie et sexualité) d'autres marqueurs comme ceux qui affectent une fonction métabolique simple.

On traite des suspensions conidiennes ( $10^7$  conidies/ml) en présence d'une solution de N méthyl N'-nitrosoguanidine à 80/ml, dans un bain-marie à 26°C pendant 30 mn pour la souche *Colletotrichum musae*, et 2 h pour la souche *Glomerella cingulata*. Cette différence dans la durée de l'exposition a été rendue nécessaire, dans la mesure où l'on n'a pas obtenu de mutants auxotrophes chez le *Glomerella*, quand on laisse agir l'agent mutagène pendant 30 mn seulement.

On sélectionne ces mutants sur un milieu minimum. Une méthode simple a été mise au point pour récupérer un maximum de mutants auxotrophes parmi une population prototrophe :

Après la mutagénèse on étale environ  $10^3$  conidies par boîte de Pétri contenant un milieu minimum. Au bout de 24 heures on verse dans chacune de ces boîtes une solution gélosée contenant de la nystatine. Cet antibiotique agit sur les cellules en croissance en affectant la structure membranaire (STANLEY, 5) ; il va donc détruire un grand nombre de jeunes thalles prototrophes issus de conidies sauvages ou mutantes pour d'autres caractères que l'auxotrophie. On laisse agir l'antibiotique 48 heures, puis on expose les boîtes à la lumière pour détruire l'action de la nystatine. On supplémente alors les boîtes avec une fine couche de milieu malté gélosé, afin que les souches mutantes auxotrophes recherchées puissent se développer. On repique ces jeunes thalles sur milieu avoine afin d'étudier leur croissance et leur morphologie. Puis on détermine l'auxotrophie de chacun de ces mutants par la méthode mise au point par HOLLIDAY (6) qui consiste à enrichir des boîtes de milieu minimum avec des acides aminés, des bases, des facteurs de croissance associés de douze façons différentes.

### Inoculations sur bananes.

Il est nécessaire de vérifier si les mutants auxotrophes du *Colletotrichum* conservent toujours leur pathogénie, et si les mutants auxotrophes du *Glomerella* ont acquis ou non un pouvoir pathogène.

Nous devons à FROSSARD (7) la mise au point d'un test simple pour mesurer le développement de l'anthraxose. Un certain nombre de détails supplémentaires, communiqués oralement par LAVILLE et BRUN, nous ont permis de réaliser ces inoculations dans notre laboratoire.

Nous disposons de bananes vertes traitées au thiabendazole. Les bananes sont blessées légèrement (1 mm de profondeur) à l'aide d'un emporte-pièce circulaire de 9 mm de diamètre. Une suspension de spores ( $10^6$  à  $10^8$  conidies/ml) est déposée sur chacune des blessures. Ces conidies âgées de 5 à 26 jours sont en suspension soit dans l'eau pour les conidies sauvages, soit dans une solution nutritive appropriée pour les conidies mutantes. On a constaté que les conidies mutantes auxotrophes ne trouvaient pas toujours dans la peau de banane les substances nécessaires à leur développement (photos 4 et 5). La contrainte d'ajouter un acide aminé ou une vitamine est gênante car on ne peut pas savoir si la non pathogénie de certains de ces mutants vis-à-vis de l'hôte est due à l'absence de croissance de ces souches quand le milieu est dépourvu d'un métabolite essentiel, ou si l'absence d'une activité enzymatique précise est en relation directe avec la pathogénie. Nous ne sommes pas capables de répondre à cette question actuellement.

Après avoir été inocuées, les bananes mûrissent selon le schéma classique de température décroissante.

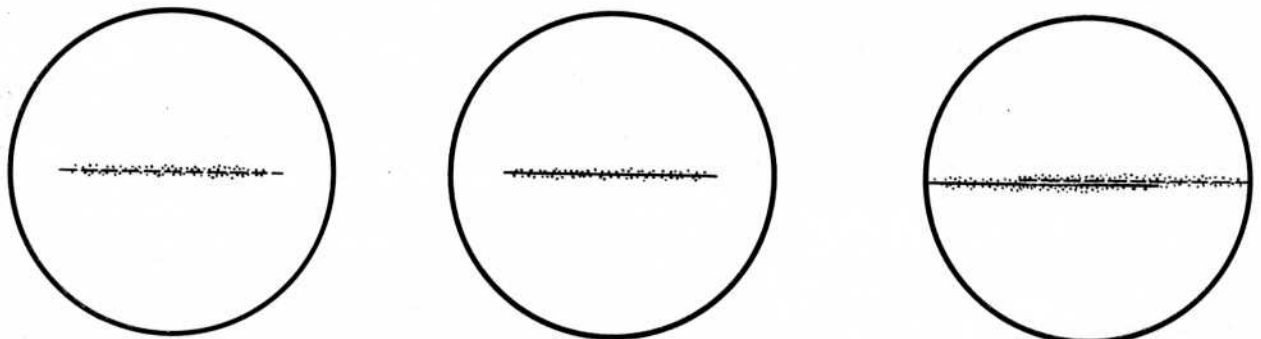
#### Conditions expérimentales pour provoquer les anastomoses et les hétérocaryons.

Des fils de coton de 6 cm de long sont trempés dans des suspensions de conidies de chacune des souches à associer par des anastomoses. Ces fils sont tendus sur des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, contenant un milieu minimum gélosé ; les deux fils imprégnés de conidies provenant d'une lignée sexuée non pathogène, et d'une lignée asexuée pathogène, marquées par des déficiences différentes, sont placés côte à côte mais décalés à l'origine (figure 1).

Ainsi chaque boîte comporte à la fois une zone expérimentale centrale, où les anastomoses entre souches sont favorisées par leur proximité, et deux zones témoins, où seules les conidies d'une des deux provenances sont présentes.

Des boîtes de milieu minimum portant un seul fil, imprégné d'une seule des deux souches permettent d'autre part de contrôler d'éventuelles réversions spontanées vers la protrophie de chacun des partenaires.

FIGURE 1 - CONDITIONS EXPÉRIMENTALES POUR PROVOQUER DES ANASTOMOSES ET DES HÉTÉROCARYONS



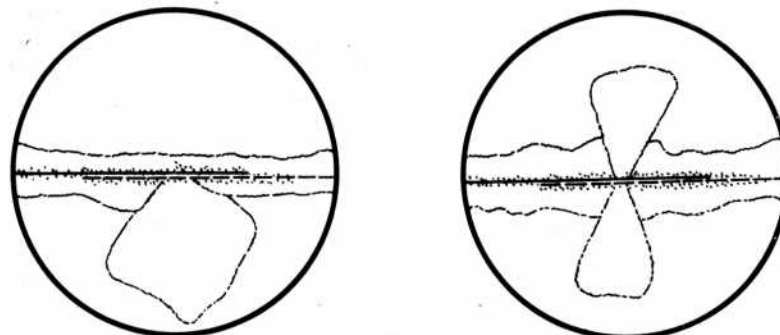
#### Boîtes témoins

A : sur une boîte de milieu minimum gélosé (MM) on dépose un fil de 6 cm imprégné d'une suspension conidienne d'un mutant  $m_1$  de *Colletotrichum musae* : Cba  $m_1$ .

B : sur MM on dépose un fil de coton de 6 cm imprégné d'une suspension conidienne d'un mutant  $m_2$  de *Glomerella cingulata* : Gba  $m_2$ .

#### Boîtes d'expérience

C : sur MM on dépose à la fois un fil imprégné de Cba  $m_1$  et un fil imprégné de Gba  $m_2$ . On fait en sorte qu'il existe une zone de superposition d'environ 3 cm au centre de la boîte.



Apparition de secteurs mycéliens sur certaines boîtes d'expériences, après trois semaines de croissance.

DÉVELOPPEMENT DE NÉCROSES SUR DES BANANES INOCULÉES PAR DES SOUCHES MUTANTES  
DE *COLLETOTRICHUM MUSAE*.

Comme nous l'avons déjà dit, il est gênant de supplémenter le milieu pour obtenir une nécrose. Bien que nous ne sachions pas à quoi est relié le pouvoir pathogène, nous pensons que cette supplémentation n'a qu'une valeur trophique pour les souches qui nous intéressent.

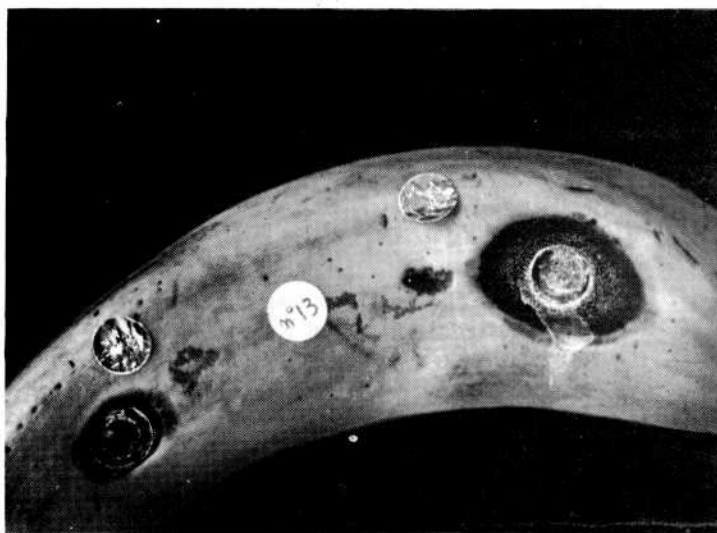


Photo 4. Une souche mutante du *Colletotrichum musae*, déficiente pour la méthionine, la cystéine et l'arginine : si la banane est inoculée avec les conidies mises en suspension dans une solution comprenant les différents acides aminés (méthionine, cystéine et arginine), on constate (inoculation de droite) qu'une nécrose importante se forme après 6 jours d'incubation. Par contre, ces mêmes conidies, mises en suspension dans de l'eau et déposées sur la blessure de gauche, ne provoquent pas de dégâts après 6 jours d'expérience.

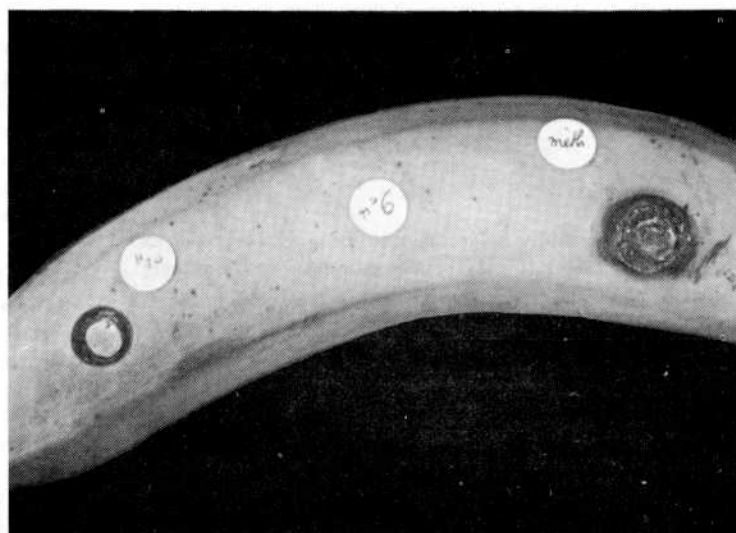


Photo 5. Une autre souche mutante du *Colletotrichum musae*, déficiente pour la méthionine : l'expérience est analogue à la précédente, à droite les conidies sont en suspension en présence de méthionine et provoquent une nécrose sur la banane ; à gauche les conidies sont en suspension dans l'eau et aucune pourriture ne se développe autour de la blessure.



Les boîtes sont placées dans une chambre de culture à 26°C et 60 p. cent d'humidité relative pendant plusieurs semaines.

**Sélection et vérification de la nature «hybride» des secteurs développés sur milieu minimum au contact des deux fils.**

Lorsque des secteurs mycéliens apparaissent dans la zone de contact entre les deux fils, des boutures comprenant une ou deux extrémités d'hyphes sont prélevées dans la frange en croissance de ces secteurs, et repiquées sur milieu avoine gélosé. On élimine en première approximation toutes les souches qui présentent une morphologie identiques à l'un des parents. Afin de vérifier si les extrémités d'hyphes, originaires du secteur et transférées sur milieu avoine, possèdent les deux potentialités, des boutures sont repiquées sur des milieux différents (milieu minimum supplémenté par la substance que l'une des souches ne sait pas synthétiser : MM+m<sub>1</sub>, et milieu minimum supplémenté par la substance que l'autre partenaire ne sait pas fabriquer : MM+m<sub>2</sub>), et sur le milieu minimum. Lorsqu'une même bouture a une croissance bien définie sur chacun de ces milieux différents et qu'elle pousse généralement mal sur milieu minimum, elle est conservée sur milieu complet. Dans ce cas on est sûr que la bouture présente l'ensemble des caractères auxotrophes, mais que les deux partenaires n'étaient pas restés suffisamment longtemps ensemble pour contracter des associations hétérocaryotiques. On conserve ces boutures six à huit semaines en tube sur milieu complet. Puis à partir de chacun de ces tubes, on effectue plusieurs repiquages sur milieu avoine gélosé. On effectue de nouveau un test sur milieux différentiels, seuls les thalles présentant un intérêt sont conservés. On prélève de ces thalles des ascospores qui donnent naissance à des lignées que l'on teste sur milieux différentiels, y compris le milieu minimum. Seuls les clones issus d'une ascospore et présentant les caractéristiques des deux partenaires, ou des caractères nouveaux sont conservés pour être testés sur bananes.

## RESULTATS

### Première série.

A la suite de toutes les confrontations possibles (répétées chacune sept fois) entre six lignées mutantes du *Glomerella cingulata* et dix lignées mutantes du *Colletotrichum musae*, on constate au niveau de la superposition des fils déposés sur milieu minimum, l'apparition de secteurs plus ou moins bien délimités. Parmi les 2520 boîtes d'expériences, correspondant aux 360 associations possibles, 132 ont montré des développements sectoriels bien délimités, et intéressaient 43 associations différentes (figure 1).

A la suite des premiers tests différentiels, 49 thalles, provenant de 28 couples différents, produisaient des réponses intéressantes.

L'élimination rapide de certaines associations était due essentiellement au fait que l'un des partenaires avait une vitesse de croissance deux à trois fois plus importante que

l'autre, et que ce dernier était rapidement éliminé.

Parmi ces 49 thalles :

37 présentèrent des résultats voisins : ils poussaient tous sur les milieux «minimums» additionnés de l'une ou de l'autre des substances que les deux partenaires en question ne savaient pas synthétiser, ils présentaient sur ces milieux, comme sur le milieu avoine gélosé, une morphologie et une vitesse de croissance plus ou moins distincte de celle des «parents», ils avaient sur milieu minimum une croissance plus ou moins bien définie.

12 ne poussaient sur aucun des trois milieux suivants : milieu minimum, milieu minimum supplémenté par la substance que le partenaire sexué ne savait pas fabriquer, et milieu minimum supplémenté par la substance que le partenaire asexué ne sait plus synthétiser ; et présentaient sur milieu complet (avoine gélosé) une morphologie voisine ou distincte de celle des partenaires associés initialement.

### Discussion.

Pour la situation des 37 cas, nous pouvons penser que ces types de thalles soit possèdent les deux potentialités, soit sont un mélange de filaments, et la croissance sur milieu serait une complémentarité par le milieu. Il est difficile d'envisager la réversion vers la prototrophie des souches «parentales», d'une part parce que les témoins n'ont jamais présentés de secteurs prototrophes, et d'autre part parce que ces souches nouvellement formées sont bien souvent morphologiquement distinctes des deux partenaires mis en jeu au cours de la confrontation initiale.

Il se peut aussi que nous soyons, pour certains des 37 cas, déjà en présence d'hétérocaryons, ou même de diploïdes ou bien encore de recombines mitotiques prototrophes, puisqu'il y a croissance plus ou moins bien définie sur tous les milieux et plus particulièrement sur milieu minimum. Une étude sur la nature de la production des conidies peut nous apporter des précisions importantes, nous permettant de savoir si ces deux potentialités sont dans deux noyaux différents (cas d'un mélange de filaments, cas d'hétérocaryons) ou si les deux potentialités sont masquées dans un même noyau (cas des diploïdes) ou ont disparu de ce noyau (cas des réversions, cas des recombines sauvages).

Cet essai ne fut réalisé que plus tard avec une série d'expériences semblable au cas précédent, et nous a permis de démontrer l'existence d'un stade hétérocaryotique. En effet si nous prélevons une seule extrémité d'hyphes (grâce à des microcultures sur un milieu gélosé en couche mince), que nous la faisons croître sur milieu complet et que nous étudions la nature des conidies formées sur ce thalle, nous constatons alors qu'elles sont de deux types, et chacune d'entre elles correspond aux caractères des conidies parentales. L'extrémité d'hyphe prélevée renfermait donc les deux types de noyaux auxotrophes de chacun des partenaires. L'étude d'un échantillonnage de ces conidies a montré que la production conidiale n'était pas la même pour les deux types de conidies. Nous pouvons penser que c'est dû au nombre inégal de noyaux de chaque sorte dans l'extrémité

d'hyphe prélevée.

Pour la situation des 12 cas, où la croissance ne s'observe que sur le milieu avoine gélosé, et donne naissance à des thalles parfois différents des parents, nous devons exclure automatiquement un mélange de filaments «parentaux». Il se peut que nous soyons :

- soit en présence d'un seul partenaire (ou des deux), mais qui a (ou ont) dû acquérir une mutation auxotrophe nouvelle, ce qui a priori semble peu probable quand on sait que la fréquence d'une mutation spontanée, pour ces caractères auxotrophiques est au plus de l'ordre de  $10^{-6}$ .

- soit au moins au stade d'hétérocaryons ou de diploïdes, mais il faut supposer que ces mutations auxotrophes sont dominantes, ce qui n'est pas le cas, puisque des secteurs se sont développés initialement sur milieu minimum.

- soit déjà au stade des recombinaisons mitotiques doubles mutants, qu'il nous a été possible de sélectionner puisque ces thalles ont été mis sur milieu avoine gélosé, c'est-à-dire sur un milieu complet où toutes les potentialités peuvent s'exprimer. Un repiquage sur milieu minimum supplémenté par les deux substances non synthétisées par les partenaires initialement confrontés, aurait pu apporter une réponse, mais cette expérience ne fut pas réalisée à ce moment là. Elle n'est envisagée que dans la seconde partie des résultats (tableau 1).

#### Seconde série de résultats.

A partir des 49 thalles correspondant aux 28 associations différentes, testées de nouveau sur milieux différentiels, quatre couples de partenaires différents furent conservés. De ces quatre couples on isola 467 ascospores. Le faible

TABLEAU 1 - Analyse des lignées sexuées, issues d'ascospores, sur des milieux différents et sur des bananes.

Association du couple au départ	Nombre d'ascospores isolées	Test des thalles issus d'ascospores sur milieux différentiels				Nombre de thalles ayant provoqué des nécroses sur bananes
		MM	MM+sub1	MM+sub2	MM+1+2	
Série 1 Gba 57/Cba 44 ↓        ↓ leu <sup>-</sup> méth <sup>-</sup>	206		(+leu)	(+méth)	(leu + méth)	22**
Série 2 Gba 1317/Cba 707 ↓        ↓ ino <sup>-</sup> hist <sup>-</sup>	218		(+ino)	(+hist)	(ino + hist)	7
Série 3 Gba 1317/Cba 777 ↓        ↓ ino <sup>-</sup> ino <sup>-</sup>	10		(+ino)	(+ino)	(+ino)	0
Série 4 Gba 57/Cba 389 ↓        ↓ leu <sup>-</sup> aa <sub>1</sub> <sup>-</sup>	33		(+leu)	(+aa <sub>1</sub> )	(leu + aa <sub>1</sub> )	4

MM : milieu minimum.

MM+sub1 : milieu minimum supplémenté par la substance que le mutant auxotrophe sexué ne sait pas synthétiser

MM+sub2 : milieu minimum supplémenté par la substance que le mutant auxotrophe asexué ne sait pas synthétiser

MM+1+2 : milieu minimum supplémenté par les deux substances que le couple de mutants ne sait pas synthétiser

Gba 57 leu<sup>-</sup> : mutant auxotrophe pour la leucine chez Glomerella.

Gba 1317 ino<sup>-</sup> : mutant auxotrophe pour l'inositol chez Glomerella.

Cba 707 hist<sup>-</sup> : mutant auxotrophe pour l'histidine chez Colletotrichum.

Cba 777 ino<sup>-</sup> : mutant auxotrophe pour l'inositol chez Colletotrichum.

Cba 389 aa<sub>1</sub><sup>-</sup> : mutant auxotrophe pour la méthionine, la cystine et l'arginine chez Colletotrichum.

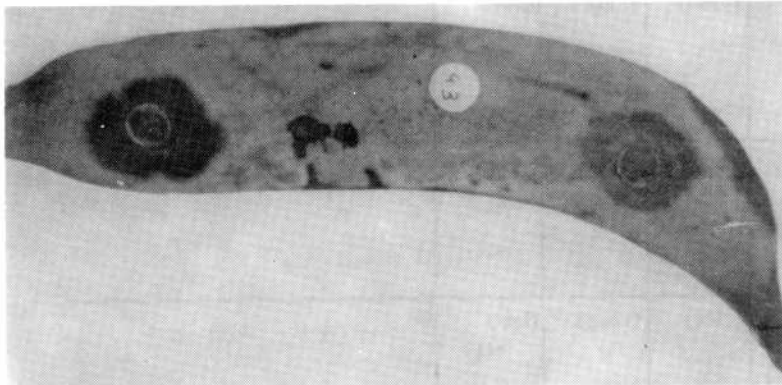
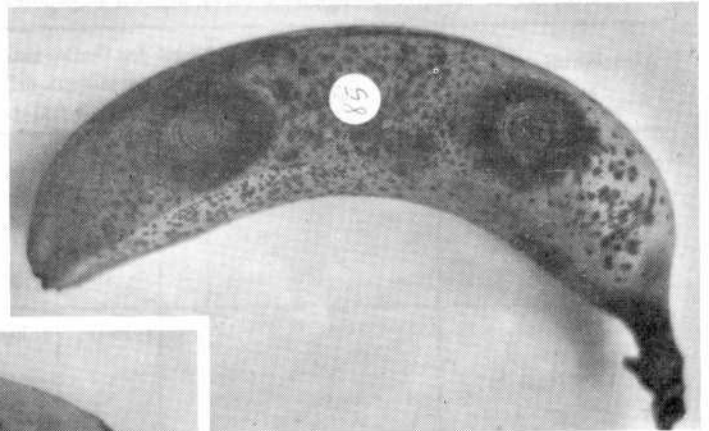
\*\* : Parmi les thalles issus de 22 ascospores différentes qui ont provoqué des nécroses sur bananes (photos 7 et 8), 13 provenaient d'ascospores isolées dans un même périthèce.

**TEST MONTRANT QUE CERTAINES LIGNÉES SEXUÉES, CRÉÉES AU LABORATOIRE, SONT AUSSI PATHOGÈNES.**

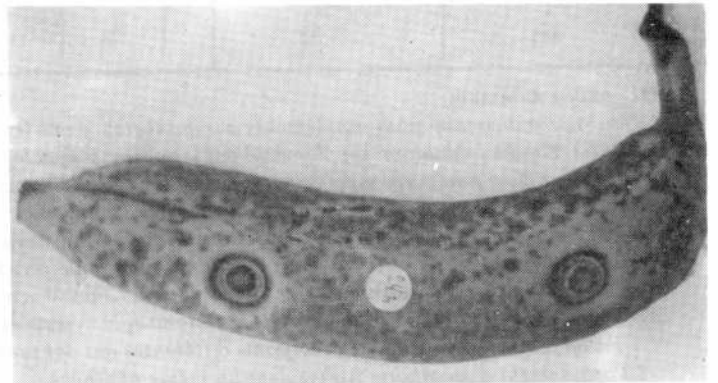


**Photo 6.** Témoin de blessure.

**Photo 7.** Banane inoculée par les conidies de la lignée originale de l'ascospore 85, provenant de la confrontation initiale d'un Gba 57 et d'un Cba 44.



**Photo 8.** Banane inoculée par les conidies de la lignée originale de l'ascospores 43, provenant de la confrontation initiale d'un Gba 57 et d'un Cba 44.



**Photo 9.** Cas où la réponse à l'inoculation a été négative.



pourcentage de germination des ascospores dans chacun des ascques nous obligea dans la plupart des cas à prendre les ascospores en vrac dans différents périthèces.

#### Discussion.

Si nous ne pouvons pas mettre en doute l'existence de lignées sexuées et pathogènes à partir d'un *Glomerella cingulata*, forme sexuée non pathogène, et d'un *Colletotrichum musae*, forme imparfaite parasite, il est plus difficile de connaître la nature exacte de ces lignées : sont-elles diploïdes ? partiellement diploïdes ? redevenues haploïdes, mais où les caractères originaux ont été remaniés (recombinés mitotiques ?).

Dans la mesure où les ascospores semblent en tout point identiques à celles de la souche sexuée *Glomerella cingulata*, et que l'on retrouve au moins dans deux cas (série 1 et série 4) des lignées auxotrophes pour la leucine, il est difficile de croire que les lignées testées étaient diploïdes. Dans la mesure où la méiose se déroule normalement, on a des

difficultés à imaginer un diploïde partiel ; d'autre part lorsqu'on constate, au bout de quelques mois, que les deux potentialités (la sexualité et la pathogénie) se séparent de nouveau, il est difficile de croire qu'elles étaient intégrées auparavant dans un même génome haploïde, grâce à la recombinaison mitotique.

Ce qu'il ne faut pas remettre en doute, c'est qu'il existe bien des échanges entre *Glomerella cingulata* et *Colletotrichum musae*, mais il est difficile d'établir à quel niveau s'arrêtent ces relations. On a prouvé depuis que des anastomoses (Martine TROCME, 8) et des hétérocaryons (Françoise LE GRAND (non publié) se produisent, on a de bonnes raisons de penser que la fusion des noyaux peut avoir lieu, il est très probable que des brassages interchromosomiques sont possibles.

Ce résultat, bien que partiel, nous laisse entrevoir qu'il existe vraisemblablement une parenté étroite entre *Colletotrichum musae* et *Glomerella cingulata*.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 - LE GRAND-PERNOT (Françoise) 1972.  
Influence de la lumière sur la production périthéciale chez *Glomerella cingulata*.  
*Fruits*, mai 1972, vol. 27, n°5, p. 339-348.
- 2 - KAISER (W.J.) et LUKESIC (F.L.) 1966.  
Occurrence, sporulation and pathogenicity studies with *Glomerella cingulata* associated with crown rot of boxed bananas.  
*Mycologia*, 58, 397-405.
- 3 - LIU, LI-JANG, 1972.  
Identification and occurrence of perfect stage and cultural and morphological variants of *Colletotrichum gloeosporioides* from guava in Puerto Rico.  
*J. agric. Univ. P.R.*, 56, 2, 171-180.
- 4 - PONTECORVO (G.) 1956.  
The parasexual cycle in Fungi.  
*Ann. Rev. of Microbiology*, 10, 393-400.
- 5 - STANLEY Valérie (C.) 1965.  
Some effects of nystatin on the growth of four *Aspergillus* species.  
*J. gen. microbiology*, 40, 107-118.
- 6 - HOLLIDAY (R.) 1956.  
A new method for the identification of biochemical mutants of micro-organisms.  
*Nature*, 178, 987.
- 7 - FROSSARD (P.) 1970.  
Etude de la sensibilité des bananes à l'antracnose de blessure due au *Colletotrichum musae* (BERK et CURT) ARX.  
*Fruits*,
- 8 - TROCME (Martine) 1973.  
Etude des bases génétiques du pouvoir pathogène de l'agent d'antracnose du melon, *Colletotrichum lagenarium*.  
*D.E.A. Orsay*.

