

Etude de la pycnogénèse chez *Phomopsis Mali* (SCHULTZ et SACC.) Rob.

par I. EMMANOULIDIS et G. CORNIC

Laboratoire de Phytopathologie,
Institut National Agronomique, Alger

L'importance de la lumière sur la vie des champignons a été soulignée par de nombreux auteurs ; ce facteur influence aussi bien la croissance que la fructification (Carlite 1965). La lumière proche U.V. s'est révélée rapidement la longueur d'onde la plus efficace, et son influence sur la fructification a été très tôt mise en évidence sur des espèces différentes (Stevens 1928, Joly 1962, Leach 1962 a et 1962 b).

La plupart des études faites sur la fructification portent sur les Adelomycètes. Cependant il semble que dans la plupart des cas étudiés, il y ait peu de distinction entre la formation des conidiophores et pycnides d'une part, et les conidies et pycnospores d'autre part.

Pourtant il apparaît que ces processus sont bien distincts; ils réclament en effet des conditions thermiques ou lumineuses différentes (Trione et Leach 1969, Onesirosan et Benttari 1969, Vargas et Wilcoxson 1969, kimmer et McKeen 1969, Emmanouilidis 1970). Il semble donc qu'il faille séparer l'étude de l'induction des pycnides de celle des pycnospores.

Les résultats présentés ci-dessous concernent uniquement la formation des pycnides chez *Phomopsis mali*. On examinera leur induction à la lumière et à l'obscurité.

I — MATERIEL ET METHODES

Nous avons utilisé une souche de *Phomopsis mali* isolée à partir de la mycoflore de bourgeons apparemment sains de figuier de l'I.N.A. d'Alger.

Les cultures sont faites dans des boîtes de Petri de 9 cm de diamètre contenant 20 ml de malt gélosé à 2 %. Elles sont placées dans une salle de culture à une température de $23 \pm 1^\circ \text{C}$ sous un éclairement maximum de 1.500 Lux donné

par des tubes fluorescents « lumière du jour ». On peut réaliser au niveau de chaque boîte de Petri différents niveaux d'éclairement en les plaçant dans des sacs faits avec une épaisseur différente de papier blanc. L'obscurité totale est obtenue à l'aide de sacs faits de papier noir.

II — RESULTATS

A - INFLUENCE DE LA LUMIERE SUR LA FORMATION DES PYCNIDES.

1) Influence des différents niveaux d'éclairéments.

L'influence des différents niveaux d'éclairéments sur la pycnogenèse a déjà été étudiée (Richards 1951, Calpouzos et Lapis 1970); il a été montré que l'augmentation du niveau d'éclairement provoque une augmentation de l'intensité du phénomène jusqu'à l'apparition d'un plateau. On a obtenu sur *Phomopsis mali* des résultats analogues.

La fig. I présente les résultats obtenus dans deux expériences différentes, résultats qui ont été identiques. Une série de 4 boîtes de Petri dans chaque condition est mise 3 jours à l'obscurité, puis exposée respectivement pendant 15 jours sous 7 éclairéments différents : 0 (obscurité), 25, 50, 100, 250, 500, et 1.500 Lux. On constate que la quantité totale des pycnides augmente avec le niveau d'éclairement. Aux faibles intensités se forment de « grosses pycnides » dont le mode du diamètre est de 0,9 mm environ, elles se trouvent à la surface du milieu de culture. Aux plus forts éclairéments se forment de « Petites pycnides » dont le mode du diamètre est de 0,1 mm environ, elles se trouvent enfoncées dans le milieu de culture.

La lumière a donc au moins deux effets sur la pycnogenèse; d'une part son augmentation provoque l'accroissement de l'intensité du phénomène, d'autre part faibles et forts éclairéments provoquent l'apparition de deux formes distinctes de pycnides physiologiquement différentes ; en effet dans les conditions thermiques de notre salle de culture, nous avons observé en fin de croissance des spores et des cirrhes chez les « grosses pycnides », mais non chez les « petites pycnides ».

On a vérifié, par ailleurs, dans d'autres expériences, que toutes les cultures faites sous un éclairément inférieur à 50 Lux présentaient exclusivement des « grosses pycnides » et celles faites sous 1.500 Lux uniquement des « petites pycnides ».

2) *Effets de périodes lumineuses de longueurs différentes appliquées dès le début de la croissance sur la pycnogenèse.*

On a cherché à savoir le temps minimum pour que se réalise l'induction de la pycnogenèse par la lumière. Quarante boîtes de Petriensemencées sont placées 3 jours à l'obscurité; après cette période on les répartit en 10 lots : un lot conservé continuellement à l'obscurité et neuf lots subissant respectivement 8 h, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8 jours de lumière (1.500 Lux). A la fin de cette période lumineuse, les boîtes sont replacées à l'obscurité jusqu'à la fin des manipulations.

La fig. 2 illustre les résultats obtenus. On constate qu'une longueur minimale située entre 8 et 24 h d'éclairement est nécessaire pour que se réalise l'induction de la pycnogenèse. Après ce temps le nombre des pycnides formées augmente avec la durée de l'exposition à la lumière pour atteindre un plateau.

Les boîtes ayant subi 1 et 2 jours d'éclairement ne présentaient au moment de leur remise à l'obscurité aucune pycnide; ces dernières apparaissent après quelques jours. Le processus induit à la lumière conduisant à la pycnogenèse, se maintient donc à l'obscurité.

3) *Effets de photopériodes différentes sur la pycnogenèse.*

Quatre lots de 4 boîtes éclairées à 1.500 Lux sont soumis à 4 photopériodes différentes : 4, 8, 16, 24 heures. Dans tous les cas les boîtes de Petri sont placées 3 jours à l'obscurité après le repiquage du mycelium.

La fig 3 montre que plus la photopériode est grande, plus le nombre des pycnides qui apparaît est important. Un éclairement continu est donc dans le cas de *Phomopsis mali* favorable à la plus grande production de pycnides. L'effet de la photopériode a été déjà noté et il est généralement admis qu'une photopériode de 12 h favorise la fructification de la plupart des champignons de la flore parasite des semences (Neergaard 1971).

En tenant compte de la surface du mycelium à un moment donné et de la longueur de la photopériode, on a calculé le nombre des pycnides formées en fonction de la quantité de l'éclairement reçu aux différents moments de la croissance dans les quatre conditions de cultures. La fig. 4 montre l'évolution du nombre des pycnides formées en fonction de la quantité de l'éclairement reçu. On constate que la

relation obtenue est différente dans les 4 conditions étudiées. Cette observation suggère que chaque photopériode a une action spécifique sur la pycnogénèse.

On a calculé le rendement (Quantité des pycnides formées/Energie reçue), dans chaque condition au cours de la croissance. La fig. 5 représente les résultats obtenus. On constate que le rendement de la photopériode de 24 h égale celui de la photopériode de 8 h. A partir du douzième jour la vitesse des réactions impliquées dans la pycnogénèse est maximale en 16 h, tout apport d'énergie supplémentaire est alors perdu ; ceci implique une baisse de rendement en lumière continue.

Ces observations suggèrent encore que l'énergie lumineuse captée par un récepteur puis transformée en énergie chimique active une ou plusieurs voies métaboliques impliquées conduisant à la pycnogénèse.

B — INDUCTION DE LA PYCNOGENESE A L'OBSCURITE

Dans les conditions expérimentales *Phomopsis mali* en culture pure et en absence de la lumière ne réalise pas la pycnogénèse. Cependant lorsqu'il se trouve en culture mixte avec certains microorganismes, champignons ou bactéries, peut réaliser sa pycnogénèse.

Nous avons cultivé dans les mêmes boîtes de Petri *Phomopsis mali* avec *Sterigmatocystis nigra*, *Penicillium italicum*, *Phoma ps.* et deux Bactéries de la flore banale de l'eau de la ville d'Alger. Ces champignons sont capables de fructifier en obscurité. Dans tous les cas nous avons constaté après un mois de culture en obscurité la formation de « grosses pycnides » superficielles placées de préférence dans la zone de contact entre les deux microorganismes. Durant ce même temps les lots témoins ne donnent pas des pycnides. On a constaté encore que *Sterigmatocystis nigra* est le plus efficace pour réaliser l'induction à l'obscurité de la pycnogénèse de *Phomopsis mali*.

Il est bien connu qu'il ne se forme pas d'anastomoses entre champignons d'espèces différentes (Langeron et Vanberreughem 1952). Nous avons de plus cherché des anastomoses entre ces espèces en culture mixte, mais nous n'avons pas pu en déceler.

Tout se passe donc comme si une substance diffusant à partir du mycélium capable de fructifier en obscurité, passait dans le milieu de culture, puis dans le mycélium de *Phomopsis mali* pour provoquer sa pycnogénèse.

Lorsque de telles cultures mixtes de *Phomopsis mali* et *Sterigmatocystis nigra* sont exposées à la lumière, il se forme de « grosses pycnides » et de « petites pycnides » sur le mycélium de *Phomopsis mali*. Cependant une zone entourant les « grosses pycnides » s'en trouve totalement dépourvue. Il apparaît donc que la présence des « grosses pycnides » inhibe la formation des « petites pycnides ».

III — CONCLUSION ET DISCUSSION GENERALES.

Les résultats ci-dessus mettent en évidence l'importance de la lumière dans la pycnogenèse de *Phomopsis mali* ; en effet cultivé seul et en obscurité, il ne forme pas de pycnides ; il a besoin de la lumière pour son induction. Ce champignon se comporte à cet égard comme *Ascochyta pisi* (Leach 1962), *Trichoseptoria fructigena* (Emmanouilidis 1970), *Septoria nodorum* (Calpouzos et Lapis 1970), *Septoria tritici* (Cook et Gareth 1970) et *Diplodia natalensis* (Emmanouilidis et Gornic, résultats non publiés.)

L'influence de l'intensité lumineuse déjà étudiée par d'autres auteurs (Richards 1951, Calpouzos et Lapis 1970), a permis ici de distinguer la formation de deux sortes de pycnides induites à des niveaux d'énergie lumineuse différents : des « grosses pycnides » et des « petites pycnides ». Les « grosses pycnides » sont analogues à celles que le champignon forme habituellement dans son habitat naturel. Ces deux sortes de pycnides sont physiologiquement différentes ; en effet les « grosses pycnides » sporulent dans les conditions de notre salle de culture alors que les « petites pycnides » dans les mêmes conditions ne sporulent jamais.

L'expérience décrite par la fig 2 suggère que la lumière induit dans le mycélium des modifications qui préparent un processus conduisant à la pycnogenèse, et que ces modifications puissent se conserver à l'obscurité ; il semble donc que la lumière provoque dans le mycélium une modification durable du métabolisme (Carlis 1965).

D'autre part nos résultats montrent également qu'il est possible d'obtenir la pycnogenèse chez *Phomopsis mali* à l'obscurité en présence d'autres microorganismes champignons ou bactéries. Dans ce cas les pycnides formées sont semblables à celles qui apparaissent sous faibles éclaircissements. Etant donné que les mycéliums d'espèces fongiques différentes ne forment pas d'anastomoses entre eux on est amené à supposer l'existence d'une substance inductrice de la pycnogenèse émise par les champignons fructifiant à l'obscurité et remplaçant le rôle joué par la lumière. D'après nos expériences il est

évident qu'une telle substance ne serait pas spécifique d'une espèce fongique ni même des champignons seulement.

Il est donc probable que la lumière puisse modifier le métabolisme par l'intermédiaire d'une substance particulière dont elle provoquerait la synthèse. Trione et *al* (1966), par ailleurs, ont isolé une substance chez plusieurs champignons avec un pic d'absorption caractéristique à 310 nm; cette substance appelée « P 310 » se formerait dans le mycélium éclairé et dans quelques champignons sporulant à l'obscurité. Cependant cette substance ne diffuse pas le milieu de culture; de plus Vargas et Wilcoxson (1969) utilisant « P 310 » n'obtiennent aucune fructification chez *Helminthosporium dictioïdes*. Il semble qu'il faille d'autres recherches avant que la nature exacte des substances inductrices ne soit bien connue.

L'étude des photopériodes de longueurs différentes indique l'action spécifique de chaque photopériode utilisée ; de plus elle montre que le rendement de la lumière augmente progressivement avec la longueur de la photopériode ; vers la fin de la croissance elle atteint un maximum dans la photopériode de 16 heures. Pour des durées journalières d'éclairement supérieures à 16 h, la lumière n'est plus utilisée avec la même efficacité. On peut supposer qu'alors, une réaction couplée à la réception de l'énergie tend à devenir limitante.

Il est vraisemblable que le récepteur de l'énergie lumineuse absorbe préférentiellement dans les proches U.V.; en effet les effets de ces longueurs d'ondes sur la sporulation des champignons sont bien connus (Leach 1963, 1964 et 1968).

Enfin au cours de ces manipulations on a pu constater qu'un traumatisme du mycélium favorisait la formation des « grosses pycnides » sur la zone lésée sous fort éclairement. La proximité d'une paroi favorise également la production des « grosses pycnides ».

Ces études soulignent l'importance de la lumière dans la pycnogenèse de *Phomospsis mali*, et montre qu'il est vraisemblable qu'elle implique l'intervention d'une substance spécifique induisant la formation des pycnides.

Cependant ces études demandent à être complétées ; en effet dans quelle mesure la substance mise en évidence ici correspond à « P 310 » décrite par Trione et *al* (1966) et quelle serait sa nature ? D'autre part dans quelle mesure la différence physiologique observée sur les pycnides concernant la sporulation se traduit-elle sur le plan anatomique ? Doit on, enfin, envisager des substances inductrices différentes, induisant les différentes formes de pycnides ?

RESUME

La lumière induit la formation des pycnides chez *Phomopsis mali*. L'induction réalisée par la lumière peut se conserver à l'obscurité. La forme et la quantité des pycnides varient avec le niveau de l'éclairement. Sous deux éclairagements extrêmes apparaissent des pycnides physiologiquement différentes.

Phomopsis mali cultivé à l'obscurité et en présence d'autres microorganismes (champignons ou bactéries) pouvant réaliser leur fructification sans lumière, produit des pycnides analogues à celles qui se forment sous faible éclaircement et dans les conditions naturelles.

Nos expériences mettent en évidence une substance inductrice de la pycnogenèse, et la possibilité d'existence de formes différentes de cette substance induisant des formes différentes de pycnides.

BIBLIOGRAPHIE

- CALPOUZOS, L., LAPIS D.B. : Effets of light on pycnidium formation, sporulation and tropism by *Septoria nodorum*. *Phytopathology* 60 : 791-794, 1970.
- CARLILE, M.J. : The photobiology of fungi. - *Annu. Rev. Plant Physiol.* 16 : 175-202, 1965.
- COOK, B.M., GARETH JONES D. : The effect of near ultraviolet irradiation and agar medium on the sporulation of *Septoria nodorum* and *Septoria tritici*. - *Trans. Br. Mycol. Soc* 54 (2) : 221-226, 1970.
- EMMANOUILIDIS, I. : Induction de la formation des pycnides et des spores chez *Trichoseptoria fructigena* Maubl. en milieu de culture artificiel. - *Bull. Soc. Mycol. France* 86 : 269-275, 1970.
- JOLY, P. Recherches sur les genres *Alternaria* et *Stemphylium*. III, Action de la lumière et des Ultraviolets. - *Rev. Mycol.* 22 : 1.16, 1962.
- LANGERON, M., VANBEREUSEGHEM P. : Précis de Mycologie.- Masson Ed., Paris, 1952.
- LEACH C.M. : Sporulation of divers species of fungi under near ultra-violet radiation. - *Can. J. Bot.* 40 : 151-161, 1962 (a) :
- LEACH C.M. : The quantitative and qualitative relationship of ultra-violet and visible radiation to the induction of reproduction in *Ascochyta pisi*. - *Can J. Bot.* 40 : 1577-1602,
- LEACH C.M. : The qualitative relationship of monochromatic radiation to sexual and asexual reproduction of *Pleospora herbarum*. - *Mycologia* 55 : 151-153, 1963.
- LEACH C.M. : The relationship of visible and ultra-violet light to sporulation of *Alternaria chrysanthemi*. - *Brit. Mycol. Soc. Trans.* 47 : 333-334, 1964.
- LEACH C.M. : An action spectrum for light inhibition of the « terminal phase » of photosporogenesis in the fungus *Stemphylium botrysum*. - *Mycologia* 60 ; 532?546, 1968.
- NEERGAARD P. : Detection of seed-borne pathogens, Lecture Notes, Institut of seed pathology for developing countries, Copenhagen, 1971.

- ONESIROSAN, P.T., BANTTARI E.E. : The effect of light and temperature upon sporulation of *Helminthosporium teres* in culture. - Phytopathology 59 : 906-909, 1969
- RICHARDS G.S. : Factors influencing sporulation by *Septoria nodorum*. - Phytopathology 41 : 571-578, 1951.
- STEVENS F.L. : Effects of ultra-violet radiation of various fungi. - Bot. Gaz. 86 : 210-225, 1928.
- TRIONE, E.J., LEACH, C.M., MUTCH J.T. : Sporogenic substances isolated from fungi. - Nature 212 : 163-164, 1966.
- TRIONE, E.J., LEACH C.M. : Light-induced sporulation and sporogenic substances in fungi. - Phytopathology 59 : 1077-1083, 1969.
- VARGAS, J.M. JR. et WILCOXSON R.D. : Some effects of temperature and radiation on sporulation by *Helminthosporium dictyoïdes* on agar media. - Phytopathology 59 : 1706-1712, 1969.
- ZIMMER, R.C., McKEEN W.E. : Interaction of light and temperature on sporulation of the carrot foliage pathogen *Alternaria dauci*. - Phytopathology 59 : 743-749, 1969.

LEGENDES DES FIGURES

Fig. 1 — Variation du nombre de pycnides par boîte de Petri en fonction du niveau de l'éclaircement :

● ————— ● « grosses pycnides », ○ ————— ○
« petites pycnides ».

Fig. 2 — Variation du nombre de pycnides comptées en fin de période expérimentale par boîte de Petri, en fonction de la longueur de la période d'exposition à la lumière.

Fig. 3 — Evolution du nombre de pycnides par boîte de Petri en fonction du temps chez des cultures exposées sous différentes photopériodes :

▲ ————— ▲ : 4 H de lumière, 20 H d'obscurité
△ ————— △ ▲ ————— ▲ : 8 H » , 16 H »
■ ————— ■ : 16 H » , 8 H »
□ ————— □ ■ ————— ■ : 24 H » , 0 H »

Fig. 4 — Evolution du nombre de pycnides en fonction de la quantité d'éclaircement reçue par le mycelium (Lux cm-2 h-1) chez des cultures exposées sous différentes photopériodes :

▲ ————— ▲ : 4 H de lumière, 20 H d'obscurité
△ ————— △ : 8 H » , 16 H »
■ ————— ■ : 16 H » , 8 H »
□ ————— □ : 24 H » , 0 H »

Fig. 5 — Evolution du rendement de l'éclaircement pour la formation des pycnides R = $\frac{\text{Nombre de pycnides}}{\text{Quantité d'éclaircement}}$

en fonction du temps chez des cultures exposées sous des photopériodes différentes :

▲ ————— ▲ : 4 H de lumière, 20 H d'obscurité
△ ————— △ ▲ ————— ▲ : 8 H » , 16 H »
■ ————— ■ : 16 H » , 8 H »
□ ————— □ : 24 H » , 0 H »

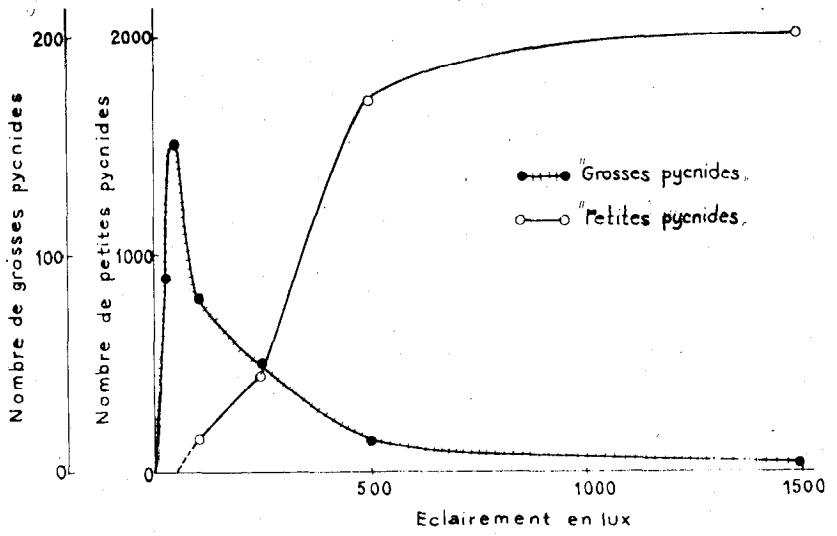


FIG 1

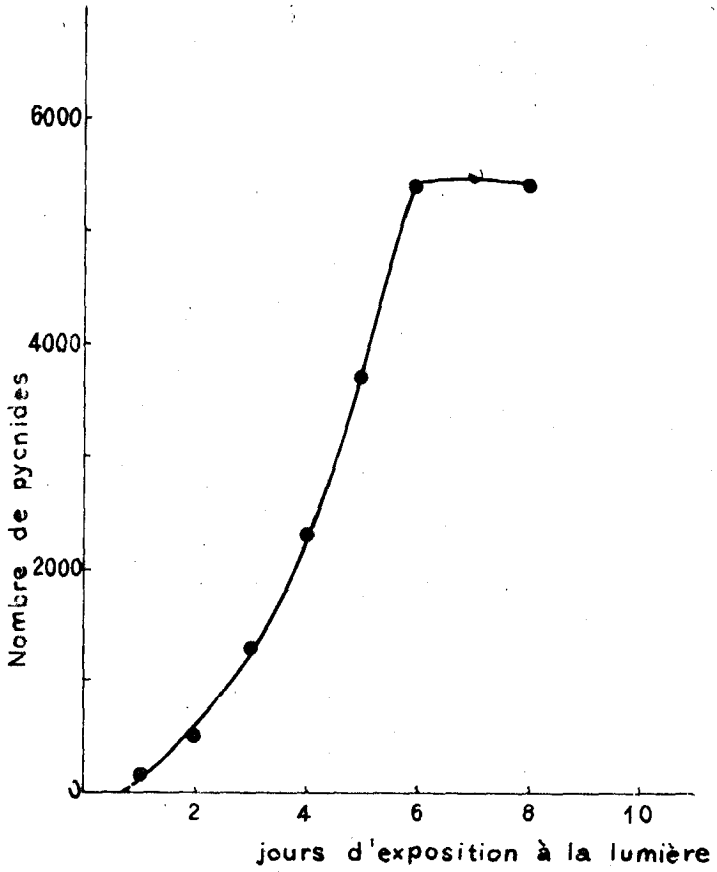


FIG 2

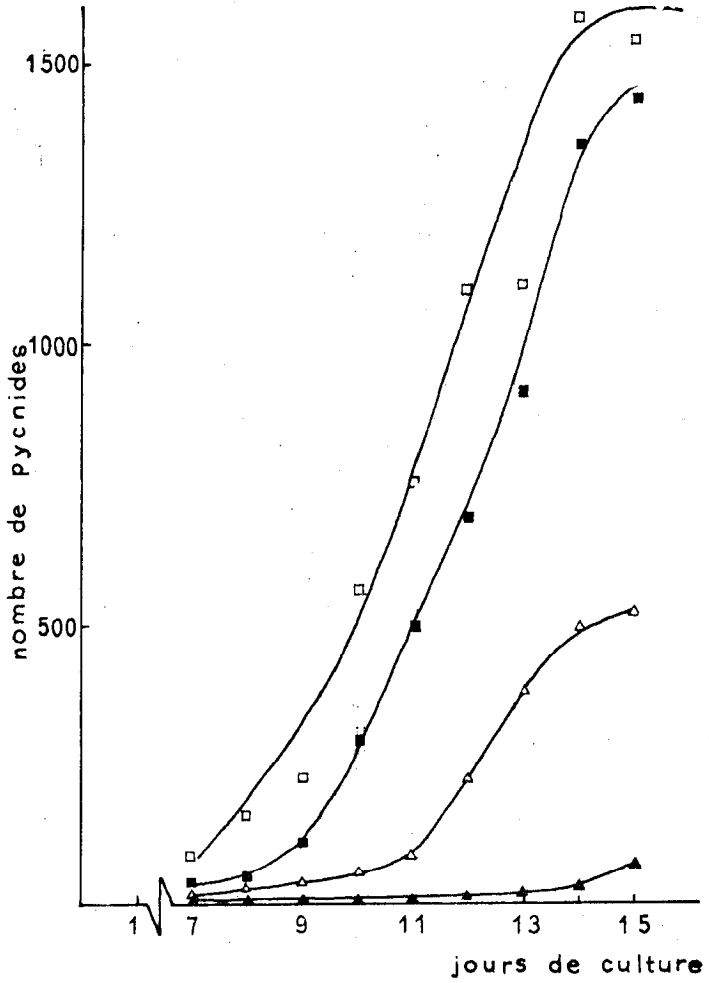


FIG.3

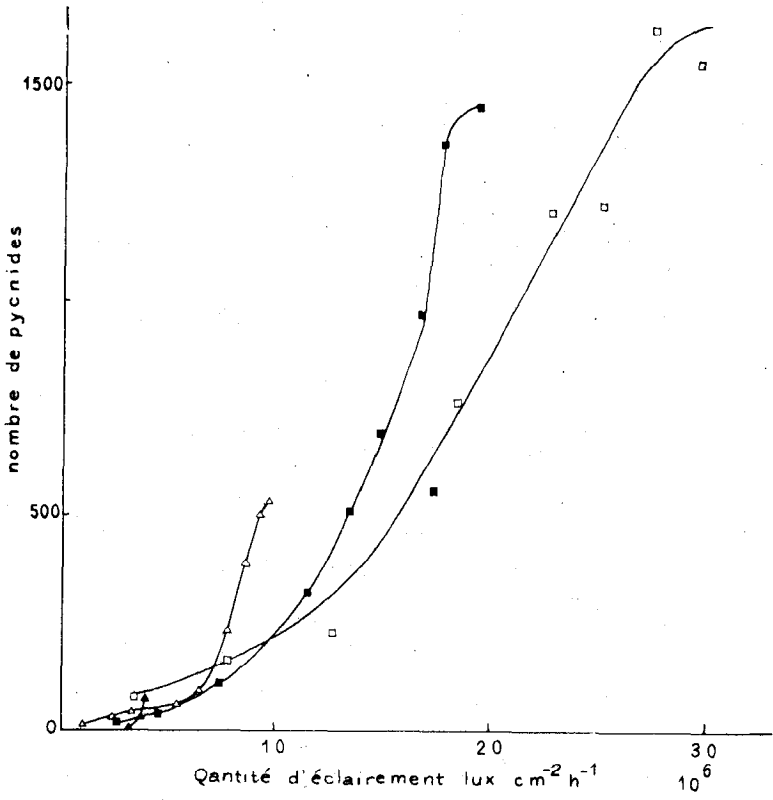


FIG 4

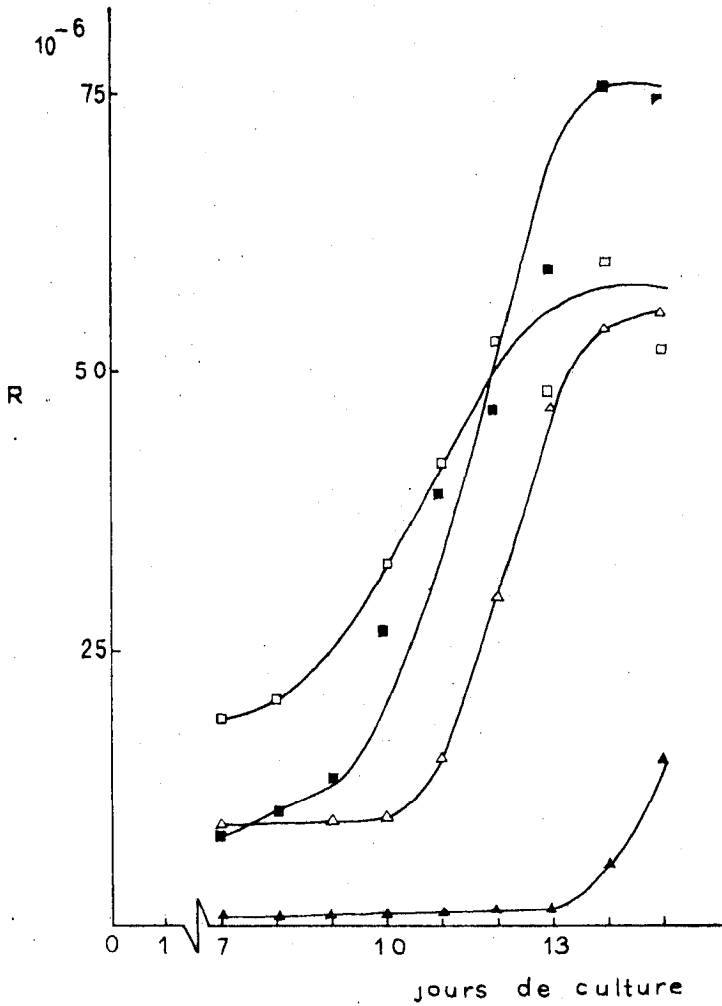


FIG 5