

# LA FUSARIOSE DE L'ANANAS AU BRÉSIL.

## II-PATHOLOGIE ET CARACTÉRISTIQUES DE DIVERSES RACES ET FORMES SPÉCIALES AU SEIN DE L'ESPÈCE *FUSARIUM MONILIFORME* VAR. *SUBGLUTINANS*.

**Jacqueline PERRIOT\***

LA FUSARIOSE DE L'ANANAS AU BRÉSIL

II.- Pathologie et caractéristiques de diverses races et formes spéciales au sein de l'espèce *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*

Jacqueline PERRIOT

*Fruits*, Juin 1980, vol. 35, n° 6, p. 335-354.

RESUME - Des différences sont mises en évidence entre plusieurs isolats de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* issus d'ananas atteints de fusariose au Brésil.

Ces souches diffèrent par leurs activités pathogènes, par leurs aptitudes à produire ou non des substances de type gibberellines et par certains de leurs constituants (esterases et protéines totales).

Ces variations sont cependant de faible amplitude et doivent être vraisemblablement attribuées à la relative jeunesse de la population de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, inféodée à l'ananas et encore limitée au seul Brésil.

*La matière de cet article est issue d'un travail de recherche, effectué par Jacqueline PERRIOT, avec le soutien de la DGRST, dans le cadre du laboratoire commun de Phytopathologie du Centre de Recherches du GERDAT de Montpellier (1977-1979). L'ensemble du travail a été présenté en septembre 1979 à l'Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, au titre de Doctorat de troisième cycle.*

*Il prend place dans le programme des recherches établi à partir d'un ensemble de consultations et d'échanges, entre l'IRFA/GERDAT et la SUDENE (Superintendencia de Desenvolvimento do Nordeste) pour le développement de la culture de l'ananas au nord-est du Brésil, dans le cadre de la Coopération scientifique et technique française avec le Brésil (1976-1979).*

Etienne LAVILLE  
Service de Phytopathologie  
IRFA-GERDAT, Montpellier

### INTRODUCTION

La culture de l'ananas au Brésil recouvre une aire géographique étendue du nord au sud sur plus de 2.000 kilomètres en bordure d'Atlantique et la répartition de la population du pathogène *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* (1, 13, 21). coïncide avec celle de sa plante hôte. Il est par con-

séquent important de vérifier l'existence de races de virulences différentes au sein de cette population parasite, car elle gouverne la nature des relations hôte-parasite dans ce couple Ananas-Fusarium et commande la stratégie de la lutte à entreprendre.

Il est également très important de savoir si d'autres

\* - Laboratoire de Phytopathologie IRFA-GERDAT, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex

*Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, comme ceux inféodés au maïs, au pin et au bananier, sont ou non pathogènes pour l'ananas et, par conséquent, de vérifier si les souches isolées d'ananas sont bien spécifiques de cette plante.

Nous avons enfin tenté de rechercher parmi ces souches celles qui produisent éventuellement de la gibberelline, afin de relier cette production soit à un symptôme particulier, soit à une action complémentaire de la pathogénie.

#### ETUDE COMPAREE DES SOUCHES POUR LEURS ACTIVITES PATHOGENES

L'étude de l'activité pathogène des souches a été réalisée avec les variétés Cayenne lisse et Perola (6, 17) par plusieurs séries d'inoculations sur différents organes de l'ananas, feuilles détachées, fruits récoltés et rejets, avec les souches suivantes :

Dénomination et classification des souches	Origine
ANA - <i>Fusarium moniliforme</i>	isolé de «taches noires» d'ananas - Côte d'Ivoire
32 a - <i>Fusarium moniliforme</i>	isolé de nécroses de fruits ananas - Brésil
32 b - <i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	isolé de fruit atteint de fusariose - Ananas - Paraiba - Brésil
86 - <i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	isolé de rejet atteint de fusariose - Ananas - Espírito Santo - Brésil
103 - <i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	isolé de rejet atteint de fusariose - Ananas Sao Paulo - Brésil
MS - <i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	isolé de maïs - sud-ouest de la France
PN - <i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	isolé de pin - Georgie - USA (n° M 1071)
BN - <i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	isolé de bananier - Cameroun

Les inoculations sont réalisées avec des suspensions de microconidies, récoltées sur des cultures âgées de dix jours et titrant  $10^8$  microconidies par ml, injectées à l'aide d'une seringue hypodermique dans les organes utilisés. Les témoins étaient inoculés à l'eau stérile (5, 11).

Sur fruits récoltés (arrivages en provenance de Côte d'Ivoire après huit à dix jours de transport maritime), ainsi que sur feuilles isolées, les résultats ont été très médiocres, des altérations secondaires venant masquer l'activité propre de chaque souche utilisée.

Sur rejets, l'évolution de la maladie a été suivie durant six semaines et nous avons noté l'émission de gomme et la mortalité des plants.

Comparaison d'activité entre *Fusarium moniliforme* et *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*.

Les résultats sont mentionnés dans les figures 1 et 2.

Avec les deux variétés, la réaction des plants d'ananas inoculés avec les souches de *Fusarium moniliforme* (32 a et ANA) ne peut être distinguée des témoins. Seules les sou-

ches *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* sont pathogènes (32 b, 86, 103).

Comparaison d'activité entre *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* de diverses origines.

Les résultats obtenus au cours de deux séries d'inoculations sur Cayenne lisse sont mentionnés dans les figures 3 et 4.

Dans la première série, la souche 32 b est la seule à provoquer l'émission de gomme.

Dans la deuxième série également, seules les souches inféodées à l'ananas sont susceptibles d'induire les symptômes de la fusariose et d'entraîner la mort de certains plants inoculés (32 b, 86, 103).

La souche 32 b isolée de fruit semble provoquer les symptômes et entraîner la mort des plants plus rapidement et plus intensément.

La souche 86 paraît plus active que la souche 103 et cette dernière peut être considérée comme la moins active des trois.

Aucune des souches isolées soit du maïs, soit du pin ou du bananier, ne s'est révélée pathogène pour l'ananas.

#### ETUDE COMPAREE DES SOUCHES POUR LEUR PRODUCTION DE GIBBERELLINE

Les gibberellines sont des diterpènes cycliques produits uniquement dans l'espèce *F. moniliforme* et par certaines souches seulement. Nous savons que ces produits ont été mis en évidence à l'occasion d'études effectuées sur *Gibberella fujikuroi* du riz (4). Des champignons de cette espèce issus d'hôtes différents du riz ont été étudiés afin de déterminer si ces souches pouvaient synthétiser des substances aux propriétés biologiques semblables (22).

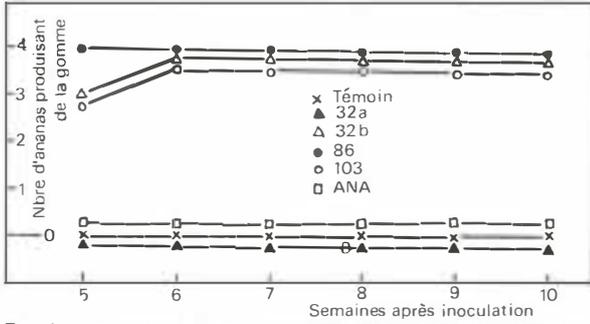


Fig. 1 • APPARITION DU SYMPTOME PRODUCTION DE GOMME SUR LA VARIETE CAYENNE LISSE.

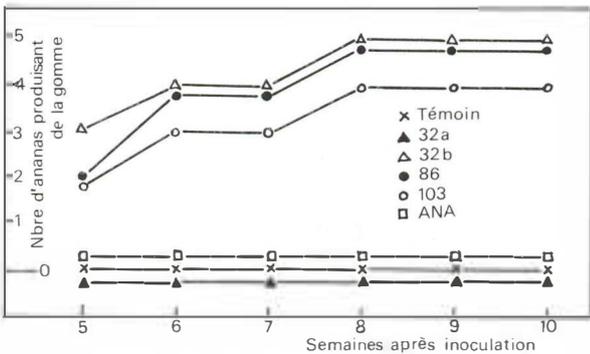


Fig. 2 • APPARITION DU SYMPTOME PRODUCTION DE GOMME SUR LA VARIETE PEROLA.

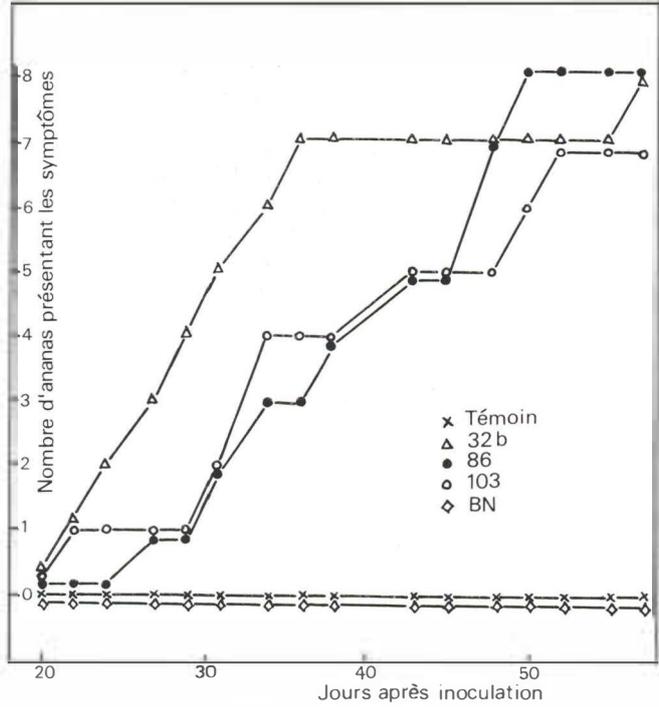


Fig. 4 • APPARITION DES SYMPTOMES SUR LA VARIETE CAYENNE LISSE.

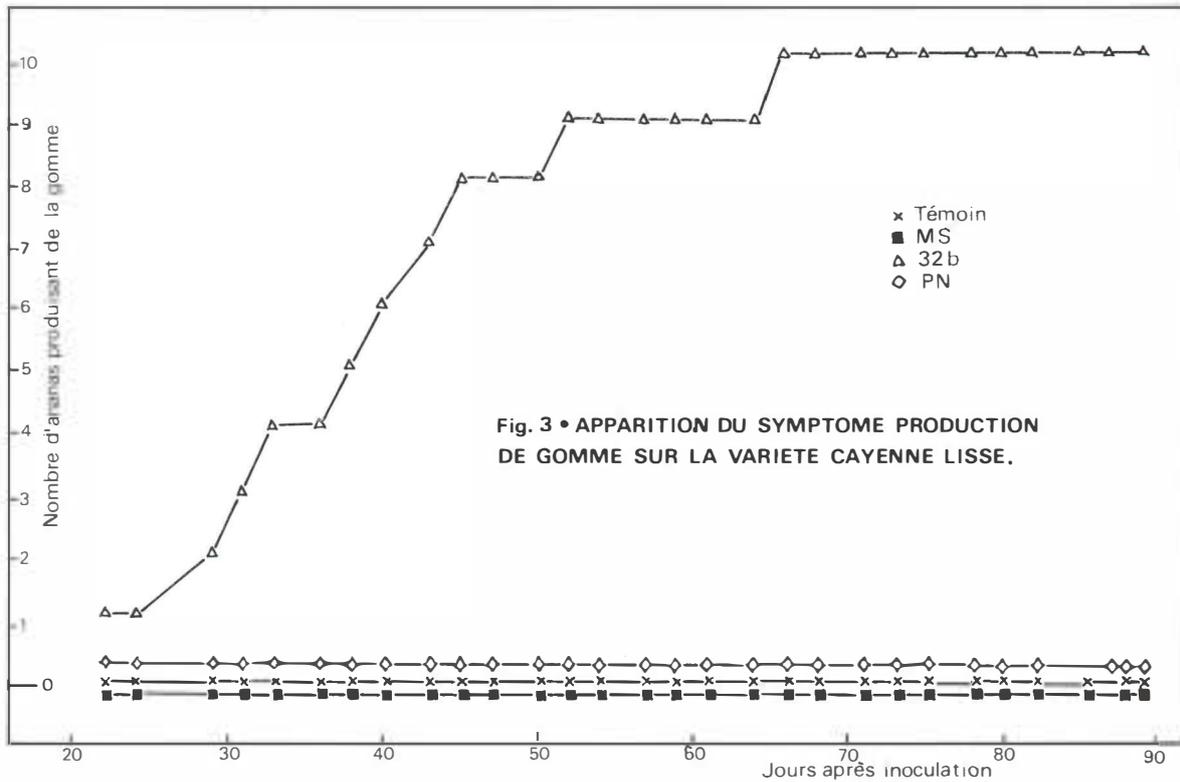
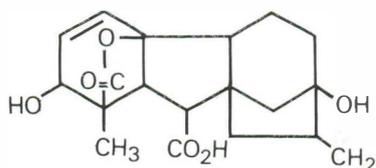


Fig. 3 • APPARITION DU SYMPTOME PRODUCTION DE GOMME SUR LA VARIETE CAYENNE LISSE.

BORROW et coll. (2, 3) ont étudié 21 souches de *F. moniliforme* et *G. fujikuroi*. Parmi les onze prélèvements faits sur le riz, huit produisent le symptôme «bakanae» sur les dix isolats issus d'autres plantes, dont une souche de *G. fujikuroi* var. *subglutinans* prélevée sur ananas, seul un isolat de canne à sucre produit le symptôme. SHAWKI et RAHRAWI (19) rapporte que, d'après CURTIS, seuls les isolats du riz sont capables de synthétiser des gibberellines, mais que sur pomme de terre PETROCZI et HORVATH ont isolé des souches hautement productrices de gibberellines. Lui-même a pu observer que sur vingt souches isolées sur coton et sur blé, aucune ne produisait de gibberellines, par contre sur dix souches issues du maïs, dix autres prélevées sur riz et dix autres venant de canne à sucre, respectivement six, neuf et cinq isolats synthétisent des gibberellines. GORDON (9) au cours d'une étude de la distribution et de l'efficacité de *F. moniliforme* à produire des gibberellines, a trouvé que vingt-huit isolats ne provenant pas du riz étaient capables de synthétiser ces substances, dont une souche de *F. moniliforme* var. *subglutinans* prélevée sur *Ananas sativus* en Afrique du sud et une souche de *F. moniliforme* prélevée sur *Pinus sylvestris* au Saskatchewan ; par contre, deux isolats de *Musa sapientum*, l'un *F. moniliforme* de Jamaïque, l'autre *F. moniliforme* var. *subglutinans* du Tanganyika, n'ont pas cette propriété.

Plus d'une vingtaine de molécules de type gibberelline ont été recensées, la plus connue est l'acide gibberellique, notée GA 3, dont la formule est la suivante :



Les autres gibberellines diffèrent uniquement par la nature des groupes attachés sur le squelette.

Nous avons abordé cette question de deux façons :

- dans un premier temps, la nature des gibberellines produites par chacune des souches est analysée par des méthodes physicochimiques classiquement utilisées.

- par la suite, une série d'injections est réalisée en serre sur des rejets d'ananas.

Les souches étudiées sont 32 a, 32 b, 86 et 103.

Pour les injections, des pieds de Cayenne lisse sont utilisés.

#### Production de gibberellines.

Des erlenmeyers de 500 ml contenant 150 ml de milieu liquide sont ensemencés avec des cultures d'une semaine à 25°C sur milieu Czapeck Dox (3, 12).

#### Composition du milieu liquide.

glucose	120 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5 g
glycérine	4 g
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1 g
solution d'éléments minéraux	2 ml
H <sub>2</sub> O distillée QSP	1 litre

#### Solution d'éléments minéraux.

ZnSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1 g
FeSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1 g
CuSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O	0,15 g
MnSO <sub>4</sub> · 4 H <sub>2</sub> O	0,1 g
K <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0,1 g
HCl	quantité suffisante pour clarifier la solution
H <sub>2</sub> O distillée QSP	1 litre

Les souches sont maintenues en culture agitée à 25°C pendant deux semaines à la lumière pour favoriser la production de gibberellines. Suivant la méthode de BULLOCK et coll. (4), pour chaque souche, 50 ml de filtrat sont ajustés à pH = 2,3 avec HCl. Le filtrat acidifié est extrait trois fois par 50 ml d'acétate d'éthyl, les trois fractions obtenues sont mises en commun (= solution A). La solution A est extraite deux fois par 15 ml de solution de bicarbonate de soude saturée puis deux fois avec 10 ml d'eau, les quatre fractions obtenues sont mises en commun (= solution B). La solution B est acidifiée de nouveau puis extraite trois fois avec 50 ml d'acétate d'éthyl, les trois fractions sont réunies (= solution C). Le dépôt obtenu après séchage et évaporation sous vide de la solution C est repris avec quelques ml d'acétate d'éthyl.

#### Caractérisation des gibberellines.

La séparation se fait par chromatographie des extraits sur silicagel en couche mince par rapport à des échantillons de référence de 10 à 20 µg d'acide gibberellique, dans un mélange di- isopropyl éther/acide acétique (95 : 5).

Les spots sont révélés par les ultraviolets après pulvérisation des plaques avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10 p. 100 dans du méthanol et quelques minutes à 120°C. Les taches fluorescentes sont grattées séparément ; le produit est récupéré dans un petit volume d'acétate d'éthyl pour des mesures de spectrophotométrie et de spectrofluorimétrie.

## RESULTATS

#### Chromatographie.

Pour chaque extrait, deux taches apparaissent sous les ultraviolets. Les R<sub>f</sub> sont indiqués dans le tableau 1.

Ces résultats ne permettent guère de décider si le facteur production de gibberelline présente une certaine progression au sein de l'espèce, ou si les valeurs obtenues peuvent correspondre à des différences de pathogénie.

TABLEAU 1 - Rf obtenus après chromatographie dans le mélange di-isopropyl éther/acide acétique.

extrait	premier spot	second spot
32 a	0,20	0,40
32 b	0,22	0,42
86	0,22	0,43
103	0,17	0,36
T	0,22	

#### Spectrophotométrie.

Les spectres d'absorption sont enregistrés pour des longueurs d'onde d'excitation comprises entre 240 et 400 nanomètres.

Pour les spots aux Rf les plus faibles (figure 5), les extraits des souches 32 a, 32 b et 86 sont très semblables entre eux et ressemblent beaucoup au témoin : on observe un premier épaulement vers 250 nanomètres, puis un pic vers 260 nanomètres, suivi d'un second pic plus intense vers 270 nanomètres, et finalement un second épaulement un peu avant 280 nanomètres.

Par contre, l'extrait de la souche 103 donne un spectre d'absorption très différent des autres tant par sa forme que par son intensité : il présente un pic vers 255 nanomètres, puis un épaulement peu avant 270 nanomètres.

Pour les spots aux Rf plus élevés (figure 6), toutes les courbes présentent la même allure : on observe un épaulement à 250 nanomètres, suivi d'un pic vers 260 nanomètres, puis un autre pic à 270 nanomètres et un épaulement un peu avant 280 nanomètres. Ces dernières courbes ont le même profil que celles des souches 32 a, 32 b, 86 et du témoin de la figure 5.

#### Spectrofluorimétrie.

##### *Spectres de fluorescence.*

Les extraits sont excités à une longueur d'onde donnée et les longueurs d'onde émises sont analysées. Les courbes obtenues sont indiquées sur la figure 7.

Le premier pic est un artefact de l'expérimentation appelé effet Raman, il correspond à l'excitation du solvant. L'épaulement qui suit correspond à la nature de l'échantillon testé. On constate que pour les souches 32 a, 32 b et 86 il se situe entre 400 et 410 nanomètres, alors que pour la souche 103 on le trouve à 420 nanomètres.

##### *Spectres d'émission.*

Ce sont les longueurs d'onde d'excitation qui varient et la fluorescence réémise est enregistrée à une longueur d'onde donnée.

Les résultats sont indiqués sur la figure 8.

Dans tous les cas on obtient un pic à 360 nanomètres. L'étalement des courbes recouvre les mêmes longueurs d'onde.

Les spots aux Rf élevés n'ont pas donné de courbes interprétables.

L'analyse de la présence de gibberelline dans certaines souches a été complétée par l'injection de cette substance dans les rejets, à la concentration de 20 µg/ml.

Ces injections d'acide gibberellique n'ont induit aucun symptôme, ni d'émission gommeuse, ni de désordre phyllo-taxique, dans les rejets de Cayenne lisse utilisés.

### ETUDE COMPAREE DES SOUCHES PAR ELECTROPHORESE

On appelle électrophorèse la migration de particules chargées en solution sous l'effet d'un champ électrique. Chaque constituant est supposé migrer à une vitesse propre, indépendamment de la présence des autres constituants. Cette technique permet de fractionner un mélange de façon douce.

Les études électrophorétiques menées sur champignon concernent en général des protéines du métabolisme de l'individu (protéines totales, catalases, estérases, phosphatases, déshydrogénases) fréquemment étudiées par cette technique chez d'autres organismes (8, 14, 18, 20).

Nous avons tenté de mettre en évidence des :

- glutamates oxalotransférases (GOT)
- leucine aminopeptidases (LAP)
- phosphatases acides
- estérases
- peroxydases
- protéines totales.

Pour plus de commodité, nous appellerons système tout ensemble de molécules mis en évidence par une révélation spécifique.

Au cours d'une manipulation préliminaire, les six systèmes ont été testés sur un échantillon de l'ensemble des souches, ceci pour déterminer les systèmes présentant le plus de variabilité. Ces souches ont été étudiées à deux âges physiologiques distincts afin d'apprécier si ce facteur joue un rôle sur les diagrammes obtenus.

Dans la suite du travail, les souches ont été testées au moins deux fois, le plus souvent trois ou quatre fois dans certains cas.

Chaque fois que cela a été possible, les diagrammes ont été observés directement en faisant des comparaisons bande à bande. Quand ce type d'analyse est devenu plus difficile, les méthodes statistiques ont été employées.

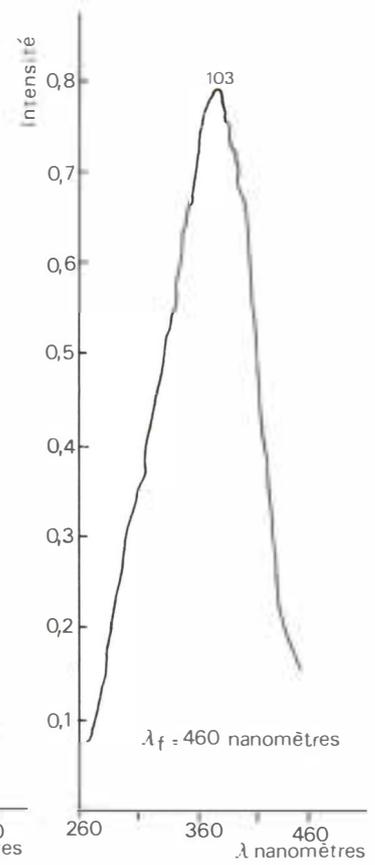
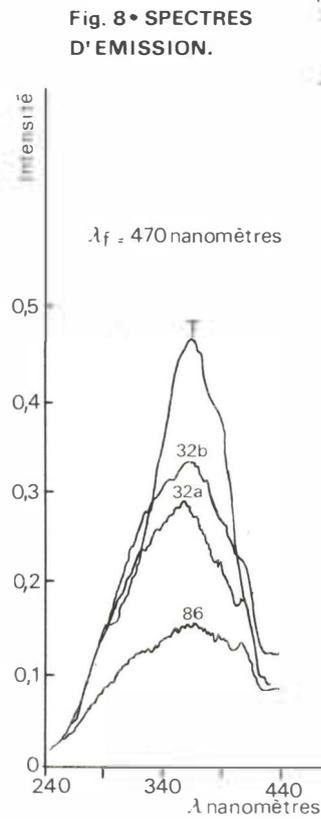
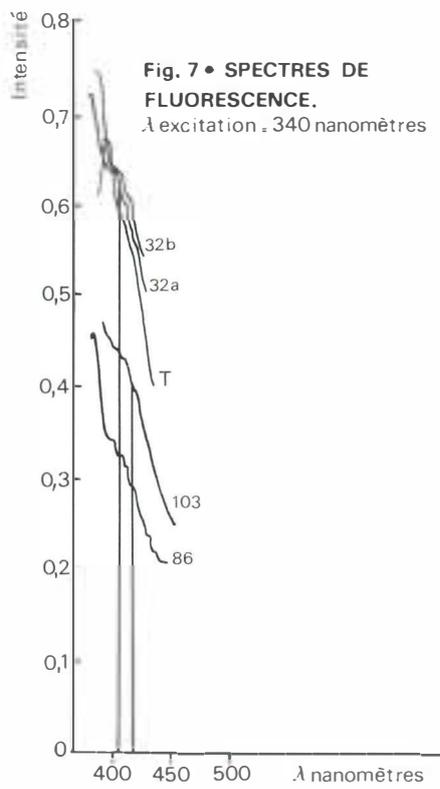
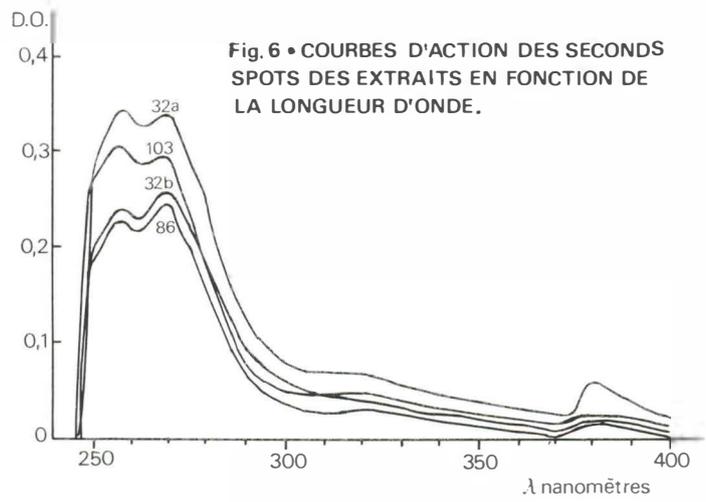
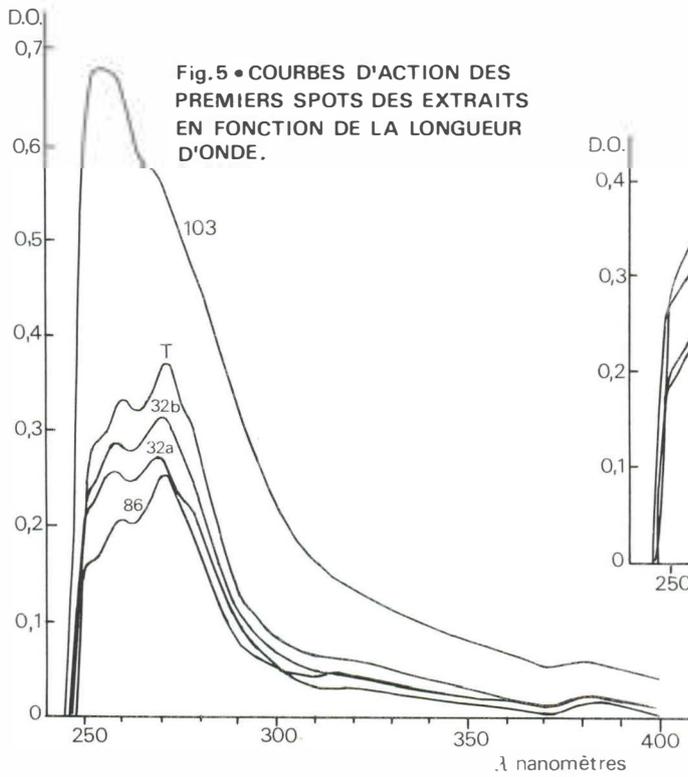


TABLEAU 2 - Filiation des souches étudiées par électrophorèse.

prélèvements de départ	(ANA <sub>s</sub> )	32 s	86 s	103 s
souches monosporeées déjà utilisées	(ANA)	(32 a)	86	103
nouvelles souches monosporeées	(ANA-1) (ANA-2) (ANA-3)	(32 b) 32-1	86-1 86-2 86-3	103-1 103-2 103-3

## MATERIEL ET METHODES

## Matériel.

Les souches utilisées au cours des expériences précédentes sont issues de spores isolées à partir des prélèvements initiaux. Ces derniers ont été clonés de nouveau ; ainsi trois à quatre souches monosporeées provenant d'un même prélèvement de départ sont étudiées, pour tester la variabilité à l'intérieur d'un même prélèvement par rapport à la variabilité entre ces divers prélèvements (tableau 2).

Les souches figurant entre parenthèses sont des *F. moniliforme*. La souche 32 a est un mélange de *F. moniliforme* et de *F. moniliforme var. subglutinans*.

Les autres souches sont des *F. moniliforme var. subglutinans*.

## Méthodes.

## Préparation des extraits.

Des erlenmeyers de 100 ml, contenant 25 ml de milieu malt liquide, sont inoculés avec du mycélium obtenu après douze jours de culture à 25°C sur milieu Martin (bien adapté au *Fusarium*) en boîtes de Pétri (diamètre 110 mm). Après deux et trois semaines, le mycélium est filtré sur toile à bluter (40  $\mu$ ), pesé puis broyé au poter de Kontes en chambre froide. Après centrifugation au froid à 12.000 g pendant 20 minutes, le surnageant est réparti par quantités de 50  $\mu$ l dans des tubes en polypropylène (car il faut éviter les successions de décongélations et recongélations qui modifient les protéines et peuvent rendre les enzymes inactives). Un peu de saccharose est ajouté aux extraits pour en augmenter la densité. Les extraits congelés sont conservés à moins 30°C.

## Fabrication des gels - Méthode d'Orstein et Davis.

La méthode suivie est un système de séparation discontinu du point de vue du pH, de la composition des tampons, des concentrations de gel de polyacrylamide. Ces discontinuités produisent, avant la séparation proprement dite, des zones de protéines très concentrées et très fines, ce qui détermine le haut pouvoir de résolution de cette méthode appelée «disc-électrophorèse (7, 16, 20).

## ● Solution stock

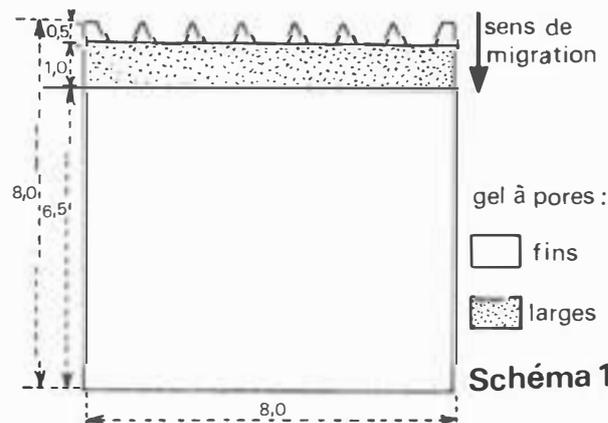
A - HCl 1N	48 ml	(pH : 8,9)
TRIS	36,6 g	
TEMED	0,23 ml	
H <sub>2</sub> O distillée QSP	100 ml	
B - HCl 1N	environ 48 ml	(pH : 6,7)
TRIS	5,89 g	
TEMED	0,46 ml	
H <sub>2</sub> O distillée QSP	100 ml	
C - acrylamide	28,0 g	
BIS	0,735 g	
H <sub>2</sub> O distillée QSP	100 ml	
D - acrylamide	10,0 g	
BIS	2,5 g	
H <sub>2</sub> O distillée QSP	100 ml	
E - riboflavine	4 mg	
H <sub>2</sub> O distillée QSP	100 ml	
F - saccharose	40 g	
H <sub>2</sub> O distillée QSP	100 ml	

## ● Solutions utilisées pour la fabrication des gels.

- gel à pores larges : 1 vol. A + 2 vol. C + 1 vol. H<sub>2</sub>O distillée + persulfate d'ammonium (pH = 8,8)
- gel à pores fins : 1 vol. B + 2 vol. D + 1 vol. E + 4 vol. F (pH = 6,7).

Les gels sont coulés en plaques de 8 cm de côté sur une épaisseur de 2,5 mm, selon le schéma 1.

## ● Dimensions des gels.



● Migration.

Le tampon d'électrode est obtenu en diluant dix fois la solution suivante : TRIS 6 g + glycine 38,8 g + H<sub>2</sub>O distillée QSP 1 litre (pH ajusté à 8,3 avec HCl 1N). Dans chaque encoche, on dépose quelques gouttes de bleu de bromophénol, indicateur coloré de migration, puis les 50  $\mu$ l d'extrait. Les protéines migrent sous courant pulsé de 50 mA (350 pulsations/minute), puis de 150 mA (500 pulsations/minute) quand l'indicateur coloré a terminé sa migration dans le gel à pores larges suivant la méthode employée par GASQUEZ et COMPOINT (8).

● Révélation.

Elle est différente pour chaque système étudié :

- GOT : après migration, les gels sont placés à température ambiante dans la solution suivante : acide aspartique (200 mg) + acide  $\alpha$ -cétoglutarique (50 mg) + phosphate de pyridoxal (25 mg) + Fast Blue BB (50 mg) + tampon TRIS 0,5 M HCl pH 8 (5 ml) + eau distillée (QSP 50 ml)

- phosphatases acides : les gels sont incubés à 37°C dans la solution  $\alpha$  naphtylphosphate (50 mg) + MgCl<sub>2</sub> 0,1 M (5 ml) + tampon acétate 0,5 M pH 5 (5 ml) + H<sub>2</sub>O distillée (QSP 50 ml), puis colorés à 37°C avec du Fast Garnet (50 mg).

- LAP : les gels sont mis dans la solution suivante :

solution de leucyl $\beta$ -naphtyl-amide HCl	
(200 mg dans quelques gouttes de méthanol	
ajuster à 100 ml)	5 ml
Fast Black K	25 mg
NaCl 1 M	1 ml
MgCl <sub>2</sub> 0,1 M	1 ml
tampon tris-maléate 0,1 M pH 5,4	5 ml
eau distillée QSP	50 ml

- Protéines totales

Le gel est plongé dans une solution bouillante d'amido black à 1 p. 100 et d'acide acétique à 7 p. 100 pendant une demi-heure, puis il est décoloré dans l'eau plus acide acétique 7 p. 100 pendant plusieurs jours.

- Estérases.

Le gel est incubé dans la solution B à 37°C puis coloré dans la solution B' à 37°C.

(B) $\alpha$ naphtylacétate	10 mg
$\beta$ naphtylacétate	10 mg
dissous dans acétone :	2 ml
tampon tris 0,2 M HCl pH 7,2	5 ml
eau distillée QSP	50 ml

(B') Fast Garnet	25 mg
tampon Tris 0,2 M HCl pH 7,2	5 ml
eau distillée QSP	50 ml

L'utilisation d'  $\alpha$  naphtylpropionate et de  $\beta$  naphtylpropionate à la place du  $\alpha$  naphtylacétate et  $\beta$  naphtylacétate ne

change pas la position et le nombre des bandes mais modifie leur intensité.

- Peroxydases.

Les gels sont placés dans une solution aqueuse de benzidine additionnée d'eau oxygénée. La révélation est fixée avec de l'acide acétique à 7 p. 100.

## RESULTATS

### Essais préliminaires.

Ces essais ont été effectués sur tous les systèmes afin de sélectionner ceux présentant le plus de variabilité.

Pour chaque individu, à chaque stade, chacun des diagrammes représente une migration différente. La base du zymogramme indique la position de l'indicateur coloré de migration. Les bandes figurées par des pointillés ont une intensité très faible.

Pour les GOT, aucune bande n'a été observée.

Pour les LAP, les zymogrammes obtenus pour les souches testées ne présentent qu'une seule bande localisée sur le même site. Seule la souche 103 présente deux bandes supplémentaires au stade A.

Avec les phosphatases acides, la variabilité observée est également très faible pour les souches étudiées.

Dans le cas des estérases, les zymogrammes obtenus montrent un grand nombre de bandes, différemment situées sur le gel suivant la souche étudiée, âgée de deux semaines (planche I).

Pour une même souche, les zymogrammes obtenus à deux âges physiologiquement distincts ne sont pas identiques. Selon les cas, certaines bandes disparaissent alors que de nouvelles bandes apparaissent sur d'autres sites.

Pour les peroxydases, certains zymogrammes ne présentent aucune bande.

Avec les protéines totales, une très grande variabilité peut être observée ; les bandes sont nombreuses et localisées sur des sites différents du diagramme (planche II).

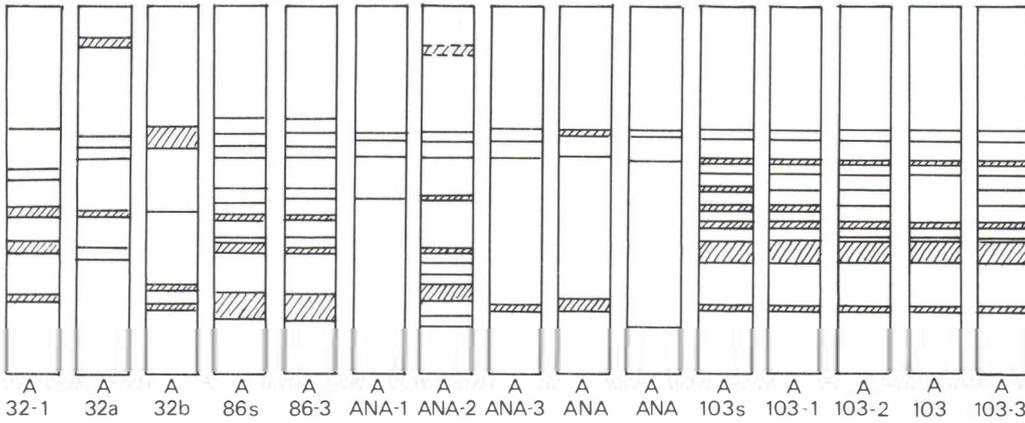
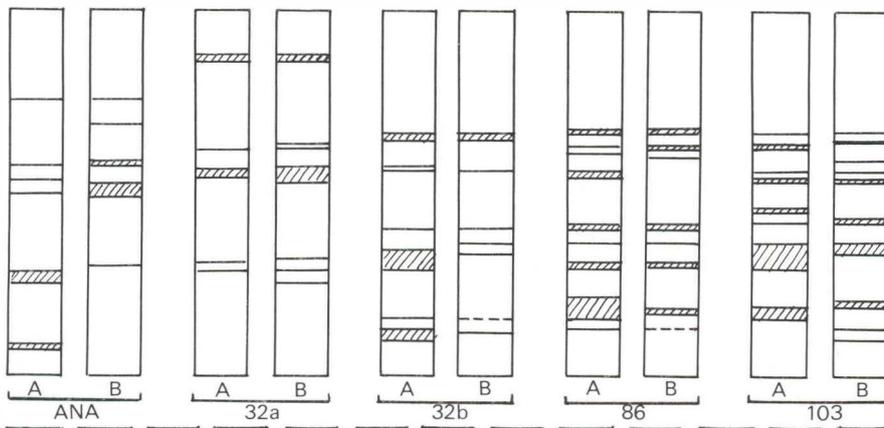
L'âge physiologique des extraits influe sur le nombre et la position des bandes obtenues pour une même souche.

Parmi tous les systèmes étudiés, ce sont les estérases et les protéines totales qui semblent présenter le plus de variabilité. Ce sont donc ces deux systèmes qui sont maintenant étudiés de façon plus approfondie.

Pour ces deux systèmes, on a pu observer que l'âge physiologique des extraits avait une répercussion sur le nombre et la position des bandes obtenues. Les souches seront donc étudiées à deux stades physiologiques pour tester l'effet de ce facteur sur les résultats.

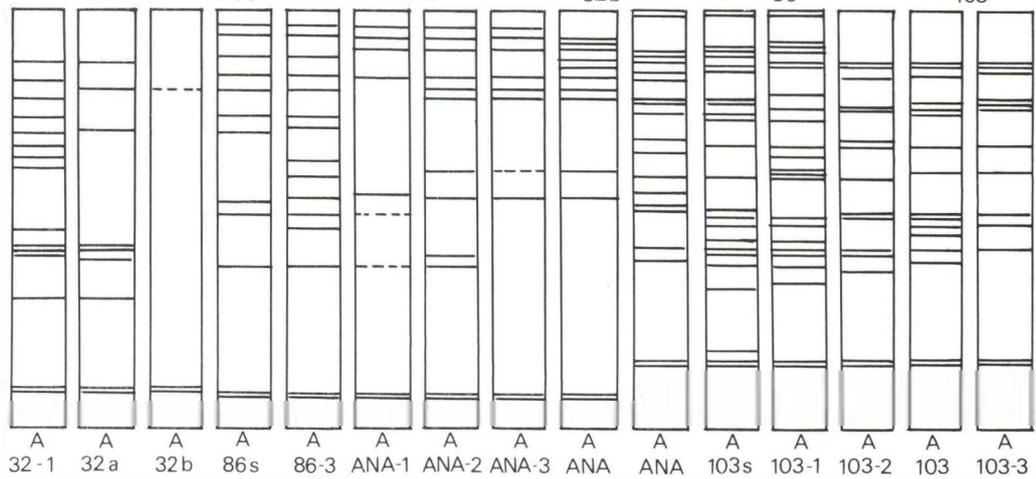
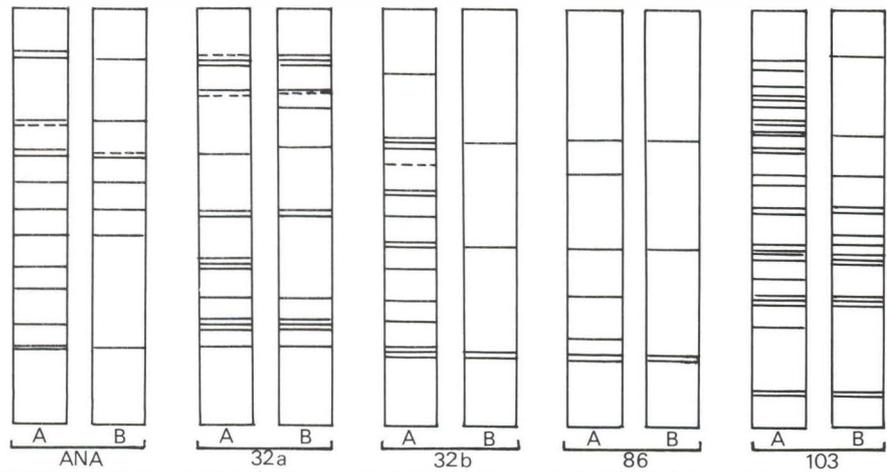
**Planche I  
ESTERASES**

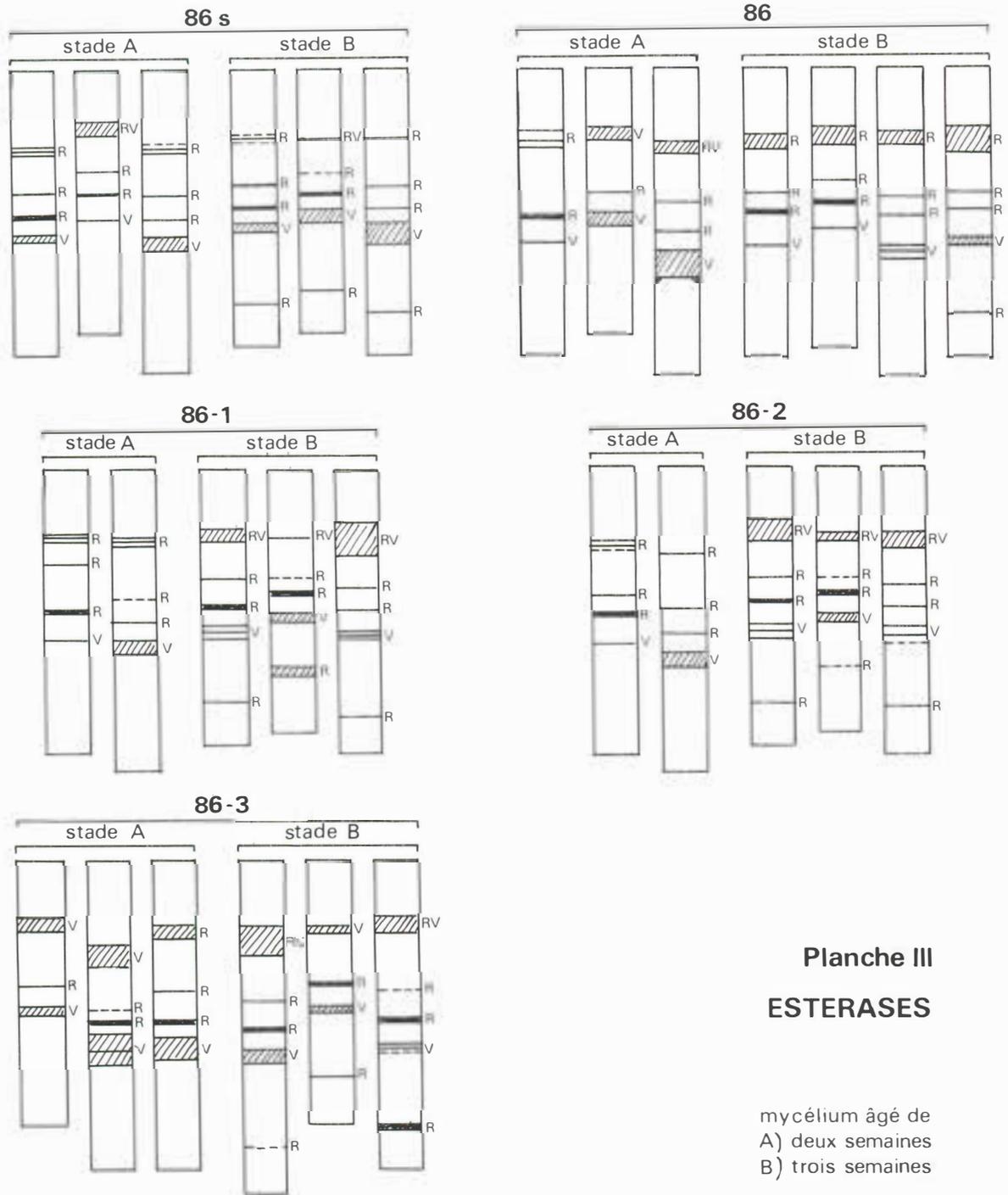
mycélium âgé de  
A) deux semaines  
B) trois semaines



**Planche II  
PROTEINES TOTALES**

mycélium âgé de  
A) deux semaines  
B) trois semaines





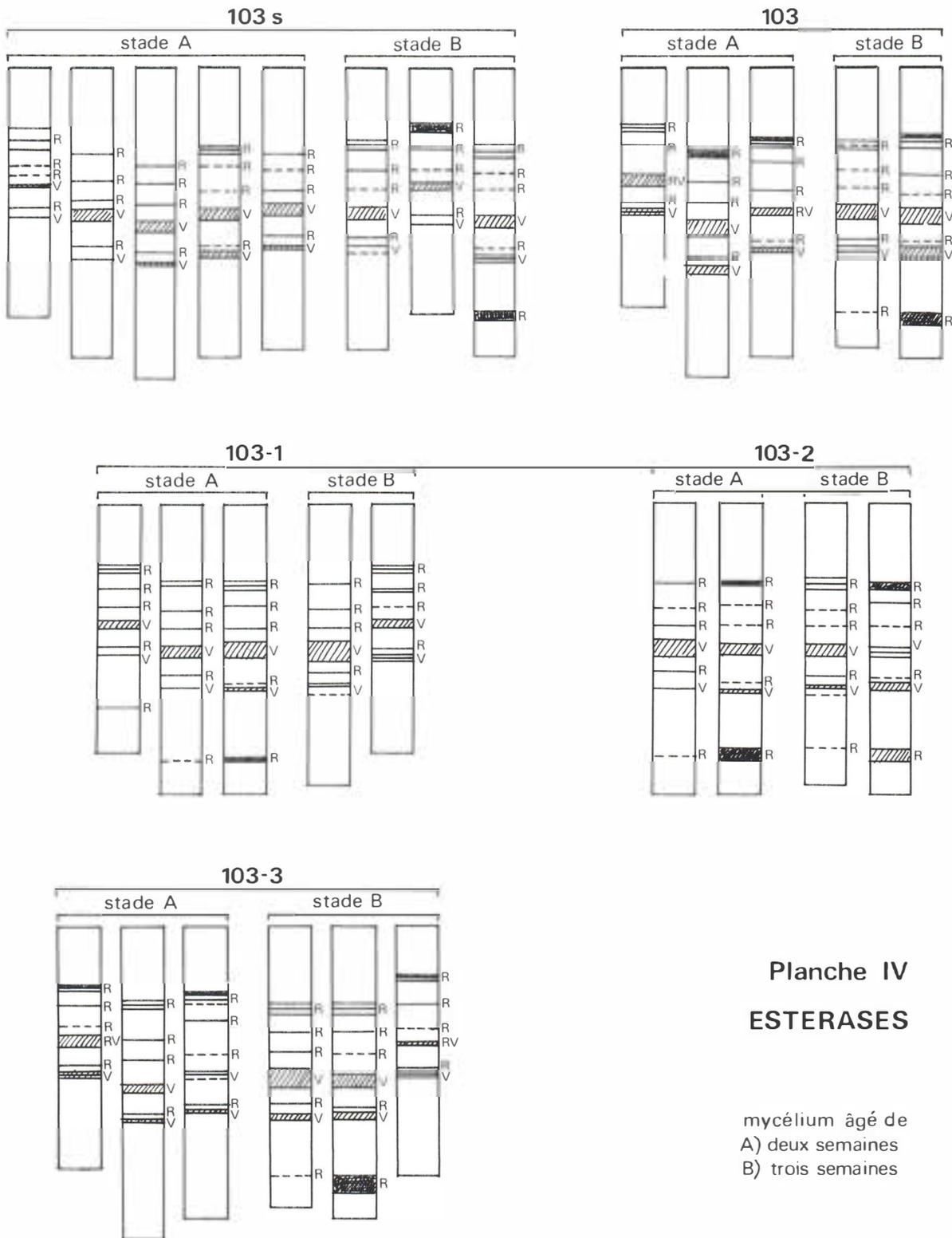
**Planche III  
ESTERASES**

mycélium âgé de  
A) deux semaines  
B) trois semaines

*ESTERASES.*

Les souches testées sont 32 a, 32 b, 32 s, 32-1, 86, 86 s, 86-1, 86-2, 86-3, 103, 103 s, 103-1, 103-2, 103-3. Nous avons laissé de côté les souches ANA, ANA s, ANA-1, ANA-2, ANA-3 qui ne sont pas d'origine brésilienne.

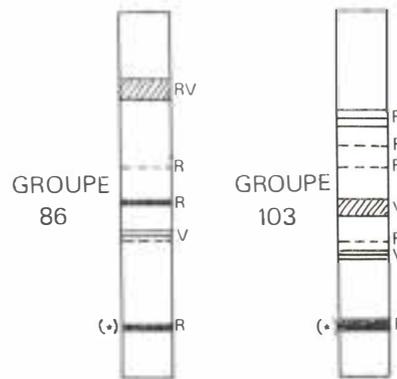
Des bandes de couleurs différentes apparaissent sur les gels : les iso-enzymes réagissant avec le  $\beta$ naphtylacétate produisent une bande rouge notée R sur les diagrammes, ceux réagissant avec l' $\alpha$ naphtylacétate produisent une bande violette notée V.



**Planche IV**  
**ESTERASES**

mycélium âgé de  
A) deux semaines  
B) trois semaines

**Planche V**  
**Exemple de**  
**diagramme**  
**pour :**



• Cas des souches des groupes de 86 et 103.

Pour les souches 86, 86 s, 86-1, 86-2, 86-3, les résultats des différentes répétitions sont consignés dans la planche III. Les positions des bandes et leur intensité varient légèrement d'un zymogramme à l'autre, chacun ayant été obtenu sur des plaques différentes à des jours différents. Cependant le nombre assez faible de bandes et leur différence de coloration permettent de les reconnaître d'un diagramme à l'autre. Au stade le plus âgé (trois semaines), une bande supplémentaire apparaît, identique pour toutes les souches. Chacune des souches de cet ensemble présente donc le même diagramme à quelques petites variations près dues à l'expérimentation.

Pour les souches 103, 103 s, 103-1, 103-2, 103-3, les résultats sont consignés sur la planche IV. Bien que des variations dues à l'expérimentation apparaissent dans la position et l'intensité des bandes, il est possible de les reconnaître d'un zymogramme à l'autre grâce à leur coloration. Une grande homogénéité apparaît donc au sein de ce groupe de champignons. L'individu 103-1 diffère légèrement des autres souches par l'absence d'une bande R au bas des diagrammes du stade B. Malgré cette petite différence, on peut considérer que les souches de ce groupe présentent le même zymogramme.

Il est possible d'établir une comparaison entre les groupes de 86 et de 103, parce que chacun d'eux peut être caractérisé par un diagramme type (planche V).

La bande signalée par une astérisque n'apparaît que :

- au stade A sur les diagrammes du groupe de 86,
- au stade B sur les zymogrammes de l'individu 103-1.

• Cas des souches du troisième groupe.

Les champignons étudiés dans ce groupe appartiennent à des espèces différentes :

- 32 s : mélange *F. moniliforme* + *F. moniliforme* var.

*subglutinans*

- 32 a : *F. moniliforme*
- 32 b et 32-1 : *F. moniliforme* var. *subglutinans*.

L'isolément 32 s étant un mélange d'espèces variées, il est certain que les résultats qui apparaîtront ne seront pas simples à analyser. Cependant ce prélèvement a été étudié avec les souches pures à titre indicatif, car il correspond à une situation qui existe dans la nature. En effet, nous savons que *F. moniliforme* en association avec *P. funiculosum* provoque une pourriture interne des «yeux» (10) ; ceci n'empêche pas la présence sur le même fruit de *F. Moniliforme* var. *subglutinans* qui entraîne la production de gomme par l'ananas.

Pour certains extraits, aucune bande n'apparaissait alors que les autres individus testés sur le même gel présentaient de nombreux sites actifs. Ceci s'est produit une fois pour l'isolément 32 s au stade B, trois fois pour la souche 32 a au stade A et cinq fois pour la même souche au stade B. Pour la souche 32 a, les bandes obtenues sont très faibles et souvent inexistantes aussi bien au stade A qu'au stade B ; cette situation ne peut donc pas être expliquée par une erreur dans la préparation des extraits.

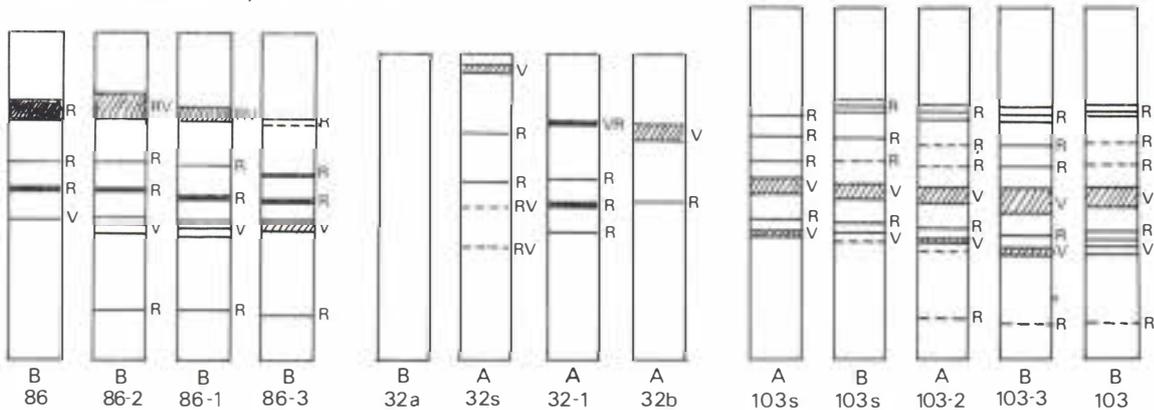
L'observation des zymogrammes montre qu'il n'est pas possible de reconnaître les bandes d'un diagramme à l'autre en se basant sur la coloration de ces dernières. Ceci peut être illustré de la façon suivante : si l'on met côte à côte les diagrammes des différents groupes de souches qui ont été testés sur les mêmes gels (planche VI), on fait disparaître les variations dues à l'expérimentation. De cette nouvelle présentation, il ressort nettement que les diagrammes du groupe de 86 sont semblables, de même pour ceux du groupe de 103, alors que dans le dernier groupe 32 aucune homogénéité n'apparaît.

L'existence d'un effet de la manipulation sur les bandes obtenues est évidente d'après ces observations. Pour pouvoir l'estimer, il aurait fallu à chaque migration tirer chaque

**Planche VI • ESTERASES**

mycélium âgé de :  
A) deux semaines; B) trois semaines.

(chaque extrait de même origine  
est déposé sur le même gel)



extrait au hasard parmi tout l'ensemble de ceux qui devaient être testés. Ceci n'a pas été réalisé, car nous ne savions pas quel était le nombre minimum d'extraits à tester par souche ; d'autre part, cette méthode suppose que toutes les migrations réussissent, c'est-à-dire qu'aucune erreur de manipulation ou qu'aucune panne des appareils ne survienne. Cependant, sur une même plaque, les extraits mis à migrer correspondent à des souches de groupes différents (exception faite des zymogrammes présentés sur la planche VI), si bien que l'effet de la manipulation n'interfère pas avec les effets testés.

Une analyse de variance est effectuée sur le nombre de bandes (en tenant compte des zymogrammes sans bandes) pour confirmer qu'une partie de la variabilité observée est due à la différence de nature des souches.

L'hypothèse testée est : il n'existe pas de différence entre les moyennes pour les souches *F. moniliforme* var. *subglutinans* et les moyennes pour les autres souches (tableau 3).

TABLEAU 3 - Analyse de variance.

source de variation	somme des carrés	degrés de liberté	carrés moyens	F calculé
liée à l'espèce	58,58564	1	58,58564	} 20,327179
résiduelle	144,1066666	50	2,8821333	
variation totale	202,6923077	51		

F calculé est supérieur à F théorique au seuil de 0,5 p. 100 ; l'hypothèse est donc rejetée.

Le calcul statistique confirme donc qu'une partie de la variabilité observée au sein de ce groupe est due à l'espèce des souches testées.

Il s'agit maintenant de déterminer si une homogénéité

apparaît au sein du groupe de *F. moniliforme* var. *subglutinans*. Il suffit de comparer les zymogrammes des souches 32 b et 32-1 (planche VI) pour constater l'existence de différences notables qui empêchent de donner un exemple de diagramme représentatif des *F. moniliforme* var. *subglutinans* de ce groupe.

**PROTEINES TOTALES.**

Les souches étudiées sont 32 a, 32 b, 32 s, 32-1, 86, 86 s, 86-1, 86-2, 86-3, 103, 103 s, 103-1, 103-2, 103-3.

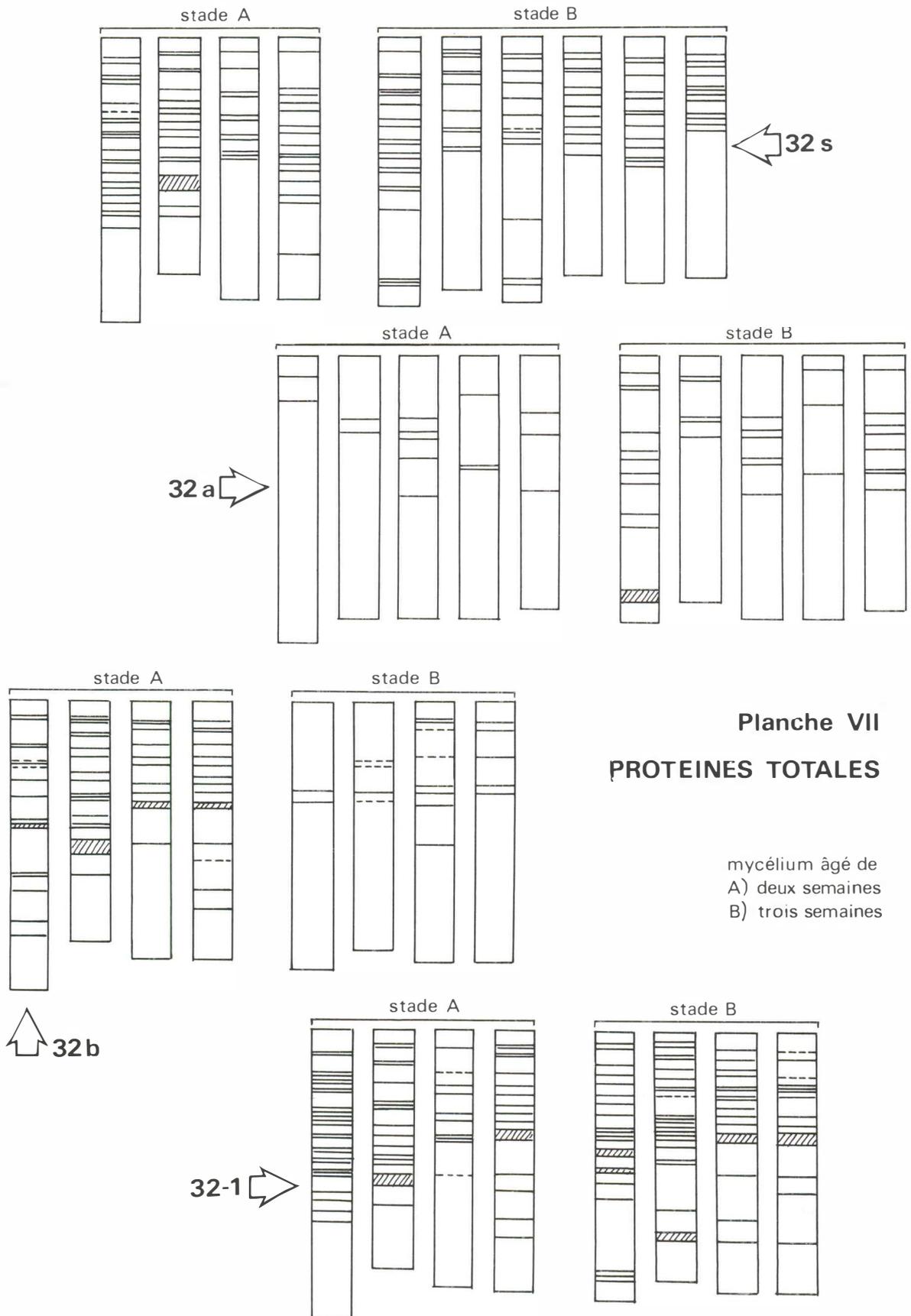
Pour les souches du groupe de 32 a, les résultats sont indiqués dans la planche VII. Il ressort nettement qu'une étude comparative bande à bande ne peut pas être entreprise étant donné leur nombre important.

Pour les souches du groupe de 86, les résultats montrent également un nombre élevé de bandes qui interdit toute comparaison bande à bande (planche VIII).

Pour les souches du groupe de 103, les résultats indiqués sur la planche IX conduisent aux mêmes conclusions.

Comme le nombre de bandes est trop élevé pour rendre possible une observation directe, l'outil statistique est utilisé pour les comparaisons.

Deux variables sont calculées pour caractériser chaque



**Planche VII**  
**PROTEINES TOTALES**

mycélium âgé de  
A) deux semaines  
B) trois semaines

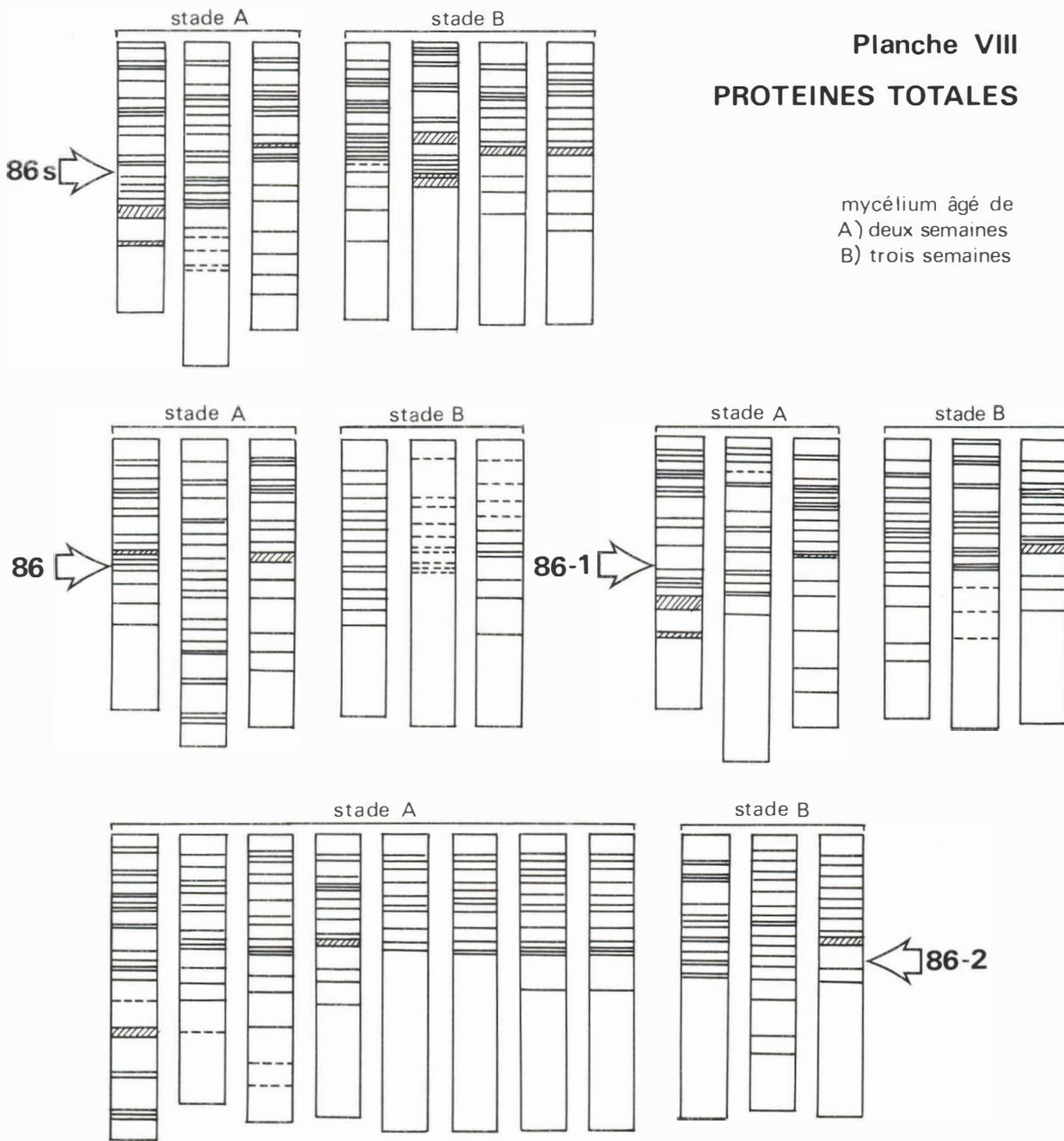


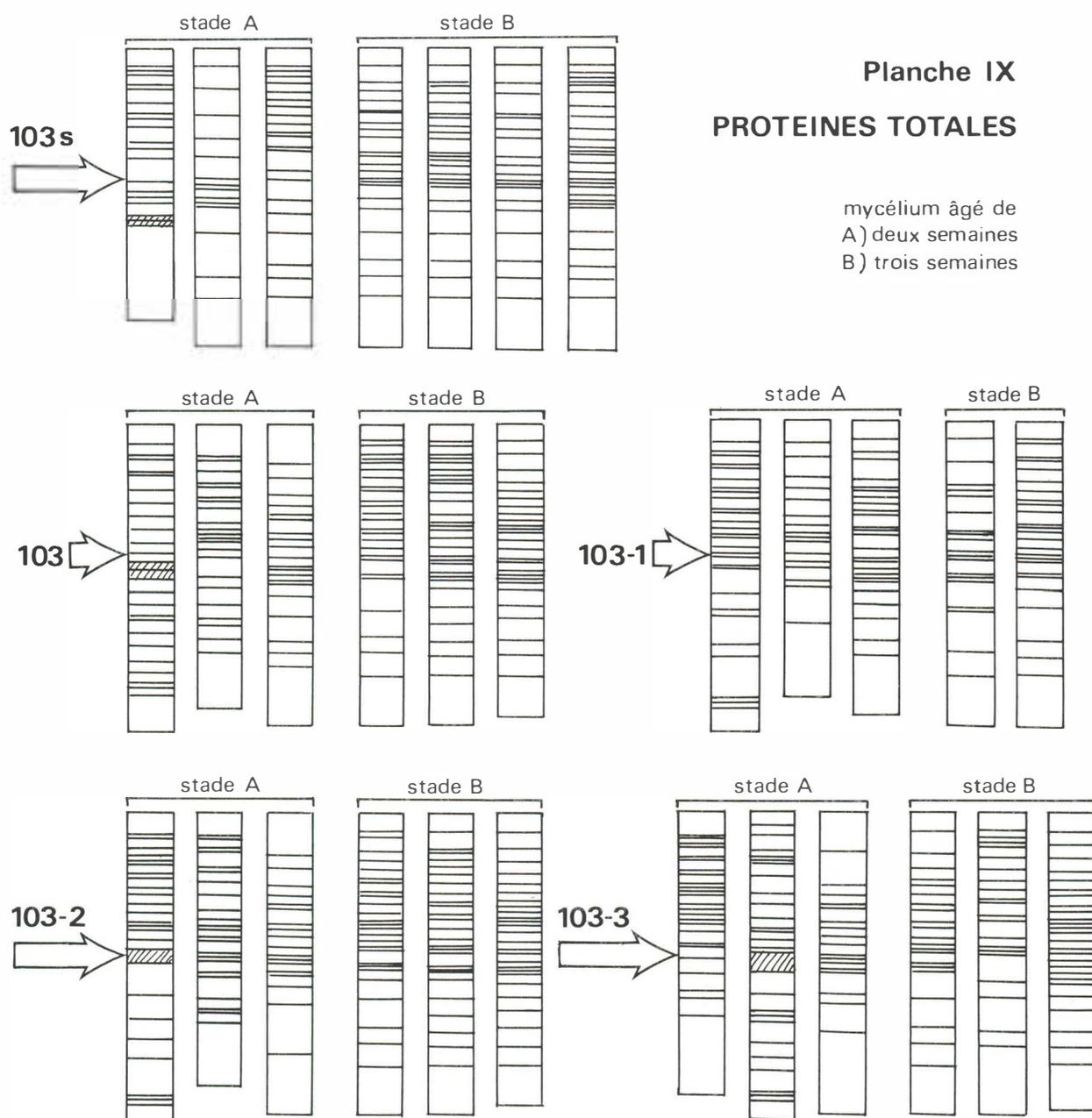
diagramme :

- le nombre de bandes N,
- la distance moyenne de migration Rf

Si Rf<sub>1</sub>, Rf<sub>2</sub>, ... Rf<sub>j</sub>, ... Rf<sub>s</sub>, sont les Rf respectifs des sites 1, 2, ... j, ... s, la distance moyenne de migration des bandes de l'individu i est la valeur  ${}_iRf$ .

$${}_iRf = \frac{\sum_{j=1}^s x_{ij} Rf_j}{\sum_{j=1}^s x_{ij}}$$

- x<sub>ij</sub> = valeur qui définit l'état d'un site
- x<sub>ij</sub> = 0 quand la bande est absente
- x<sub>ij</sub> = 1/2 quand la bande est notée en pointillés
- x<sub>ij</sub> = 1 quand la bande est notée par un trait plein



Les valeurs des variables sont inscrites dans le tableau 4.

● Effet de l'âge physiologique.

Une première série d'analyses de variance à une variable est calculée pour estimer la part de la variabilité liée à l'âge physiologique (tableau 5).

Avec le nombre de bandes  $N$ .

L'hypothèse testée est : il n'existe pas de différence entre

les moyennes pour les extraits au stade A et les moyennes pour les extraits au stade B.

$F$  calculé est supérieur à 8,33, valeur du  $F$  théorique au seuil de 0,5 p. 100 ; l'hypothèse est donc rejetée. L'analyse statistique basée sur le nombre de bandes permet de mettre en évidence une variabilité liée au stade physiologique.

Avec la distance moyenne de migration  $Rf$

L'hypothèse testée est la même que précédemment (tableau 6).

TABLEAU 4 - Valeurs des variables N et Rf.

souches	stade A		stade B	
	N	Rf	N	Rf
32 s	16		12	0,278
	24	0,377	13	0,328
	11	0,307	12	0,239
	17	0,418	11	0,24
			18	0,39
		10	0,37	
32-1	16		21	0,315
	27	0,359	18	0,387
	10	0,282	18	0,317
	15	0,296	13	0,331
32 a	2	0,118	5	0,216
	2	0,273	10	0,355
	5	0,358	6	0,366
	3	0,338	3	0,237
32 b	18	0,384	4	0,505
	17		4	0,207
	11	0,246	8	0,247
	14	0,341	5	0,22
86 s	24	0,319	23	0,374
	20		19	0,265
	22	0,361	14	0,287
			15	0,31
86-1	18	0,288	19	0,348
	18		20	0,32
	21	0,352	10	0,355
86-2	24	0,392	18	0,374
	14	0,318	16	0,302
	17	0,327	11	0,278
	16	0,288		
86	23	0,49	15	0,4
	21	0,387	10	0,162
	17	0,335	10	0,349
			12	0,327
86-3	22	0,476	19	0,449
	19	0,354	17	0,266
	12	0,316	15	0,274
	14	0,311		
103 s	22		24	0,383
	14	0,476	24	0,382
	24	0,366	19	0,415
		27	0,387	
103-1	30	0,416	19	0,423
	18	0,403	26	0,361
	25	0,406		
103-2	24	0,412	28	0,378
	24	0,408	27	0,4
	17	0,419	26	0,432
103	23	0,476	28	0,363
	22	0,418	28	0,548
	19	0,467	26	0,433
103-3	24	0,35	21	0,416
	24	0,469	21	0,347
	16	0,43	28	0,443

F calculé est inférieur à F théorique (3,96 au seuil de 5 p. 100) ; l'hypothèse est donc acceptée et aucun effet lié à l'âge physiologique n'est statistiquement mis en évidence avec ce caractère. Ceci ne signifie pas que cet effet n'existe pas, mais permet de conclure que la variable Rf n'est pas un bon critère pour montrer son existence, dans ce cas.

● Effet du groupe d'origine.

*Avec le nombre de bandes.*

Il faudrait entreprendre maintenant une analyse de variance à deux variables (le stade physiologique et le groupe d'origine) avec interaction. Les données ne permettent pas un tel calcul parce que le nombre d'extraits testés par stade et par groupe n'est pas identique dans tous les cas. On effectue une analyse de variance à une variable pour estimer l'effet du groupe d'origine, mais dans ce cas l'interaction stade physiologique-groupe d'origine ne peut pas être séparée de la variation résiduelle. Si aucun effet n'est mis en évidence, cela indique :

- soit que cet effet n'existe pas,
- soit que cet effet existe mais est masqué par une variabilité résiduelle trop importante car elle contient la variabilité liée à l'interaction.

Si un effet est observé, on peut considérer qu'il existe réellement.

L'hypothèse testée est la suivante : il n'existe pas de différence entre les moyennes pour les extraits du groupe de 86, les moyennes pour les extraits du groupe de 103 et celles pour les extraits du dernier groupe.

Le tableau 7 d'analyse de variance montre que F calculé est supérieur au F théorique (8,33 au seuil de 0,5 p. 100) ; l'hypothèse est donc rejetée. Le calcul statistique montre l'existence d'un effet lié au groupe d'origine hautement significatif.

*Avec la distance moyenne de migration Rf.*

L'hypothèse testée est la même que précédemment (tableau 8).

F calculé est supérieur au F théorique (8,33 au seuil de 0,5 p. 100) ; l'hypothèse n'est pas acceptée. Dans ce cas, un effet du groupe d'origine hautement significatif est mis en évidence par le calcul statistique. Une partie de la variabilité observée sur les bandes des diagrammes est liée au groupe d'origine des souches.

## DISCUSSION

Deux systèmes parmi les six étudiés permettent de différencier les souches de *F. moniliforme* var. *subglutinans* prélevées sur des ananas brésiliens. Ce sont les estérases et les protéines totales.

Dans le cas des estérases, il est possible de déterminer un

TABLEAU 5 - Analyse de variance calculée avec le nombre de bandes pour tester l'effet de l'âge physiologique.

source de variation	somme des carrés	degrés de liberté	carrés moyens	F calculé
liée au stade	394,59509	1	394,59509	8,378523
résiduelle	4568,31401	97	47,096021	
variation totale	4962,9091	98		

TABLEAU 6 - Analyse de variance calculée avec la distance moyenne de migration pour tester l'effet de l'âge physiologique.

source de variation	somme des carrés	degrés de liberté	carrés moyens	F calculé
liée au stade	0,0121751	1	0,0121751	2,1144709
résiduelle	0,523977	91	0,005758	
variation totale	0,5361521	92		

TABLEAU 7 - Analyse de variance calculée avec le nombre de bandes pour tester l'effet du groupe d'origine.

source de variation	somme des carrés	degrés de liberté	carrés moyens	F calculé
liée au groupe d'origine	2188,908	2	1094,454	43,513507
résiduelle	2414,597	96	25,152052	
variation totale	4603,505	98		

TABLEAU 8 - Analyse de variance calculée avec la distance moyenne de migration pour estimer l'effet du groupe d'origine.

source de variation	somme des carrés	degrés de liberté	carrés moyens	F calculé
liée au groupe d'origine	0,110879	2	0,0554395	13,017196
résiduelle	0,374787	88	0,0042589	
variation totale	0,485668	90		

type de zymogramme pour le groupe de 86 et le groupe de 103. L'un et l'autre sont spécifiques de l'ensemble considéré et peuvent être comparés ; ceci permet de supposer que les prélèvements 103 s et 86 s sont des souches pures.

Par contre, les souches du groupe 32 s, 32 a, 32 b, 32-1 ne peuvent être caractérisées que par leurs différences par rapport aux deux groupes précédents. Les souches de *F. moniliforme* var. *subglutinans* de ce groupe, 32 b et 32-1, ne se ressemblent pas suffisamment pour rendre possible l'établissement d'un zymogramme type. Cette hétérogénéité peut s'expliquer par la présence de *F. moniliforme* ; en effet, nous savons que ces espèces peuvent s'anastomoser et il est permis de penser que des mélanges de matériel se réalisent si l'on admet la possibilité de fusion.

Dans le cas des protéines totales, la présence d'une variabilité due à l'âge physiologique n'empêche pas la mise en évidence d'une variabilité liée au groupe d'origine. Cependant dans ce cas, il n'a pas été possible de déterminer un diagramme représentatif de chacun des groupes.

Entre ces deux systèmes, celui des estérases est plus aisé à manipuler et permet d'aboutir à des résultats plus nets que celui des protéines totales, bien que ce dernier semble présenter plus de variabilité.

## CONCLUSION

Au cours de ce travail, nous avons cherché à obtenir des

renseignements sur deux points de la biologie du parasite : sa spécificité et sa variabilité.

Nous avons pu vérifier la grande spécificité du pathogène vis-à-vis de son hôte.

L'espèce *F. moniliforme* qui cohabite avec *F. moniliforme* var. *subglutinans* sur les fruits ne parvient pas à provoquer l'émission de gomme quand elle est inoculée à des rejets en serre. Elle ne peut donc pas être impliquée dans la fusariose.

D'après NIRENBERG (15), la variété *subglutinans* regroupe des champignons différents et il convient de diviser cet ensemble en trois espèces distinctes. Dans un premier essai, nous avons inoculé à des ananas, parallèlement à une souche issue de l'ananas, deux autres isolats de *F. moniliforme* var. *subglutinans*, nouvellement nommés *F. sacchari* var. *subglutinans*, l'un provenant du bananier, récemment classé avec le pathogène de l'ananas dans l'espèce *F. sacchari* var. *elongatum*. Parmi toutes ces souches, seules celles issues de l'ananas sont capables de provoquer le symptôme d'émission de gomme sur des rejets d'ananas inoculés en serre. Ceci permet d'affirmer, en accord avec les résultats des travaux effectués au Brésil, que la population pathogène de l'ananas est très spécifique de cette plante hôte.

Le Brésil semble être le seul pays à posséder actuellement cette maladie, d'autant plus que cette dernière n'a encore jamais été signalée dans les autres pays producteurs d'ananas. Certes, *G. fujikuroi* var. *subglutinans* a été décrit comme existant sur ananas (2) et *F. moniliforme* var. *subglutinans* a été isolé sur *Ananas sativus* en Afrique du sud (9), mais ces observations faites dans le but d'étudier la production de gibberelline ne sont accompagnées d'aucun renseignement en ce qui concerne la pathogénicité réelle de ces souches vis-à-vis de l'ananas.

Actuellement tout semble indiquer que la fusariose de l'ananas est une maladie existant uniquement au Brésil et qu'elle est due à un champignon, *F. moniliforme* var. *subglutinans*, très spécifique de l'ananas.

Plusieurs raisons permettent d'envisager l'existence d'une variabilité au sein de cette population pathogène très spécifique.

Nous avons vu que cette maladie touche tous les centres de production de l'ananas au Brésil, ce qui correspond à une importante extension géographique. Le champignon se trouve donc confronté à des conditions d'environnement

diversifiées (climat, microfaune). Dans nos conditions d'expérimentation, il nous était difficile d'étudier de façon approfondie cette question sous cet angle. Certes, les souches que nous avons choisies pour notre travail sont originaires d'états différents :

- souche 32 b : Mari (Etat : Paraiba)
- souche 86 : Itapimirin (Etat : Espirito Santo)
- souche 103 : Fazenda Gloria (Etat : Sao Paulo).

Cependant trois souches ne suffisent pas pour mener à bon terme une étude de population sur un territoire aussi vaste, et les résultats qu'elles nous permettent d'obtenir ne peuvent être considérés que comme des indications en ce qui concerne l'importance du facteur géographique dans la constitution possible de races.

Par ailleurs, la fusariose se rencontre à la fois sur fruit et sur plante et parmi les souches utilisées, l'une (32 b) provenant de fruit, les autres (86 et 103) étant issues de rejets.

Les inoculations ont révélé que celle issue de fruit (32 b) semblait plus active que les deux autres. Mais ces résultats interfèrent également avec les origines géographiques des souches et nous ne pouvons, avec ces seuls résultats, attribuer la variation de pathogénie observée, d'une manière sûre, soit à l'origine géographique, soit à l'organe attaqué.

Nous ne pouvons que constater que les souches de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* ne sont pas identiques au niveau de leur activité pathogène.

Cette diversité est également accentuée au niveau de la production de gibberelline. La souche 103 présente, en effet, des particularités propres dans ce domaine.

La technique d'électrophorèse a montré que des différences sont obtenues pour deux systèmes étudiés, les estérases et les protéines totales.

Toutes ces différences, en fait assez modestes, peuvent signifier deux choses, entre lesquelles nous ne pouvons pas choisir à l'issue de ce travail.

On peut penser, soit que la variabilité est habituellement faible chez l'espèce *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, soit que la population inféodée à l'ananas est encore trop jeune et n'a pas eu le temps de se différencier.

Cette seconde hypothèse serait toutefois plus vraisemblable si l'on se réfère aux observations réalisées sur le maïs, où la population de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* inféodée à cette plante a fini par différencier des races pourvues d'activités pathogènes bien distinctes comme cela se rencontre dans le groupe des *Fusarium oxysporum* vasculaires.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BOOTH (C.). 1971.  
The genus *Fusarium*.  
*C.M.I. (Commonw. Mycol. Inst.) Kew, Surrey, England*, 237 p.
2. BORROW (A.), BRALAN (P.W.), CHESTER (V.E.), CURTIS (P.J.), HEMMING (H.G.), HENETHAN (Catherine), JEFFERYS (H.G.), LLOYD (P.B.), NIXON (I.S.), NORRIS (G.L.F.) et RADLEY (M.). 1955.  
Gibberellic acid, a metabolic product of fungus *Gibberella fujikuroi*, some observations on its production and isolation.  
*U. Sci. Food Agr.*, (6), 340-348.
3. BORROW (A.), JEFFERYS (E.G.), KESSELL (R.H.J.), LLOYD (C.), LOOYD (P.B.) et NIXON (I.S.). 1961.  
The metabolism of *Gibberella fujikuroi* in stirred culture.  
*Can. J. Microbiol.*, vol. 7, 227-276.
4. BULLOCK (J.D.), DETROY (R.W.), HOSTALEK (Z.) et ABDUL MUNIMAL-SHAKARCHI. 1974.  
Regulation of secondary biosynthesis in *Gibberella fujikuroi*.  
*Trans. Br. Mycol. Soc.*, 62, 2, 377-389.
5. CAMARGO (LMPCA) et CAMARGO (O.B.A.). 1974.  
Estudos preliminares de técnicas de inoculação e sobre alguns aspectos da fisiologia do fungo *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* WR. et RG., causador da «gomose» do abacaxi (*Ananas comosus* (L.) MERRILL).  
*O Biológico, São Paulo*, 40 (9) 260-266.
6. COLLINS. 1960.  
The pineapple : botany, cultivation and utilization.  
*London, Leonard Hille*, 294 p.
7. DA VIS (B.J.). 1964.  
Disc-electrophoresis. II.- Method and application to human serum proteins.  
*Ann. of the N. Y. Ac. of Sc.*, vol. 121, 2, 404-427.
8. GASQUEZ (J.) et COMPOINT (J.P.). 1976.  
Apport de l'électrophorèse en courant pulsé à la taxonomie d'*Echinochloa crus galli* (L.) PB.  
*Ann. Amélioration Plants*, 26 (2), 345-355.
9. GORDON (W.L.). 1960.  
Distribution and prevalence of *Fusarium moniliforme* SHELDT. (*Gibberella fujikuroi* (SAW.) WR.) producing substances with gibberellin-like biological properties.  
*Nature*, may 28, vol. 186, 698-700.
10. GUEROUT (R.). 1974.  
Les taches noires de l'ananas.  
*Fruits*, vol. 29, n° 7-8, 489-499.
11. MATOS (A.P.). 1978.  
Métodos de inoculação com *Fusarium moniliforme* SHELDT. var. *subglutinans* WR. et RG. em abacaxizeiro 'Perola'.  
*Revista Brasileira do Fruticultura*, vol. 1, n° 1, p. 37-41.
12. MERTZ (D.) et HENSON (W.). 1967.  
Light stimulated biosynthesis of gibberellins in *Fusarium moniliforme*.  
*Nature*, vol. 214, 844-846.
13. MESSIAEN (C.M.) et CASSINI R.). 1968.  
Recherches sur les fusarioses. IV.- La systématique des *Fusarium*.  
*Ann. Epiphyties*, 19 (3), 387-454.
14. MEYER (J.A.), GARBER (E.D.) et SHAEFFER (Susan G.). 1964.  
Genetics of phytopathogenic fungi. XII.- Detection of esterases and phosphatases in culture filtrates of *Fusarium oxysporum* and *F. xylarioides* by starchgel zone electrophoresis.  
*Botan. Gaz.*, 125 (4), 298-300.
15. NIRENBERG (H.). 1976.  
Untersuchungen über die morphologische und biologische differenzierung in der *Fusarium*.  
*Sektion Liseola. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft. Berlin*, Heft 169, Jun. 1976.
16. ORNSTEIN (L.). 1964.  
Disc-electrophoresis. I.- Background and theory.  
*Ann. N. Y. Ac. Science*, 21, 321-349.
17. PY (C.) et TISSEAU (M.-A.). 1965.  
L'ananas, techniques agricoles et productions tropicales.  
*Maisonnewe et Larose*, 298 p.
18. REDDY (M.N.) et STAHMANN (M.A.). 1972.  
Isozyme patterns of *Fusarium* species and their significance in Taxonomy.  
*Phytopath. Z.*, 74, 115-125.
19. SHAWKI EL BAHRAWI. 1977.  
Survey of some *Fusarium moniliforme* strains from different host plants for compounds possessing gibberellin-like activity.  
*Zbl. Bakt. II. Abt.*, Bd. 132, S. 178-183.
20. WHITNEY (P.J.), VAUGHAN (J.G.) et HEALE (J.B.). 1968.  
A disc-electrophoretic study of the proteins of *Verticillium albo-atrum*, *Verticillium dahliae* and *Fusarium oxysporum* with reference to their taxonomy.  
*Journal of Experimental Botany*, vol. 19, n° 60, 415-426.
21. WOLLENWEBER (H.W.) et REINKING (O.A.). 1935.  
Die Fusarien.  
*Berlin Paul Parey*, 355 p.
22. ZWEIG (G.) et DE VAY (J.A.). 1959.  
On the biosynthesis of gibberellins from Carbon-14-substrates by *Fusarium moniliforme*.  
*Mycologia*, vol. 51, 877-886.

