Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 81 (1971)

Artikel: Contribution à la connaissance de Gnomonia comari Karsten (syn. G. fructicola [Arnaud] Fall) : étude taxonomique, phytopathologique et recherches sur sa croissance in vitro

Autor: Bolay, Adrien

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-57134

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 02.10.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Ber. Schweiz. Bot. Ges. *81*, 398–482 (1971)

Contribution à la connaissance de Gnomonia comari Karsten (syn. G. fructicola [Arnaud] Fall). Etude taxonomique, phytopathologique et recherches sur sa croissance in vitro

Par *Adrien Bolay*

(Station fédérale de recherches agronomiques, Lausanne, et Département biologie végétale de l'Université de Genève)

Manuscrit reçu le 25 mars 1971

Table des matières

	Page
Introduction	398
Etude taxonomique et phytopathologique	399
I Historique et position systématique du genre *Gnomonia* Ces. et de Not.	399
II Le genre *Gnomonia* Ces. et de Not.	403
III *Gnomonia comari* Karsten	406
IV Aspect phytopathologique de *Gnomonia comari* Karsten	416
V Autres Gnomoniacées inféodées aux Rosacées herbacées	427
Etude physiologique	439
VI Matériel et méthodes	439
VII Influence des conditions du milieu	441
VIII La nutrition carbonée	450
IX La nutrition azotée	456
X Exigences vitaminiques	464
XI Influence des conditions de culture in vitro sur la morphogénèse	470
Résumé – Zusammenfassung – Summary	474
Références bibliographiques	479

Introduction

En Suisse romande, des champs de multiplication de plants de fraisiers sont établis en montagne, en dehors des zones de migrations des pucerons vecteurs de virus (Bovey, 1958). Lors de contrôles de l'état sanitaire de ces plantations, nous avons observé, sur les fraisiers d'abord, puis sur certaines Rosacées croissant spontanément dans les prairies voisines, un champignon appartenant à l'espèce *Gnomonia comari* Karst. Cette découverte a été le point de départ des recherches que nous relatons ici.

La première partie de ce travail est consacrée à une étude taxonomique et phytopathologique du champignon. Etant donné que *Gnomonia comari* Karst. se rencontre

sur de nombreuses plantes hôtes et que chacune d'entre elles héberge encore une ou plusieurs autres Gnomoniacées, nous avons porté une attention toute particulière à la synonymie de cette espèce et à l'identification des autres Gnomoniacées décrites jusqu'à ce jour sur les Rosacées herbacées. Par une revue de la littérature aussi complète que possible, aidée de nos propres observations et essais, nous avons tenté de définir l'importance de ce champignon sur le plan phytopathologique.

Dans la seconde partie de notre étude, nous avons examiné, in vitro, le rôle de la nutrition et l'influence des conditions extérieures sur la croissance et le développement des fructifications de quelques souches de *Gnomonia comari* Karst. En ce qui concerne la nutrition, nous nous sommes attaché spécialement à l'étude de la nature et de la concentration des diverses sources carbonées et azotées ainsi qu'aux besoins vitaminiques. Cette partie physiologique a été complétée par quelques recherches sur la croissance du champignon en fonction de diverses conditions du milieu: température, lumière, pH, mode d'inoculation et durée d'incubation.

Le présent travail a été effectué à la Station fédérale de recherches agronomiques de Changins sur Nyon, sous la direction de M. G. Turian, professeur au Département de biologie végétale de l'Université de Genève, et de M. E. Müller, professeur à l'Institut de botanique systématique de l'Ecole polytechnique fédérale, à Zurich. A nos deux directeurs de thèse, nous exprimons notre très vive gratitude pour les conseils et les encouragements qu'ils n'ont cessé de nous prodiguer durant toute la durée de nos recherches.

Nous exprimons nos sincères remerciements à M. M. Rochaix, directeur de la Station fédérale de recherches agronomiques de Lausanne et Changins sur Nyon, qui nous a accordé le temps et les moyens matériels nécessaires à notre étude. Notre reconnaissance s'adresse encore à tous nos collègues et collaborateurs de la Station de Changins pour leur précieuse aide et leurs judicieux conseils. Nous tenons à remercier tout spécialement MM. R. Bovey et R. Corbaz pour la correction du manuscrit, Mlle D. Schmidt et M. R. Murbach pour les analyses statistiques, M. P. Granchamp pour les photographies et MM. V. Ducrot et R. Pilloud pour leur aide au laboratoire. Notre gratitude s'adresse encore à Mmes F. Sojika et A. Kuffer pour la dactylographie du manuscrit et à Mlle D. Schmidt et Mme F. Pelet pour les traductions allemande et anglaise du résumé.

Notre tâche n'aurait pas pu être menée à chef sans l'examen des échantillons déposés dans les collections de plusieurs instituts et jardins botaniques d'Europe et d'Amérique. Nous remercions très sincèrement les directeurs et conservateurs des herbiers ci-après qui ont aimablement mis leurs échantillons à notre disposition:

Botanischer Garten und Museum, Berlin-Dahlem (B) – Musée botanique de l'Université de Copenhague (C) – Botany and Plant Pathology Laboratory, Canada Department of Agriculture, Ottawa (DAOM) – The Farlow Herbarium of Cryptogamic Botany, Harvard University, Mass. USA (FH) – Conservatoire et Jardin botaniques, Genève (G) – Musée de botanique de l'Université d'Helsinki (H) – Commonwealth Mycological Institute Kew (IMI) – Royal Botanical Garden Fungi Herbarium, Kew (K) – Institut de botanique de l'Université de Lausanne (LAU) – Institut de botanique de l'Université de Neuchâtel (NEU) – Institut de botanique systématique de l'Ecole polytechnique fédérale, Zurich (ZT).

Première partie

Etude taxonomique et phytopathologique

Chapitre premier

Historique et position systématique du genre Gnomonia Ces. et de Not.

Reconnaissant le caractère particulier de certains Pyrénomycètes classés dans le genre *Sphaeria* Fries, Cesati et de Notaris ont créé en 1863 le genre *Gnomonia* à

partir de l'espèce *Sphaeria gnomon* Tode. L'espèce type du genre devenant *Gnomonia vulgaris* Ces. et de Not. (Synonyme: *Gnomonia gnomon* [Tode] Schröter).

Dans la deuxième édition du traité de L. Rabenhorst «Kryptogamen-Flora», Winter (1887) fait du genre *Gnomonia* le type de la nouvelle famille des *Gnomonieae* appartenant au sous-ordre des *Sphaeriaceae*, ordre des Pyrénomycètes.

Von Höhnel (1917), dans son «System der Diaportheen», réunit dans ce groupe les Pyrénomycètes dont les asques sont pourvus d'une membrane mince et d'un anneau apical caractéristique, non colorable en bleu par l'iode. Le «System der Diaportheen» comprend 33 genres répartis jusqu'alors dans les familles des Dothidéacées, Sphærelloïdées, Mélanconidées, Mélogrammées, Gnomoniées, Valsées et Clypéosphæriées.

Nannfeld (1932) divise les Eu-ascomycètes en trois groupes: les Plectascales, les Ascoloculares et les Ascohyméniales. Dans ce troisième groupe figurent, à côté des Discomycètes, les 5 ordres suivants: Sphæriales, Diaporthales, Valsales, Coronophorales et Clavicipitales. Il reprend dans sa classification le «System der Diaportheen» établi par von Höhnel (1917) en élevant au rang d'ordre les deux sous-groupes créés par ce dernier auteur. Les Eu-Diaportheen v. Höhn. deviennent le nouvel ordre des Diaporthales, tandis que les Valseen v. Höhn. se répartissent au sein des Valsales. Les caractères des Diaporthales sont les suivants: les périthèces possèdent un long ostiole tapissé de périphyses. Les asques, pourvus d'un anneau apical non colorable par l'iode, ne sont pas disposés sur une seule hauteur, mais remplissent, à maturité, toute la cavité du périthèce. Les ascospores sont hyalines, de forme variable, allongées à filiformes, unicellulaires à pluricellulaires. Elles ne sont jamais allantoïdes, caractère propre aux Valsales.

Gäumann (1949) garde, dans ses grandes lignes, la classification des Ascomycètes proposée par Nannfeld. Il réunit toutefois les Valsales à l'ordre des Diaporthales.

Par ses travaux sur la composition de la paroi des asques, Lutrell (1951) apporte une notable simplificatipn de la systématique des Ascomycètes en créant les deux types d'asques fondamentaux, bituniqués et unituniqués.

Si les caractères généraux des Diaporthales sont en général bien définis, les systématiciens modernes sont, par contre, très partagés en ce qui concerne le maintien de ce groupe au niveau de l'ordre ou de la famille. Alors que von Arx et Müller (1954), Chadefaud (1960), Gäumann (1964), Müller et Loeffler (1968) lui attribuent le rang d'ordre, Munk (1953), Dennis (1960), Müller et von Arx (1962) et von Arx (1967) le ramènent à l'état de famille dans l'ordre des Sphæriales. Nous ne sommes pas compétent pour prendre position dans ce délicat problème de systématique. Toutefois, pour des raisons pratiques, il nous paraît plus avantageux de séparer cet immense groupe des Pyrénomycètes aux asques unituniqués et inoperculés en 4 ordres, comme le proposent Müller et Loeffler (1968).

L'ordre des Diaporthales est formé d'espèces parasites ou saprophytes, lignicoles, caulicoles ou follicoles, caractérisées par des asques cylindro-fusiformes, à anneau apical bien marqué, dont la section est visible au microscope sous forme de deux corps ellipsoïdo-trapézoïdaux fortement réfringents. Cet anneau apical est de nature chitinoïde, non colorable en bleu par l'iode, mais révélé par le rouge Congo et le vert Janus (Chadefaud, 1960). Dans la majorité des espèces, les asques se détachent de la paroi du périthèce lorsque les spores sont mûres et remplissent toute la cavité

de la fructification. Les paraphyses sont rares, disparaissant avec l'âge ou alors sont totalement absentes. Les périthèces sont généralement pourvus d'une ouverture prolongée par un bec allongé, inséré au sommet ou sur le côté de la fructification. Ils sont libres ou inclus dans un stroma plus ou moins développé. Les ascospores sont ordinairement hyalines, amérosporées, didymosporées, apiosporées, scolécosporées ou allantoïdes.

Dans son traité sur les Pyrénomycètes, Winter (1887) introduit la famille des *Gnomonieae*. Selon cet auteur, les Diaporthales sensu Müller et Loeffler (1968) sont réparties en 3 familles. D'une part, les *Gnomonieae*, caractérisées par des périthèces libres, sans stroma et comprenant les genres: *Phomatospora* Sacc., *Ditopella de* Not., *Ceriospora* Niessl., *Gnomonia* Ces. et de Not., *Cryptoderis* Auersw. et *Camptosphaeria* Fuck. et, d'autre part, les *Valseae* et les *Melanconideae* qui réunissent les genres présentant des périthèces inclus dans un stroma plus ou moins abondant. La distinction entre ces deux dernières familles réside uniquement dans la nature des fructifications asexuées.

Von Arx (1951) répartit les Diaporthales en 4 familles: les Gnomoniacées, les Diaporthacées, les Valsacées et les Phomatosporacées. Les caractères propres aux Gnomoniacées sont définis comme suit: périthèces épars, sans stroma ou avec tout au plus un léger clypeus, immerses, se dégageant parfois du substrat à maturité. A l'état juvénile ils sont fermés, s'ouvrant ensuite par un ostiole prolongé par un bec plus ou moins long, tapissé à l'intérieur de périphyses, inséré au sommet ou sur le côté de la fructification. Les asques pédicellés sont unituniqués, pourvus d'un anneau apical. A maturité, ils se détachent de la paroi et remplissent toute la cavité du périthèce. Les ascospores sont hyalines, unicellulaires, pluricellulaires ou filiformes. Les paraphyses sont simples, se gélifiant à maturité, ou font totalement défaut.

Les Diaporthacées sont proches parentes des Gnomoniacées et sont liées entre elles par de nombreux intermédiaires. Les premières comprennent des espèces caulicoles avec des périthèces inclus dans un stroma épais. Les secondes sont composées d'espèces follicoles aux périthèces libres. La famille des Valsacées est constituée de genres possédant des ascospores allantoïdes. Les Phomatosporacées groupent les genres présentant des asques cylindriques non ou faiblement pédicellés, restant fixés à la paroi du périthèce à maturité.

La division des Diaporthales proposée par von Arx (1951) a un caractère éminemment pratique; elle facilite grandement l'identification des espèces de ce vaste ordre. Par contre, il y a lieu d'être très réservé quant à la valeur phylogénique d'un tel système. Les subdivisions établies doivent davantage être considérées comme des groupes morphologiquement homogènes que comme des familles au sens systématique. C'est ce qu'a d'ailleurs voulu l'auteur en utilisant pour ces 4 familles une désignation germanique (Gnomoniaceen, en français: Gnomoniacées) et non pas latine *(Gnomoniaceae)*.

Pour les besoins de notre travail, nous reprenons, en la modifiant légèrement, la classification établie par von Arx (1951) (tableau 1).

A. Clef des Diaporthales

A. Asques cylindriques, non ou faiblement pédicellés, restant fixés, à maturité, à la paroi du périthèce. Paraphyses présentes, au moins au début — *Phomatosporacées*

Périthèces / Ascospores	PHOMATOSPORACÉES	GNOMONIACÉES	DIAPORTHACÉES
	Endoxyla Phomatospora	Gnomoniella Sphaerognomonia	Diaporthopsis Diplacella Ditopella Gibbelia Heteropera Mamianiella Mazzantia
	Hercospora Massariovalsa Melanconis Plagiostigme Pseudothis Savulescuana Sydowiella	Gnomonia Plagiostoma	Cryptodiaporthe Diaporthe Diaporthella Endothia Phylloporthe
	Anisomyces	Apiognomonia Plagiostomella	Anisogramma Apioporthella Hypospilina Lambro Mamiania
	Diatractum	Pleuroceras	
		Ophiognomonia	
	Melogramma	Gäumannomyces Plagiosphaera	Linospora
			VALSACÉES

Tableau 1: Classification des Diaporthales

A*. Asques cylindro-fusiformes, se détachant de la paroi du périthèce, à maturité des spores, et remplissant toute la fructification. Paraphyses rares ou absentes — B.

B. Ascospores allantoïdes — *Valsacées*

B*. Ascospores non allantoïdes — C.

C. Périthèces inclus dans un stroma plus ou moins abondant — *Diaporthacées*

C*. Périthèces sans stroma, tout au plus surmontés d'un faible clypeus — *Gnomoniacées*

B. Clef des Gnomoniacées

A. Périthèce à ostiole papillaire. Présence d'un faible clypeus	*Sphaerognomonia* Potebnia, 1910
A*. Périthèce avec une ouverture en forme de bec plus ou moins long	B.
B. Périthèce droit, bec inséré au sommet	
1. Ascospores amérosporées	*Gnomoniella* Saccardo, 1881
2. Ascospores didymosporées	*Gnomonia* Cesati et de Notaris, 1861
3. Ascospores apiosporées	*Apiognomonia* von Höhnel, 1918
4. Ascospores didymosporées, l'une des cellules filiforme et stérile	*Ophiognomonia* Saccardo, 1899
5. Ascospores scolécosporées	*Gäumannomyces* von Arx et Olivier, 1952
B*. Périthèce couché, bec inséré latéralement	
1. Ascospres didymosporées	*Plagiostoma* Fuckel, 1869
2. Ascospores apiosporées	*Plagiostomella* von Höhnel, 1919
3. Ascospores didymosporées, profondément constrictées, en forme double fuseau	*Pleuroceras* Riess, 1854
4. Ascospores scolécosporées	*Plagiosphaera* Petrak, 1941

Nous avons retranché de la liste des Gnomoniacées sensu von Arx (1951) les genres *Diplacella* Syd., *Heteroptera* Theissen (Synonyme: *Hypospila* auct. non Fries) et *Linospora* Fuck. en raison de la présence d'un stroma plus ou moins abondant autour de leurs périthèces.

Chapitre II

Le genre Gnomonia Ces. et de Not.

A. Caractéristiques du genre

Gnomonia Cesati et de Notaris

Sferiac. Ital. 1:57 (1863)

Synonymes: *Gnomoniopsis* Berl. – Icones Fug. 1:93 (1894)
Melanopelta Kirschst. – Ann. Mycol. 37:113 (1939)
Rostrocoronophora Munk – Dansk. Bot. Arkiv 15 (2):98 (1953)

Espèce type: Gnomonia vulgaris Ces. et de Not.

Diagnose du genre: Les périthèces caulicoles ou follicoles sont épars, immerses ou plus ou moins érumpants à maturité, globuleux à subglobuleux. L'ostiole, au sommet du périthèce, est en forme de bec cylindrique plus ou moins allongé, tapissé à l'intérieur de nombreuses périphyses. La paroi périthéciale est composée de deux couches: l'une externe, constituée de cellules polygonales à membrane épaisse et foncée, l'autre interne, formée de cellules aplaties à membrane mince et hyaline.

Les asques sont fusiformes à claviformes, unituniqués et munis d'un anneau apical. Ils contiennent 8, rarement 4 ou 6, ascospores disposées sans ordre particulier et remplissant, à maturité, toute la cavité périthéciale. Les paraphyses sont rares ou absentes.

Les ascospores sont hyalines, bicellulaires, septées entre le milieu et les $^2/_3$ de leur longueur, peu ou pas constrictées, oblongues, ellipsoïdales, fusiformes ou filiformes, droites ou légèrement arquées, parfois terminées par des appendices filiformes ou spatuliformes.

Le genre *Gnomonia* Ces. et de Not. est lié aux genres *Gnomoniella* Sacc., *Apiognomia* v. Höhn., *Plagiostoma* Fuck et *Plagiostomella* v. Höhn. par de nombreuses formes intermédiaires.

La distinction entre des spores unicellulaires ou bicellulaires est difficile dans ce groupe; les spores sont souvent très petites et les grosses vacuoles huileuses qu'elles contiennent fréquemment donnent l'illusion de la présence d'une ou de plusieurs cloisons. Ce critère a incité certains mycologues, en particulier Saccardo (1882), à transférer de nombreuses espèces du genre *Gnomonia* au genre *Gnomoniella* et vice versa.

Le genre *Apiognomonia* a ét créé par von Höhnel (1918) pour les espèces bicellulaires, divisées de manière très inégale. Parmi les *Gnomonia*, on trouve tous les intermédiaires entre des ascospores septées rigoureusement en leur milieu et celles où la cloison se situe aux $^3/_4$ ou même aux $^4/_5$ de leur longueur. A quel moment la spore devient-elle apiosporée? D'après von Arx (1952), dès que la séparation se place aux $^2/_3$ de la longueur. «Zweizellige Ascosporen, bei denen die Querwand mehr oder weniger nach unten verschoben ist, so dass die obere Zelle viel grösser und wenigstens doppelt so lang wir die untere ist, nennt man apiospor». En adoptant ce point de vue, un très grand nombre d'espèces devraient être transférées du genre *Gnomonia* au genre *Apiognomonia* ou du genre *Plagiostoma* au genre *Plagiostomella*, ce qui alourdirait considérablement la synonymie déjà pléthorique de ce groupe de champignons. Nous pensons plutôt qu'il faut réserver le préfixe «apio» aux spores très inégalement divisées, soit aux $^3/_4$ ou plus de leur longueur, ce qui semble d'ailleurs plus conforme à l'idée de von Höhnel (1918): «Da man die Bezeichnung Apio nur für solche Pilze gebrauchen kann, die sehr ungleich zweizellige Sporen haben...»

L'espèce *Gnomoniella vagans* Johan., sur *Dryas octopetala* L. fait la transition entre les genres *Apiognomonia* et *Gnomoniella*. Ses ascospores sont en partie apiosporées et en partie amérosporées. La position de la cloison des spores bicellulaires est un critère très discutable et seule une étude cyto-morphologique des espèces critiques pourrait apporter des éléments nouveaux en faveur du maintien ou de la suppression des genres *Apiognomonia* v. Höhn. et *Plagiostomella* v. Höhn.

Le genre *Rehmiella* (Winter, 1883) n'est représenté que par une seule espèce: *Rehmiella alpina* Wint. qui ne se différencie de *Gnomonia comari* Karst. que par les asques qui contiennent 16 ascospores au lieu de 8. Cette seule différence ne nous paraît pas suffisante pour justifier la création d'un genre distinct de *Gnomonia*, ceci d'autant moins que, parmi les *Gnomonia* qui, en majorité possèdent 8 acospores, se trouvent également quelques espèces qui n'en comptent que 4 (*Gnomonia tetraspora* Wint., *Gnomonia rubi* [Rehm] Wint.) ou 6 (*Gnomonia sanguisorbae* [Rehm] E. Müller). Le maintien du genre *Rehmiella* ne se justifie guère et Winter (1887) lui-même replace cette espèce dans le genre *Gnomonia*. La duplication du nombre des ascospores a incité von Höhnel (1919) à rattacher cette espèce au genre *Ditopella* de Not. Ce transfert est malheureux car, comme le remarquaient déjà von Arx et Müller (1954), la présence d'un abondant stroma autour du bec du périthèce exclut le genre *Ditopella* des Gnomoniacées.

De par leur position dans le substrat et leur forme, les périthèces des Gnomoniacées se rattachent soit au type eutypoïde, soit au type valsoïde (Chadefaud, 1960). Dans le premier cas, le périthèce a une position droite, perpendiculaire à la surface du substrat. Dans le second cas, il est couché; les asques sont alors horizontaux et

l'ouverture du périthèce est latérale, ce qui oblige le bec à décrire une courbe de quelque 90° pour sortir du substrat.

Les genres *Gnomonia*, *Apiognomonia* et *Gnomoniella* sont du type eutypoïde. Les genres *Plagiostoma*, *Plagiostomella* et *Plagiosphaera* appartiennent au type valsoïde. Les genres *Ophiognomonia*, *Gäumannomyces* et *Pleuroceras* prennent une position intermédiaire (von Arx et Olivier, 1952), l'axe du périthèce faisant un angle variant de 45 à 75° avec le plan du substrat. Là aussi, on rencontre des formes intermédiaires entre les genres *Gnomonia* et *Plagiostoma*, d'une part, et entre les genres *Apiognomia* et *Plagiostomella*, d'autre part.

D'après les recherches de Müller et von Arx (1962), les genres *Gnomoniopsis* Berl., *Melanopelta* Kirschst. et *Rostrocoronophora* Munk. sont synonymes de *Gnomonia* Ces. et de Not.

B. Espèce type du genre

Gnomonia vulgaris Cesati et de Notaris

Sferiac. Ital. 1:57 (1863)

Synonymes: *Sphaeria gnomon* Tode – Fungi Mecklenb. 2:50 (1791)
Gnomonia gnomon (Tode) Schröt. ap. Cohn – Krypt. Fl. Schlesiens 3 (2):390 (1897)

Diagnose: Les périthèces sont épars, immerses, devenant érumpants à maturité, dispersés dans le limbe, les nervures et les pétioles des feuilles. Ils sont subglobuleux à fortement dépressés, de 170–250 μ de diamètre et de 100–150 μ de hauteur. L'ostiole, en forme de bec cylindrique, de 300–350 μ de long sur 50–25 μ de section, est inséré au sommet du périthèce. La paroi périthéciale, de 16–18 μ d'épaisseur, comprend, à l'extérieur, 1–3 couches de cellules polygonales à membrane épaisse et foncée et, à l'intérieur, 1–2 couches de cellules aplaties à membrane mince et hyaline.

Les asques unituniqués, fusiformes à claviformes, de 30–40 $\times$ 6–8 μ, sont pourvus d'un anneau apical et contiennent 8 ascospores disposées en faisceau. A maturité, ils remplissent toute la cavité périthéciale. Paraphyses absentes.

Les ascospores hyalines, de 18–23 $\times$ 1–1,5 μ, sont fusiformes, bicellulaires, septées au milieu, peu ou pas constrictées et pourvues d'appendices filiformes.

Matrix: Feuilles mortes hivernées de *Corylus* sp.

Gnomonia vulgaris Ces. et de Not. a été soigneusement étudié, décrit et illustré par Klebahn (1918). En culture, cette espèce forme des périthèces, mais pas de fructifications asexuées.

C. Formes imparfaites

Un certain nombre de Gnomoniacées forment sur la plante hôte ou en culture pure des fructifications asexuées. Les relations entre les formes parfaites et imparfaites on été établies pour de nombreuses espèces par Klebahn (1907, 1908, 1918), Brook (1910), Arnaud et Arnaud (1931), Wormald (1944), Fall (1951) et von Arx (1970).

Les formes conidiennes des Gnomoniacées appartiennent aux cinq genres suivants:

Mélanconiales: *Cylindrosporella* v. Höhn.
Discula Sacc.
Marssoniella v. Höhn.

Sphæropsidales: *Phomopsis* Sacc.
Zythia Fr.

Un très grand nombre de formes imparfaites ont été décrites et rattachées à près d'une vingtaine de genres. Une révision des Mélanconiales, autrefois classées dans le genre *Gloeosporium* Desm. et Mont., a permis à von Arx (1970) d'établir la synonymie de ce vaste groupe et de ne maintenir, pour les formes imparfaites des champignons qui nous intéressent, que les genres *Cylindrosporella*, *Discula* et *Marssoniella*. D'après les travaux de Sutton (1967), le genre *Libertinia* v. Höhn (forme imparfaite de *Gnomonia erythrostoma* [Pers.] Auersw.) est un cas particulier du genre *Phomopsis* Sacc. dont les pycnides ne produisent que des spores filiformes du type β.

Chapitre III

Gnomonia comari P. A. Karsten

A. Description de l'espèce

Forme parfaite: Gnomonia comari Karsten – Mycol. Fenn. 2:122 (1873)

Forme imparfaite: Zythia fragariae Laibach – Arb. Kaiserl. Biolog. Anstalt f. Land- u. Forstw. 6 (1):78–80 (1908)

Synonymes: Voir page 413.

Diagnose: Les périthèces sont noirs, carbonacés, épars, immerses, rarement érumpants à maturité, globuleux à légèrement dépressés, de 250–600 μ de diamètre sur 100–300 μ de hauteur. L'ouverture, au sommet du périthèce, se prolonge en un long bec cylindrique de 200–1200 μ de long et de 90–45 μ de section. La paroi périthéciale, de 15–50 μ de large, est composée, à l'extérieur, de 2–3 couches de cellules aplaties et hyalines.

Les asques unituniqués, fusiformes à claviformes, de 20–35 $\times$ 3,5–8 μ sont pourvus d'un anneau apical et contiennent 8 ascospores disposées sans ordre particulier. A maturité, ils se détachent de la paroi et remplissent toute la cavité périthéciale. Il n'y a pas de paraphyses (fig. 1, 8 et 9).

Les ascospores sont hyalines, oblongues-ellipsoïdales, parfois faiblement arquées, bicellulaires, peu ou pas constrictées, septées entre le milieu et les $^2/_3$ de leur longueur, la petite cellule à peine plus étroite que la grande. Elles mesurent 6,5–13 $\times$ 1,5–2,5 μ et contiennent souvent 2 gouttelettes huileuses dans chaque cellule (fig. 10A).

Les pycnides sont éparses, immerses, devenant érumpantes à maturité, subglobuleuses, d'abord jaune brunâtre, puis brun noirâtre, d'un diamètre de 130–300 μ. L'ostiole papillaire se présente comme une couronne blanchâtre vue en plan. La paroi est mince, de 15–20 μ d'épaisseur, tapissée à l'intérieur de conidiophores simples de 10–25 μ de long et de 2–3 μ de large à la base, se rétrécissant au sommet. Les pycnidiospores sont hyalines, amérosporées, oblongues obtuses, avec une gouttelette huileuse à chaque extrémité, de 4,5–8,0 $\times$ 1,6–3,2 μ (fig. 2, 4, 5, 6, 7 et 10B).

Gnomonia comari Karst. se développe sur de nombreuses espèces de Rosacées herbacées ainsi que sur *Epilobium hirsutum* L. En raison de l'importance économique du fraisier, c'est surtout sur cette plante hôte que le champignon a été étudié. Des

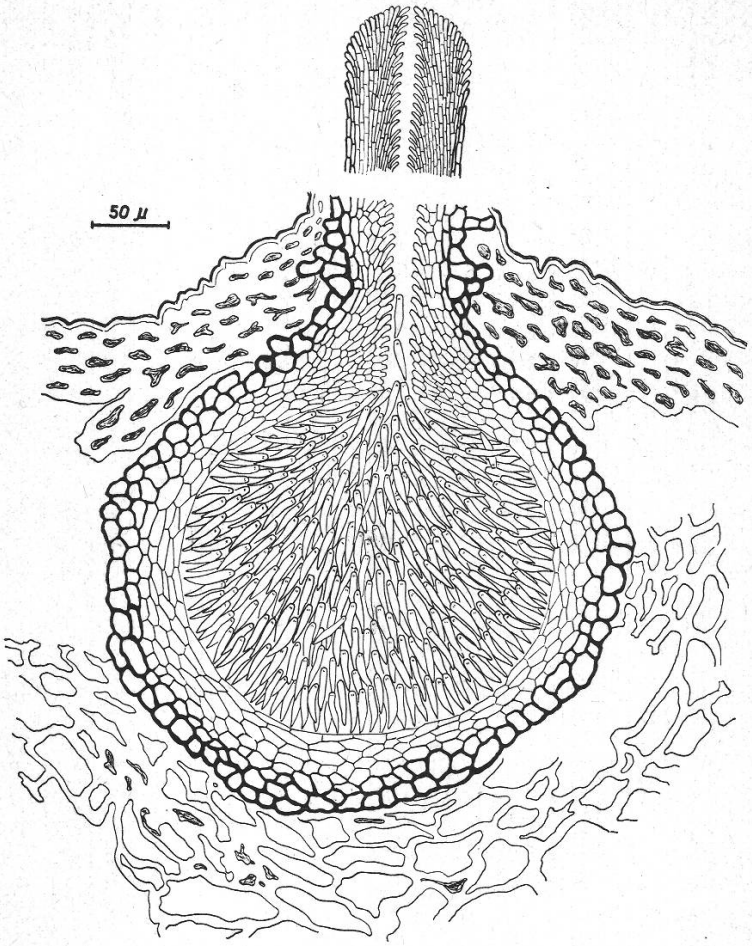


Figure 1

Coupe à travers un périthèce de *Gnomonia comari* Karst. dans un pétiole de fraisier

descriptions très complètes des fructifications sexuées et asexuées sur *Fragaria cultivar* ont été données en Europe par Arnaud et Arnaud (1931), Wormald et Montgomery (1941), Truszkowska (1963), Seemüller (1969) et, en Amérique du Nord, par Alexopoulos et Cation (1948), Sung Huang (1949), Fall (1951) et Bolton (1954). En Grande-Bretagne, Wormald (1944) décrit le champignon sur un hybride horticole de *Geum*, Moore (1949) sur *Potentilla reptans* L. et Smith (1910) sur *Epilobium hirsutum* L.

Dans l'ensemble, les descriptions des auteurs ci-dessus correspondent à nos propres observations. Les tableaux 2, 3 et 4 permettent la comparaison des dimensions des asques, ascospores et pycnidiospores mesurées à l'étranger et en Suisse sur du matériel récolté sur des fraisiers cultivés, sur d'autres Rosacées herbacées ainsi que sur *Epilobium hirsutum* L.

Il ressort de ces trois tableaux que la grandeur des spores est légèrement influencée par la nature du substrat. C'est notamment le cas au tableau 2 avec les valeurs données par Bolton (1954) pour des fructifications récoltées dans la nature ou développées in vitro en milieu gélosé au glucose et extrait de pomme de terre (PDA). Les pycnidiospores formées sur les fraises sont en général plus grandes que celles prélevées sur les feuilles ou les pétioles des mêmes plantes hôtes. Enfin, il apparaît au tableau 4 que les grandeurs maxima des spores sont quelque peu plus élevées sur

Tableau 2

Dimensions en μ des asques, ascospores et pycnidiospores de *Gnomonia comari* Karst. Plante hôte: *Fragaria cultivar*

Auteurs	Pays	Asques	Ascospores	Pycnidiospores
Arnaud et Arnaud, 1931	France	33	11–13,5 × 2–2,5	6,7 × 2
Wormald et Montgomery, 1941	GB	—	—	5,5–7 × 1,5–2
Alexopoulos et Catin, 1948	USA	—	7–11,5 × 2–3	—
Sung Huang, 1949	USA	35–40 × 7–11	7–12 × 2–3	5,2–7,3 × 1,7–2
Fall, 1951	Canada	33	10–12 × 2–3	5–6 × 2
Bolton 1954 en nature	Canada	22,6–36,5 × 7,3–12,4	8–12,5 × 1,6–2,5	4,5–6 × 1,2–2
Bolton 1954 in vitro	Canada	28–38,5 × 8,2–13,4	10,5–15 × 2–3,5	4,8–7,2 × 1,8–2,4
Truszkowska, 1963	Pologne	30–32 × 5–7,5	10–13 × 2,5	5–7,5 × 1,5–2,5
Shipton, 1967	GB	—	—	5–7,5 × 1,5–2
Seemüller, 1969	BRD	—	8,2–14 × 2,1–2,7	4,8–7,1 × 1,5–2,8

Tableau 3

Dimensions en μ des asques, ascospores et pycnidiospores de *Gnomonia comari* Karst. Matériel récolté en Suisse sur *Fragaria cultivar*

Emplacements		Asques	Ascospores	Pycnidiospores
Miex VD	Préalpes	25–32 × 3,8–4,8	7,3–10,2 × 1,6–2,5	4,5–7,0 × 1,9–2,5
Corbeyrier VD	Préalpes	25,5–32 × 5,1–6,4	7–12,8 × 1,6–3,2	5,4–8,0 × 1,6–3,2
Bex VD (fraise)	Préalpes	—	—	8,9–11,8 × 2–2,2
Nyon VD	Plateau	27,5–34,5 × 3,7–5,5	8,6–10,5 × 2,0–2,5	4,8–6,0 × 1,6–2
Wavre NE	Plateau	29–35 × 3,8–5,4	7–10,2 × 1,6–2,5	4,8–6,4 × 1,6–2,3
La Frétaz VD	Jura	25–32 × 4,0–6,5	6,4–9,6 × 1,5–2,5	—
Tenero TI	Tessin	—	—	5,7–6,7 × 1,6–2,2

les fraisiers cultivés que sur les plantes sauvages. L'influence des conditions du milieu nutritif sur la croissance des spores est un phénomène qui se retrouve chez d'autres champignons. Un bon exemple nous en est donné par Müller (1966) qui a mis en évidence l'importance du rapport carbone/azote dans le milieu nutritif pour la fructification et les dimensions des ascospores de *Leptosphaerulina australis* McAlpine.

Les pycnides apparaissent en fin d'été, dans le limbe, aux emplacements des nécroses foliaires, sur les nervures et les pétioles des feuilles desséchées pendant l'été, aux extrémités des hampes florales ainsi que sur le calice et sur le réceptacle des fraises. Sur le limbe des feuilles, les pycnides sont rondes vues en plan. Sur les nervures, les tiges et les pétioles, elles sont allongées dans le sens de la longueur du substrat. Leur couleur varie suivant la plante hôte. Elles sont brun jaunâtre sur *Fragaria*, *Potentilla*, *Geum* et *Sanguisorba*, brun foncé et même noirâtres sur *Alchemilla*.

Les périthèces s'observent au printemps sur les organes morts. Ils sont spécialement abondants sur les pétioles, les tiges florales et dans le limbe des feuilles. On peut déjà en récolter à maturité en automne sur des organes desséchés durant l'été. Arnaud et Arnaud (1931), Alexopoulos et Cation (1948) les ont observés sur des fraises pourries. Dans la nature, ils ne possèdent qu'un seul bec de couleur noire, sauf

Tableau 4

Dimensions en μ des asques, ascospores et pycnidiospores de *Gnomonia comari* Karst. en fonction de la plante hôte. Résumé des échantillons examinés

Plantes hôtes	Nombre d'échantillons	Asques	Ascospores	Pycnidiospores
Fragaria cultivar	7	25–35 × 3,8–6,5	6,4–12,8 × 1,5–3,2	4,8–8,0(11,8) × 1,6–3,2
Fragaria vesca L.	6	22,5–32 × 3,8–6,0	7,0–11,5 × 1,6–2,5	4,2–7,0 × 1,6–2,5
Fragaria moschata Duchesne	1	—	—	6,4–9,0 × 2,0–2,3
Comarum palustre L.	3	22,5–29 × 3,8–6,4	6,5–11,0 × 1,5–2,5	—
Potentilla rupestris L.	1	—	—	4,5–6,4 × 1,6–2,5
Potentilla anserina L.	4	19,0–27,0 × 3,2–5,7	7,0–10,0 × 1,3–2,2	4,2–6,4 × 1,6–2,5
Potentilla erecta Räuschel	2	—	—	4,5–6,4 × 1,6–2,5
Potentilla reptans L.	1	—	—	4,5–6,4 × 1,6–2,5
Potentilla aurea L.	1	—	—	4,5–7,0 × 1,9–2,6
Geum urbanum L.	3	—	—	4,2–7,0 × 1,6–2,5
Geum rivale L.	4	24,0–31,0 × 3,6–7,2	7,0–10,8 × 1,6–2,5	4,8–6,4 × 1,6–2,2
Alchemilla conjuncta Bab. em. Becherer	2	—	—	4,5–6,4 × 1,9–2,5
Alchemilla vulgaris L.	9	21,0–32,0 × 3,8–5,7	7,5–10,2 × 1,6–2,5	4,5–7,0 × 1,6–2,5
Agrimonia eupatoria L.	3	21,0–28,0 × 3,5–5,1	6,4–10,0 × 1,6–2,5	—
Agrimonia odorata Mill.	1	19,0–27,0 × 3,8–5,1	7,0–9,3 × 1,9–2,5	—
Sanguisorba minor Scop.	3	27,0–32,0 × 3,8–5,4	8,5–10,2 × 1,6–2,5	4,5–6,4 × 1,6–2,8
Epilobium hirsutum L.	3	—	8,0–10,2 × 1,9–2.5	—

l'extrémité qui est brun jaunâtre. En culture pure, sur milieu liquide ou gélosé, on observe très souvent plusieurs becs, jusqu'à 4 par périthèce. Ce phénomène est signalé par la plupart des auteurs mentionnés dans ce chapitre et se retrouve d'ailleurs chez d'autres espèces de *Gnomonia*.

B. Dénomination de l'espèce

1. Forme parfaite

Le champignon qui fait l'objet de notre étude pose un certain problème d'ordre taxonomique. Son développement sur au moins sept genres de Rosacées ainsi que sur *Epilobium hirsutum* L. a favorisé la création d'espèces nouvelles chaque fois qu'il était découvert sur une nouvelle plante hôte. C'est ainsi qu'il a été décrit successivement sur *Comarum palustre* L., *Agrimonia eupatoria* L. *Sanguisorba minor* Scop., *Epilobium hirsutum* L., *Potentilla anserina* L. et *Fragaria cultivar*.

Dans la littérature phytopathologique récente, notre champignon est connu sous le nom de *Gnomonia fructicola* (Arnaud) Fall. D'après les règles de la nomenclature botanique, la dénomination de Fall (1951), qui se trouve être la plus récente, doit être abandonnée au profit de *Gnomonia comari* Karst., nom donné par Karsten (1873) pour ce même champignon récolté sur *Comarum palustre* L. dans la région d'Abo en Finlande. Certaines espèces synonymes ont encore été transférées du genre *Gnomonia* aux genres *Gnomoniella* ou *Apiognomonia*. Enfin, pour ajouter à la confusion apportée par la synonymie, signalons que chacun des genres de Rosacées ci-dessus,

hôtes de *Gnomonia comari* Karst. héberge encore une ou plusieurs autres espèces de Gnomoniacées.

Gnomonia comari a été décrit par Karsten (1873). L'échantillon type devrait être le numéro 869 de la collection Fung. Fenn. Exsicc. déposé dans l'Herbier du Département de botanique de l'Université d'Helsinki. Malheureusement, selon une communication de M. H. Harmaja, conservateur de cet herbier, l'échantillon N° 869 est vide. Toutefois, nous avons examiné une autre récolte de Karsten sur *Comarum palustre* L. contenant un *Gnomonia* qui correspond exactement à la diagnose de *Gnomonia comari* Karst. Nous proposons donc de faire de l'exsicat ci-après le lectotype de *Gnomonia comari* Karsten:

Museum Botanicum Universitatis, Helsinki
Herbarium Petter Adolf Karsten
N° 724

Gnomonia devexa

Fennia. Ostrobottnia australis. In Qvarken (Kvarken; somewhere not far from the town Vaasa) ad fol. Comari palustr. 14. VIII. 1859 Leg et det P. A. Karsten

Cet échantillon est antérieur à la récolte indiquée à la suite de la diagnose. Il porte la dénomination «*Gnomonia devexa*». Toutefois, les dessins, mesures et brèves descriptions de Karsten qui accompagnent son exsicat ne correspondent pas à *Gnomonia devexa* (Desmaz.) Auersw., mais bien à la diagnose qu'il donnera 14 ans plus tard de *Gnomonia comari* Karst. L'examen de cet exsicat, en excellent état et abondant, ne laisse aucun doute quant à l'identité de cet Ascomycète récolté sur *Comarum palustre* L. Il s'agit bien de *Gnomonia comari* Karst. L'espèce *Gnomonia devexa* (Desmaz.) Auersw. est inféodée à plusieurs espèces du genre *Polygonum;* elle possède des ascospores bicellulaires, septées au milieu et munies d'appendices filiformes et ses périthèces sont du type valsoïdien, ce qui la place dans le genre *Plagiostoma* Fuck. Une confusion entre les deux espèces n'est pas possible.

Il semblerait donc que Karsten ait récolté le même champignon, une première fois en 1859, en l'identifiant à *Gnomonia devexa*, et, une seconde fois, vers 1873. Se rendant alors compte du caractère nouveau de cette espèce, il lui donne le nom de *Gnomonia comari* Karsten. Dans sa diagnose, il ne mentionne pas le caractère bicellulaire des ascospores, ce qui incite Saccardo (1882) à transférer cette espèce dans le genre *Gnomoniella*.

Starbäck (1889) récolte ce même champignon sur *Agrimonia eupatoria* L. dans l'île d'Öland en Suède et le décrit sous le nom de *Gnomoniella guttulata* Starb. D'après la diagnose et les illustrations qu'il en donne, il apparaît que cette espèce possède des ascospores bicellulaires, septées entre le milieu et les $^2/_3$ de leur longueur et qu'elle s'identifie ainsi à *Gnomonia comari* Karst. Plus tard, Kirschstein (1935) observe ce même champignon dans la région de Berlin et, en raison du caractère didymosporé des ascospores, transforme son nom en *Gnomonia guttulata* (Starb.) Kirschstein. L'examen de l'échantillon type récolté par Kirschstein sur *Agrimonia eupatoria* L. et mis à notre disposition par l'Herb. B, a confirmé l'identité de cette dernière espèce avec *Gnomonia comari* Karst.

Dans sa contribution à l'étude de la flore fongique de la Nouvelle-Ecosse, au Canada, Wehmeyer (1942) découvre, sur une espèce non identifiée d'*Agrimonia*, un

champignon semblable à l'espèce européenne et, se basant sur la division légèrement au-dessous du milieu des ascospores, transforme une fois de plus son nom en *Apiognomonia guttulata* (Starb.) Wehmeyer.

Enfin, pour compléter la liste des espèces décrites sur *Agrimonia* sp., mentionnons encore *Gnomonia agrimoniae* Bref. et v. Tavel (Brefeld et von Tavel, 1891) qui, d'après l'échantillon type déposé à l'Herb. ZT, doit être considéré comme synonyme de *Gnomonia comari* Karst.

Le champignon *Gnomonia pusilla* Sacc. et Flag., sur *Sanguisorba minor* Scop. est, selon la diagnose donnée par Saccardo (1905), identique à *Gnomonia comari* Karst.

L'examen de l'échantillon type de *Gnomonia occulta* Kirschstein, conservé à l'Herb. B, a confirmé que cette espèce trouvée par Kirschstein (1906) sur *Potentilla anserina* L. est semblable à *Gnomonia comari* Karst. La diagnose relativement sommaire qu'il en donne a été complétée par Petrak (1956) qui a récolté ce même champignon sur diverses *Potentilla* sp. en Macédoine occidentale.

Sur *Fragaria cultivar*, Klebahn (1918) décrit l'espèce *Gnomonia fragariae* Kleb. Quelques années plus tard, Arnaud et Arnaud (1931) observent près de Paris un champignon responsable d'une pourriture des fraises qu'ils identifient à l'espèce précédente. Toutefois, comme la souche française forme des pycnides et que ses ascospores sont plus petites que celles observées par le mycologue allemand, Arnaud et Arnaud en font une forme spéciale et l'intitulent: *Gnomonia fragariae* Klebahn f. sp. *fructicola* Arnaud.

Aux Etats-Unis, dans l'Etat de Michigan, Alexopoulos et Cation (1948) isolent de fraisiers malades un ascomycète dont la forme parfaite est du genre *Gnomonia* Ces. et de Not. et qui produit des pycnides s'identifiant à *Zythia fragariae* Laibach. Poursuivant leurs travaux sur ce parasite du fraisier, Alexopoulos et Cation (1952) envoient leurs isolations au Prof. G. Arnaud à Paris qui reconnaît que les souches américaines sont identiques au champignon qu'il a observé vingt ans plus tôt à Chevreuse près de Paris. Les auteurs américains maintiennent toutefois la dénomination *Gnomonia fragariae* Klebahn.

Dans les cultures de fraisiers de l'Ontario, au Canada, Fall (1951) constate la même maladie et, établissant les différences entre les champignons décrits par Klebahn (1918) et par Arnaud et Arnaud (1931), les sépare définitivement et propose la nouvelle combinaison: *Gnomonia fructicola* (Arnaud) Fall. C'est sous ce dernier nom que ce champignon, parasite du fraisier, est désigné dans la littérature phytopathologique tant américaine qu'européenne.

En Grande-Bretagne, une espèce de *Gnomonia*, récoltée dans le Derbyshire sur des tiges d'*Epilobium hirsutum* L., a été décrite par Smith (1910) sous le nom de *Gnomonia herbicola* A. L. Smith. L'examen de l'échantillon type mis aimablement à notre disposition par l'Herb. K, a montré que ce champignon est en tous points semblable à *Gnomonia comari* Karst. L'échantillon type était accompagné de 2 exsicats provenant de l'Herbier W. B. Grove, qui contenaient chacun des périthèces de *Gnomonia comari* Karst. sur des tiges d'*Epilobium hirsutum* L. Ces trois récoltes britanniques montrent que notre champignon peut fructifier sur d'autres plantes hôtes que des Rosacées. L'hypothèse émise par Wormald (1944) et par Moore (1949) concernant le rattachement de *Zythia fragariae* Laibach à *Gnomonia herbicola* A. L. Smith se trouve ainsi vérifiée.

Au tableau 5, nous mettons en comparaison les dimensions des asques et des ascospores données par les auteurs dans leurs diagnoses et celles obtenues par nos propres mesures.

Tableau 5

Comparaison entre les dimensions en μ des asques et des ascospores données par les auteurs dans leurs diagnoses (d) et celles obtenues par nos propres mesures (m)

Espèces			Asques	Ascospores
Gnomonia comari Karsten		d	30–39 × 6–7	6–9 × 2
	Lectotype	m	—	8–10 × 2–2,5
Gnomoniella comari (Karst.) Saccardo		d	30–39 × 6–7	6–9 × 2
		m	—	—
Gnomoniella guttulata Starbäck		d	34–42 × 5–6	6–10 × 1–2,5
		m	—	—
Gnomonia guttulata (Starb.) Kirschstein		d	—	—
	Type	m	22–28 × 3,5–4,8	7,3–9,6 × 1,9–2,5
Gnomonia agrimoniae Brefeld et von Tavel		d	35–40 × 5–6	8–9 × 2–3
	Type	m	—	6,4–10 × 1,6–2
Gnomonia pusilla Saccardo et Flageolet		d	22–26 × 5–7	6–8 × 2
		m	—	—
Gnomonia occulta Kirschstein		d	20–40 × 6–7	8–10 × 2
		m	19–27 × 3,8–5,1	7,7–10 × 1,9–2,5
Gnomonia herbicola A. L. Smith		d	25–40 × 5–7	8–12 × 2–2,5
	Type	m	—	8,6–9,6 × 1,9–2,5
Gnomonia fragariae Klebahn f. sp. *fructicola* Arnaud		d	33 —	11–13,5 × 2–2,5
		m	25–35 × 3,8–6,5	6,4–12,8 × 1,5–3,2
Gnomonia fructicola (Arnaud) Fall		d	33 —	10–12 × 2–3
		m	25–35 × 3,8–6,5	6,4–12,8 × 1,5–3,2

2. *Forme imparfaite*

Dans leur traité de pathologie végétale, Arnaud et Arnaud (1931) mentionnent la présence, sur les fraises et en culture pure, à côté des périthèces de *Gnomonia comari* Karst., de fructifications asexuées pour lesquelles ils créent l'espèce *Gloeosporium fragariae* Arnaud.

Dix ans après, Wormald et Montgomery (1941) signalent en Grande-Bretagne, dans le comté de Kent, une nouvelle maladie du fraisier appelée „Leaf Blotch of Strawberries". Sur les nécroses foliaires, ces deux auteurs observent des pycnides qu'ils identifient à *Phyllosticta grandimaculans* Buback et Krieger (Buback, 1912). Il apparaît peu après à Wormald (1944) que cet imparfait n'appartient pas au genre *Phyllosticta* Pers. ex Desm. mais au genre *Zythia* Fr. en raison de la couleur claire

et de la consistance molle de la paroi des pycnides. Il l'identifie à l'espèce décrite par Laibach (1908) sous le nom de *Zythia fragariae* Laibach. En Grande-Bretagne encore, Moore (1949) découvre dans une pépinière des hybrides de *Geum* dont les feuilles nécrosées portent les pycnides de ce même imparfait. En cherchant à le déterminer, il constate que *Phyllosticta gei* Bres., espèce créée par Bresadola (1900) est également synonyme de *Zythia fragariae* Laib.

3. Synonymie

Forme parfaite

Gnomonia comari Karsten – Mycologia Fennica, 2, Pyrenomycetes: 122–123 (1873)

Synonymes:

sur *Comarum palustre* L.
Gnomoniella comari (Karsten) Saccardo – Syll. Fung. 1:415 (1882)

sur *Agrimonia eupatoria* L.
Gnomoniella guttulata Starbäck – Bihang till K. Svenska Vet.-Akad. Handlingar 15, Afd. 3 (2):10 (1889)
Gnomonia agrimoniae Brefeld et von Tavel – Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie 10:232 (1891)
Gnomonia guttulata (Starbäck) Kirschstein – Ann. Mycol. 33:219 (1935)
Apiognomonia guttulata (Starbäck) Wehmeyer – Can. J. Research 20, Sér. C. (12):585 (1942)

sur *Sanguisorba minor* Scop.
Gnomonia pusilla Saccardo et Flageolet – Syll. Fung. 17:664 (1905)

sur *Potentilla anserina* L.
Gnomonia occulta Kirschstein – Verh. Bot. Ver. Brandenburg 48:58 (1906)

sur *Epilobium hirsutum* L.
Gnomonia herbicola A.L.Smith – Trans. Brit. Mycol. Soc. 3:221 (1910)

sur *Fragaria cultivar* = *Fragaria chilonensis* var. *Ananassa* Bailey
Gnomonia fragariae Klebahn f. sp. *fructicola* Arnaud – Traité de Path. vég. Encycl. mycol. 4, Paris: 1558–1562 (1931)
Gnomonia fructicola (Arnaud) Fall – Can. J. Bot. 29:299 (1951)

Forme imparfaite

Zythia fragariae Laibach – Arb. Kaiserl. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw. 6: 79 (1908)

Synonymes:

Phyllosticta gei Bresadola – Hedwigia 39:325 (1900)
Phyllosticta grandimaculans Buback et Krieger – Ann. Mycol. 10:46 (1912)
Gloeosporium fragariae Arnaud – Traité de Path. vég. Encycl. Mycol. 4 Paris: 1558–1562 (1931)

4. Matériel examiné

Ci-après, nous donnons, par plante hôte, la liste des échantillons examinés de *Gnomonia comari* Karst. Les exsicats sont désignés sous les noms que leur ont donnés les personnes qui les ont récoltés. Pour les échantillons ramassés en Suisse, nous indiquons, après le lieu, le canton, en le désignant par les abréviations suivantes: Berne (BE), Neuchâtel (NE), Tessin (TI), Thurgovie (TG), Valais (VS) et Vaud (VD). La lettre P signifie que le champignon figure sous sa forme parfaite (P = périthèce). La lettre Z signifie que la forme imparfaite est présente (Z = *Zythia*). Les souches isolées sont indiquées d'après leur numéro d'ordre dans la mycothèque de la Station fédérale de recherches agronomiques de Changins sur Nyon.

Fragaria cultivar

Tenero, TI, sur fraises pourries, Z, souche 200, 20 juin 1958 – Corbeyrier, VD, champ de multiplication de plants, PZ, 19 septembre 1961 – Wavre, NE, Cultures Rœthlisberger, PZ, 3 octobre 1961 – La Frétaz sur Bullet, VD, champ de multiplication de plants, PZ, souche 323, 5 septembre 1961 – Miex, VS, P, souche 324, 20 octobre 1961, leg. R. Corbaz – Bex, VD, Cultures Martin, sur fraises pourries, Z, 4 juin 1968.

Fragaria moschata Duchesne

Changins sur Nyon, VD, infection artificielle sur plantes en pots, Z, 12 mars 1962.

Fragaria vesca L.

Changins sur Nyon, VD, parc du Château, PZ, souche 331, 28 septembre 1961 – Morges, VD, route de Lausanne, PZ, 14 octobre 1961 – Monnaz, VD, bord de la Morges, P, 15 octobre 1961 – Martigny-Borgeaud, VS, P, 18 octobre 1961 – Morges, VD, chemin de la Chenailletaz, PZ, 22 octobre 1961.

Comarum palustre L.

Herb. H, Herb. P. A. Karsten N° 724 (Sub. *Gnomonia devexa*) Lectotype! Finlande, In Kvarken; somewhere not far from the town Vaasa, P, 14 juillet 1859, leg. P. A. Karsten – Herb. LAU, Herb. D. Cruchet, (Sub. *Gnomoniella lugubris* [Karst.] Sacc.) Marais des Ponts, NE, P, 15 juin 1921, leg. E. Mayor – Herb. LAU, Herb. D. Cruchet (Sub *Gnomoniella comari* [Karst.] Sacc.) Ste-Croix, VD, tourbière de la Chaux, P, 13 avril 1921, leg. Ch. Meylan.

Potentilla rupestris L.

Martigny-Brocard, VS, 500 m en amont du hameau, Z, 10 mars 1962.

Potentilla anserina L.

Herb. B (Sub. *Gnomonia occulta* W. Kirschstein) Type! Allemagne, Göttling b. Rathenow, Havelufer, PZ, 21 août 1905, leg. W. Kirschstein – Fercheser See b. Rathenow, P, 24 septembre 1905, leg. W. Kirschstein – Saxon, VS, Usine électrique F.M. Mauvoisin, Z, souche 338, 18 octobre 1961 – Même matériel hiverné à Changins sur Nyon, P, 8 juin 1962.

Potentilla erecta Räuschel

La Frétaz sur Bullet, VD, forêt humide, Z, souche 339, 21 septembre 1961 – Vernayaz, VS, marais au SW de la Verrerie, Z, 20 septembre 1962.

Potentilla reptans L.

Nyon, VD, chemin du Midi, Z, 2 novembre 1961.

Potentilla aurea L.

Nyon, VD, Changins, sur plantes en pots, infection artificielle, Z, 12 mars 1962.

Geum urbanum L.

Echichens, VD, Ravins de la Morges, Z, souche 335, 15 octobre 1961 – Martigny-Borgeaud, VS, Z, souche 336, 18 octobre 1961 – Nyon, VD, chemin du Groseillier, Z, 5 août 1965.

Geum rivale L.

Lausanne, VD, Chalet-à-Gobet, PZ, souches 326 et 327, 26 septembre 1961 – Lausanne, VD, Ste-Catherine, P, 10 mai 1958 – Môtiers, NE, Les Gorges, PZ, 9 octobre 1961 – Morges, VD, Marcelin, bord de la Morges, P, 15 octobre 1961.

Alchemilla conjuncta Bab. em. Becherer

La Frétaz sur Bullet, VD, Z, souche 330, 5 septembre 1961 – Corbeyrier, VD, lac Neirvaux, Z, 25 juin 1968.

Alchemilla vulgaris L.

La Frétaz sur Bullet, VD, PZ, souche 325, 5 septembre 1961 – Lausanne, VD, Chalet-à-Gobet, Z, souches 328 et 329, 26 septembre 1961 – Mézières, VD, Jorat, Z, 26 septembre 1961 – Beatenberg, BE, Oberland, Z, souche 332, 28 septembre 1961, leg. R. Corbaz – Môtiers, NE, Val-de-

Travers, PZ, 8 octobre 1961 – Boveresse, NE, Aérodrome du Val-de-Travers, Z, 8 octobre 1961 – Torgon, VS, Z, souche 337, 11 octobre 1961, leg. R. Corbaz.

Alchemilla vulgaris L. ssp. *alpestris Camus*

Herb. ZT (Sub. *Gnomonia alpina* Winter) Roggwil-Berg, TG, PZ, 23 septembre 1948, leg. W. Koch.

Alchemilla sp.

Herb. ZT, France, Val Queyras, Hautes-Alpes, P, 26 juin 1958, leg. H. Zogg.

Agrimonia eupatoria L.

Herb. ZT (Sub. *Gnomonia agrimoniae* Bref. et von Tavel) Type! Allemagne, Münster, Westfalien, P, 21 avril 1888, leg. v. Tavel – Herb. B (Sub. *Gnomonia guttulata* (Starb.) W. Kirschstein) Type, Allemagne, Wald bei Finkenkrug, Osthavelland, P, 7 avril 1915, leg. W. Kirschstein – Herb. B (Sub. *Gnomonia guttulata* (Starb.) W. Kirschstein) Allemagne, Bredener Forst bei Berlin, P, 10 avril 1917, leg. W. Kirschstein.

Agrimonia odorata L.

Herb. B (Sub. *Gnomonia guttulata* (Starb.) W. Kirschstein) Allemagne, Bredener Forst, Osthavelland bei Berlin, P, 18 juin 1916, leg. W. Kirschstein.

Sanguisorba minor Scop.

Changins sur Nyon, VD, route de Duillier, PZ, 11 octobre 1961 – Morges, VD, chemin de Peyrollaz, P, souche 333, 14 octobre 1961 – Monnaz, VD, ravins de la Morges, PZ, souche 334, 15 octobre 1961 – Nyon, VD, chemin du Midi, PZ, 2 novembre 1961.

Epilobium hirsutum L.

Herb. K (Sub. *Gnomonia herbicola* A. L. Smith) Type! Grande-Bretagne, Wirksworth, Derbyshire, P, juillet 1909, leg. Mr. Gibbs jr. – Herb. K, Herb. W. B. Grove, (Sub. *Cryptoderis riparia* Niessl.) Grande-Bretagne, World's End Farm, Hartorne, P, 7 novembre 1885, leg. W. B. Grove – Herb. K, Herb. W. G. Grove N° 3692 (Sub. *Cryptoderis riparia* Niessl.) Grande-Bretagne, Pipe (Popes) Hayes, P, 31 juillet 1890, leg. W. G. Grove.

C. Cultures pures

1. Isolations

Gnomonia comari Karst. se développe facilement en cultures pures, sur gel d'agar, en boîtes de Pétri et en tubes penchés, ou en milieux liquides, en erlenmeyers. Les hyphes sont hyalins, très ramifiés et sinueux à la surface de l'agar. Le mycélium aérien qui se développe en tubes penchés, par forte humidité, est blanchâtre. En milieu liquide, il se mélanise parfois au contact de certaines sources azotées (voir p. 457).

Les fructifications apparaissent entre une semaine et dix jours après l'ensemencement du substrat gélosé. Des amas jaunâtres trahissent la présence des fructifications asexuées. Les périthèces sont visibles dès le 10e jour et parviennent à maturité en moins d'un mois. La faculté d'émettre des périthèces in vitro tend à disparaître avec le temps chez certaines souches. En milieu liquide, les conidies sont généralement abondantes, mais les périthèces sont plus rares (voir 2e partie).

On peut isoler le champignon, soit à partir de conidies ou d'ascospores, soit à partir du mycélium développé dans les organes malades: pétioles, tiges et fraises pourries.

Au tableau 6, nous donnons la liste des cultures de *Gnomonia comari* Karst. isolées de diverses Rosacées et conservées à la mycothèque de la Station fédérale de recherches agronomiques à Changins sur Nyon.

Tableau 6

Liste des isolations de *Gnomonia comari* Karst.

Souche N°	Plante hôte	Localité	Date	Mode d'isolation	Fructifications en culture*
200	*Fragaria cultivar*	Tenero, TI	8. 7.58	fraise	ZP
323	*Fragaria cultivar*	La Frétaz, VD	5. 9.61	pétiole	ZP
324	*Fragaria cultivar*	Miex, VS	5. 9.61	ascospores	ZP
325	*Alchemilla vulgaris* L.	La Frétaz, VD	5. 9.61	hampe florale	ZP
326	*Geum rivale* L.	Jorat, VD	27. 9.61	conidies	ZP
327	*Geum rivale* L.	Jorat, VD	27. 9.61	ascospores	ZP
328	*Alchemilla vulgaris* L.	Jorat, VD	27. 9.61	conidies	ZP
329	*Alchemilla vulgaris* L.	Jorat, VD	27. 9.61	ascospores	ZP
330	*Alchemilla conjuncta* Bab.	La Frétaz, VD	27. 9.61	conidies	ZP
331	*Fragaria vesca* L.	Nyon, VD	29. 9.61	ascospores	ZP
332	*Alchemilla vulgaris* L.	Beatenberg, BE	29. 9.61	conidies	ZP
333	*Sanguisorba minor* Scop.	Morges, VD	21.10.61	ascospores	ZP
334	*Sanguisorba minor* Scop.	Monnaz, VD	21.10.61	ascospores	ZP
335	*Geum urbanum* L.	Echichens, VD	21.10.61	conidies	ZP
336	*Geum urbanum* L.	Martigny, VS	21.10.61	conidies	ZP
337	*Alchemilla vulgaris* L.	Torgon, VS	21.10.61	conidies	ZP
338	*Potentilla anserina* L.	Saxon, VS	21.10.61	conidies	Z
339	*Potentilla erecta* Räuschel	La Frétaz, VD	21.10.61	conidies	Z

* Fructifications: Z = conidies; P = périthèces
Milieu: Agar à l'extrait de malt Wander 2 %

2. *Cultures monospores*

Une dizaine de souches monospores ont été isolées à partir de conidies provenant de la culture N° 331. Une étude cytologique préalable, par une coloration selon Giemsa, nous avait montré que les conidies de ce champignon ne possèdent qu'un seul noyau.

Les 10 cultures monospores se sont comportées de la même manière que les isolations ci-dessus. Elles ont toutes formé des périthèces fertiles. *Gnomonia comari* Karst. peut donc être considéré comme une espèce homothallique.

Chapitre IV

Aspect phytopathologique de Gnomonia comari Karsten

A. Symptômes sur la plante hôte

Gnomonia comari Karst. est l'agent responsable d'une maladie désignée en anglais sous les noms de „Strawberry leaf blotch" (Wormald, 1944, 1955) ou de „Leaf blotch

of *Geum*" (Moore, 1949), selon qu'elle apparaît sur le fraisier ou les benoîtes. En France et en Suisse, ce champignon est l'une des causes de la maladie des taches foliaires du fraisier (Viennot-Bourgin, 1967) ou du rougissement et dessèchement du fraisier (Bolay, 1967).

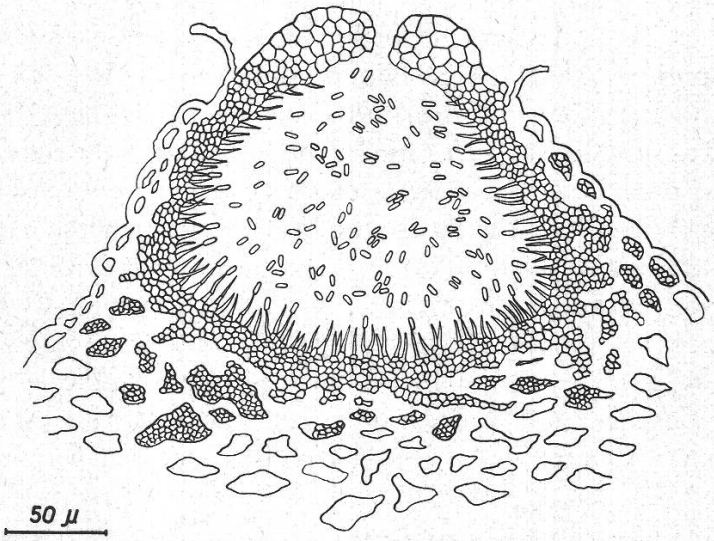


Figure 2

Coupe à travers une pycnide de *Gnomonia comari* Karst. dans un pétiole de fraisier

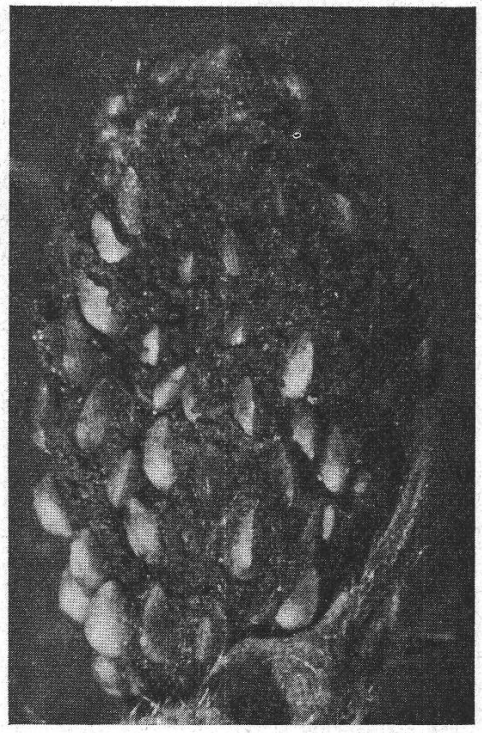


Figure 3

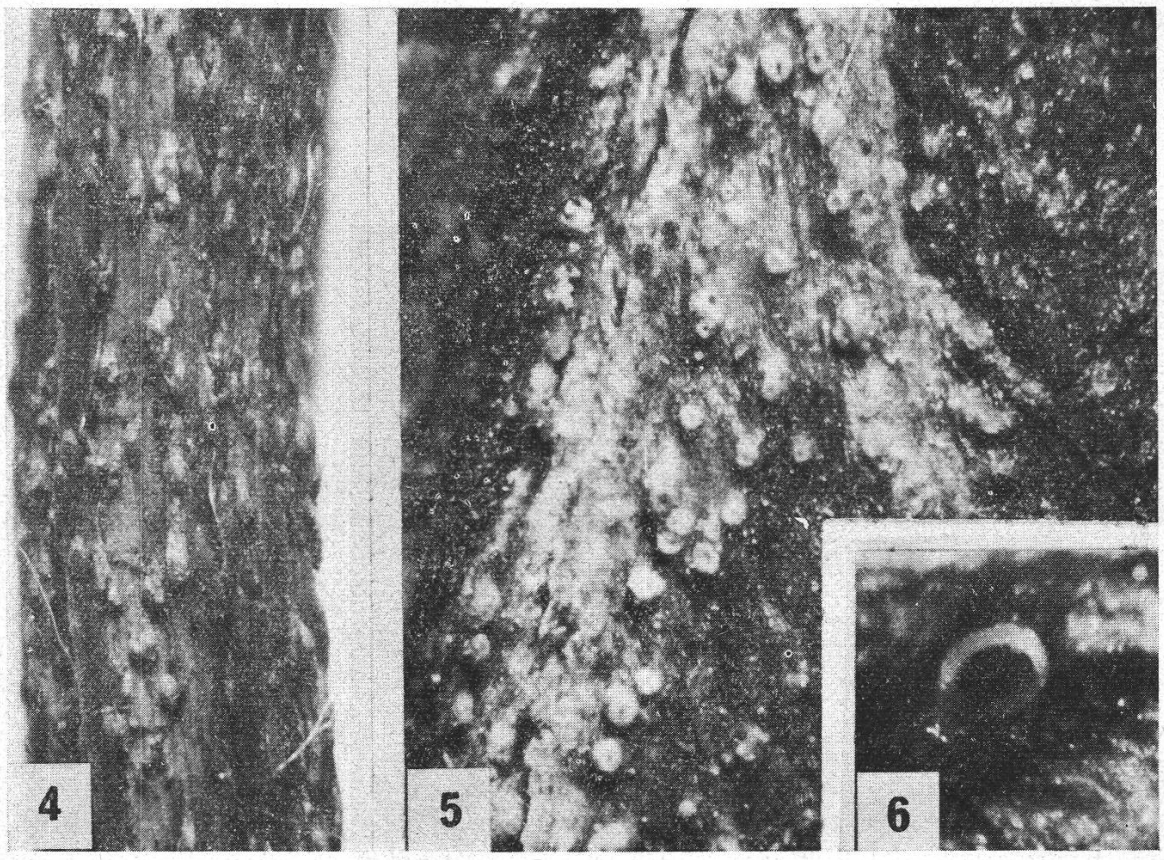
Fraise momifiée par suite d'une attaque de *Gnomonia comari* Karst.

1. Symptômes sur les fraisiers cultivés

Les premiers symptômes apparaissent au moment de la cueillette. Certaines fraises, encore verdâtres, portent une tache brun chocolat qui prend naissance au voisinage du calice et qui envahit peu à peu le fruit (fig. 3). Les fraises pourries gardent une consistance ferme, coriace, comme c'est le cas lors d'attaques de *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schröt., mais elles sont de couleur plus foncée. Une partie des sépales ou tout le calice se dessèche et brunit. Les organes malades se couvrent des pycnides du champignon. Celles-ci ont l'apparence de petits mamelons brun clair sur le réceptacle; elles forment des taches brun roux à la base des sépales et sur le pétiole.

Selon les observations de Shipton (1967), l'infection débute par une nécrose à la pointe des sépales, puis s'étend au calice et au fruit. Parfois l'attaque se limite au calice et au pétiole (Seemüller, 1969), provoquant un dessèchement et non une pourriture des fraises. Arnaud et Arnaud (1931), Alexopoulos et Cation (1948) ont observé des périthèces sur le réceptacle des fraises.

C'est surtout après la récolte que la maladie présente ses symptômes les plus typiques. Sur les feuilles les plus vieilles, le champignon attaque la base des pétioles sur lesquels il provoque des taches brun noir, nettement déprimées, allongées dans le sens de la hauteur. Avec le temps, la zone nécrosée s'étend en largeur et en longueur



Figures 4, 5 et 6

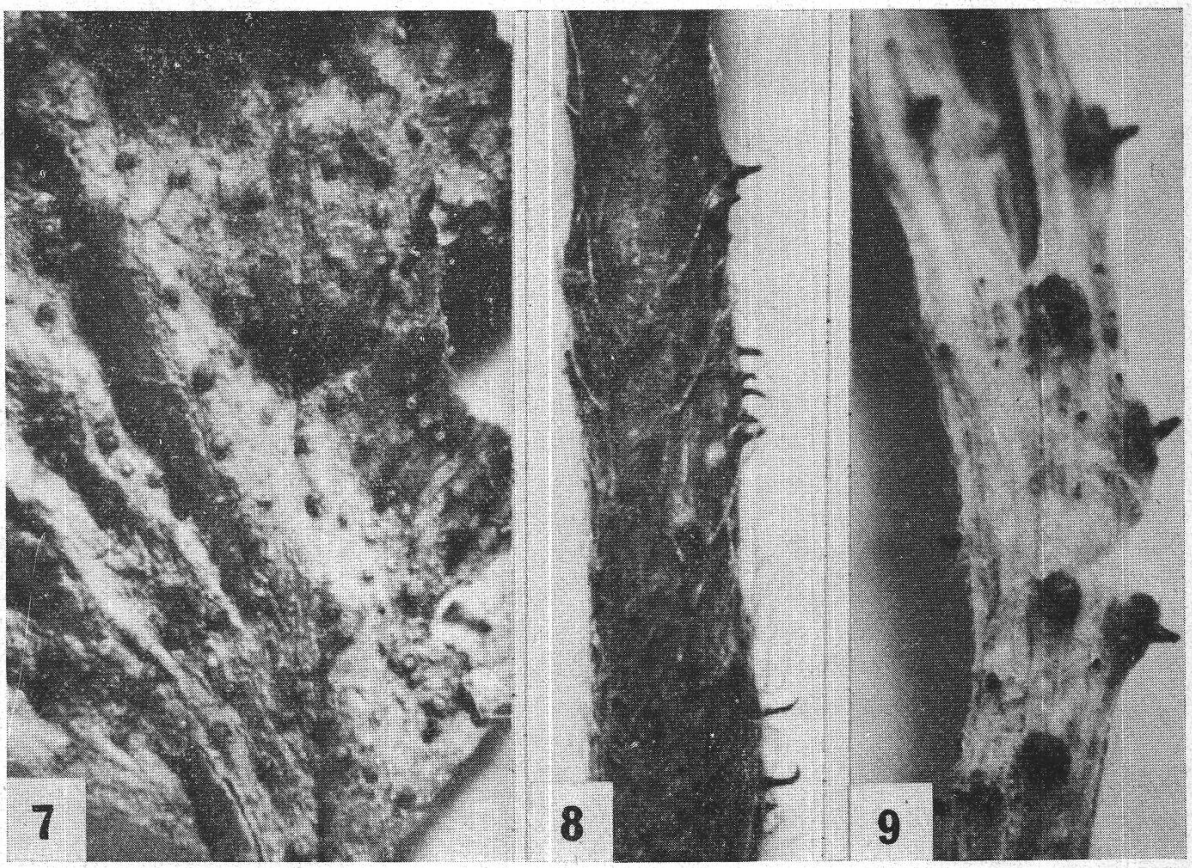
Pycnides de *Gnomonia comari* Karst.
4 sur pétiole de fraisier
5 à la face supérieure d'une foliole de fraisier
6 pycnide émettant un cirrhe constitué de conidies agglomérées

pour envahir finalement tout le pétiole. Les feuilles portées par un pétiole malade prennent une coloration rougeâtre, puis les folioles jaunissent ou brunissent et sèchent complètement. Les mêmes nécroses peuvent apparaître à la base des hampes florales. Le mycélium du champignon est visible dans les tissus corticaux et vasculaires des pétioles malades (Bolton, 1954). On peut facilement isoler le champignon en plaçant de petites sections de pétioles atteints de nécroses sur un milieu gélosé à l'extrait de malt.

Les pycnides se forment en grand nombre sur les pétioles, de préférence à proximité du point d'attache des folioles, le long des nervures et dans le limbe des feuilles, à la face supérieure principalement, ainsi qu'aux extrémités des hampes florales (fig. 4, 5, 6, 7). A partir de la fin août, les premiers périthèces apparaissent aux mêmes emplacements que les pycnides (fig. 8 et 9).

2. *Symptômes sur Geum sp.*

Dans une pépinière d'hybrides de benoîtes, Moore (1944) signale une maladie appelée „Leaf blotch of *Geum*". En fin d'été, cet auteur observe des taches brun olive sur les feuilles, visibles sur les deux faces du limbe. Elles sont de forme irrégulière, dispersées ou s'étirant en forme de V, du centre vers les bords du limbe. Occasion-



Figures 7, 8 et 9

7 pycnides sur une foliole de *Potentilla rupestris* L.
8 becs de périthèces émergeant d'un pétiole de fraisier
9 périthèces sur un pétiole de *Potentilla anserina* L.

nellement, la nécrose envahit toute la feuille. Les pycnides apparaissent au centre de la tache, sur les nervures ou dans le limbe, généralement à la face supérieure. Les symptômes observés à Nyon, sur *Geum urbanum* L. correspondent à cette description.

B. Etude du parasitisme

1. Mode d'infection sur le fraisier

Le mode d'infection de *Gnomonia comari* Karst. sur le fraisier a fait l'objet d'une importante étude de Bolton (1954). Les spores émettent, à la surface inférieure de la feuille, un tube germinatif qui se dirige vers l'ouverture d'un stomate. Après s'être introduit dans la chambre sous-stomatique, l'hyphe se ramifie et de courts embranchements pénètrent dans les cellules environnantes. Les cellules envahies se décolorent, meurent et, peu de temps après, il se forme une petite nécrose brunâtre autour de chaque stomate infecté. Le champignon peut aussi pénétrer dans les tissus par des blessures.

En pratiquant une série de coupes microscopiques dans les tissus malades, ce chercheur canadien est parvenu à suivre l'évolution du mycélium dans l'hôte. Les hyphes cheminent au travers des parenchymes jusqu'à ce qu'ils parviennent aux tissus vasculaires où ils pénètrent dans les vaisseaux. En suivant ces derniers, le champignon se répand dans le limbe et remonte jusque dans le pétiole. Les parenchymes voisins des tissus vasculaires infectés sont envahis à leur tour, brunissent et meurent. Lorsque le mycélium devient abondant dans les tissus conducteurs de sève, et que la plupart des cellules des parenchymes sont détruites, les pycnides commencent à se former.

Les observations de Bolton (1954) ont été réalisées sur des fraisiers maintenus artificiellement dans une atmosphère saturée d'humidité, d'où la rapidité de la progression de la maladie. Dans la nature, le phénomène est beaucoup plus lent. L'infection semble stationnaire, soit au niveau des stomates, soit à celui des tissus vasculaires, aussi longtemps que la plante est en pleine vigueur. Sitôt que sa vitalité fléchit, l'infection reprend son avance et les symptômes apparaissent. En effet, dans les fraisières, ce n'est qu'après la récolte que la maladie est visible sur le feuillage, lorsque les plantes sont épuisées par la production des fraises et qu'elles mobilisent encore leurs dernières ressources pour la formation des stolons. Les nécroses apparaissent d'abord sur les vieilles feuilles ou sur celles qui sont blessées.

La progression du champignon est conditionnée par la vitalité de l'hôte. *Gnomonia comari* Karst. se comporte donc, selon Gäumann (1951), comme un parasite de faiblesse.

Klebahn (1918) constate à maintes reprises, lors d'essais d'infections avec d'autres Gnomoniacées, que les feuilles inoculées des plantes hôtes ne réagissent pas, aussi longtemps qu'elles sont en activité. Par contre, dès qu'elles sont cueillies ou blessées, ou en fin de saison, ces mêmes feuilles se nécrosent et se couvrent des fructifications du champignon inoculé.

C. Essais d'inoculations

1. Inoculations de plantes en pots

Un essai d'infection artificielle est organisé en serre durant l'hiver 1961/62 à Changins sur Nyon. On utilise des plantes en pots de fraisiers cultivés des variétés Mme

Moutot et Triomphe de Tihange ainsi que des plantes de *Fragaria vesca* L., *Fragaria moschata* Duchesne, *Potentilla aurea* L. et *Epilobium hirsutum* L. Ces végétaux sont inoculés avec une dizaine de souches de *Gnomonia comari* Karst., isolées de diverses Rosacées, selon deux méthodes:

Méthode a: On dépose sur le limbe des feuilles, le long des tiges et des pétioles, des fragments de tiges de fraisiers portant des pycnides et des périthèces du champignon. Le matériel d'infection provient de tiges de fraisiers cultivés, stérilisées dans des tubes bactériologiques et inoculées avec les souches désirées. Après l'inoculation, les plantes sont arrosées deux fois par jour pendant une semaine pour favoriser les infections.

Méthode b: On pulvérise sur les plantes une suspension dense de conidies obtenue à partir de cultures sur agar malté en tubes penchés. Sitôt après l'inoculation, les plantes sont recouvertes d'une housse en matière plastique et maintenues ainsi sous une forte humidité pendant une semaine.

Les plantes inoculées le 12 janvier sont gardées en serre pendant 2 mois à une température oscillant entre 12 °C la nuit et 22 °C le jour avec des pointes à 25–28 °C en cas de brusque coup de soleil. L'essai comprend, par souche inoculée, et par mode d'inoculation, 5 pots de chacune des variétés de fraisiers et de *Fragaria vesca* L., 10 pots d'*Epilobium hirsutum* L. et 3 pots pour les autres plantes.

Le 13 mars, on procède à un premier contrôle. La plupart des vieilles feuilles de fraisiers cultivés portent de petites taches brunâtres à la surface du limbe. Sur quelques feuilles sèches, les pycnides de *Gnomonia comari* Karst. sont visibles. Le 19 avril, toutes les plantes portent une ou plusieurs feuilles sèches. Les pycnides sont fréquentes sur les parties des feuilles en contact avec la terre du pot. Pour favoriser encore la formation des fructifications, les feuilles nécrosées ou sèches et sans pycnide de chaque plante sont cueillies et déposées sur la terre du pot. Deux semaines plus tard, la présence des pycnides sur la majorité des feuilles cueillies permet de confirmer et de compléter les observations du 19 avril. L'infection est considérée comme positive

Tableau 7

Résultats de l'essai d'inoculation de plantes en pots avec diverses souches de *Gnomonia comari* Karst.

Inoculum		Plantes inoculées								
		Fraisiers cultivés								
Souche N°	Souches isolées de	Tihange		Madame Moutot		*Fragaria vesca*		*Fragaria moschata*	*Potentilla aurea*	*Epilobium hirsutum*
		a	b	a	b	a	b	b	b	b
324	*Fragaria cultivar*	z	z	z	zP	z	z	z	z	0
331	*Fragaria vesca* L.	z	z	z	z	z	z	–	z	–
338	*Potentilla anserina* L.	z	z	0	z	z	z	–	–	–
339	*Potentilla erecta* Räuschel	z	z	z	z	z	0	z	–	–
327	*Geum rivale* L.	z	z	–	z	0	0	–	–	–
335	*Geum urbanum* L.	z	z	z	z	z	z	–	–	–
330	*Alchemilla conjuncta* Bab.	z	z	z	0	0	z	–	–	–
325	*Alchemilla vulgaris* L.	z	z	–	z	z	0	–	z	–
332	*Alchemilla vulgaris* L.	–	–	–	–	z	–	–	–	–
333	*Sanguisorba minor* Scop.	0	0	0	0	z	–	–	–	–
—	Témoin	–	0	–	0	–	0	–	–	–

a: inoculation par fragments de fraisiers porteurs des fructifications du champignon
b: inoculation par une suspension de conidies
0: pas de fructification; –: non inoculé; z: pycnides; P: périthèces

lorsque les fructifications du champignon sont présentes sur le pétiole ou les folioles des feuilles restant sur les plantes ou déposées sur la terre du pot. Les résultats de cet essai sont résumés au tableau 7.

Dans cet essai, *Gnomonia comari* Karst. a fructifié sur toutes les Rosacées inoculées. Sur les 10 souches étudiées, seule celle isolée de *Sanguisorba minor* Scop. a fait preuve d'un faible pouvoir infectieux. Les résultats des inoculations sur plantes vivantes d'*Epilobium hirsutum* L. sont négatifs; aucune des souches comparées n'a fructifié, ni sur les jeunes plantules issues de semis, ni sur les vieilles plantes hivernées en serre.

Plusieurs chercheurs ont procédé à des infections artificielles de fraisiers avec des souches de *Gnomonia comari* Karst. en enregistrant généralement des résultats positifs. Wormald (1944) parvient à infecter une plante et des feuilles de fraisiers gardées à l'humidité en les inoculant avec une suspension de conidies. Il réussit aussi à transmettre de cette manière la maladie sur *Potentilla reptans* L. Fall (1951) est moins heureux et ses infections artificielles de fraisiers, selon la même méthode que précédemment, restent sans effet notable.

Bolton (1954) inocule, avec une suspension dense de conidies, des fraisiers en pots des variétés British Souvereign, Premier, Louise, Sparkle, Temple, Valentine et des plantes de *Fragaria vesca* L. Lors du contrôle, dix semaines plus tard, 2 des 6 plantes de la variété Louise sont mortes et plus du 60 % du feuillage des 4 autres pots de cette variété est sec. Sur les autres variétés et sur *Fragaria vesca* L., la mortalité des feuilles est en moyenne de 47 %.

En Colombie britannique, van Andrichem et Bosher (1958) pulvérisent une suspension de conidies sur le feuillage de fraisiers. Après 4 semaines d'incubation, d'innombrables taches apparaissent sur les folioles et à la base des pétioles. Trois mois plus tard, ces organes portent les pycnides typiques du champignon. Ces mêmes chercheurs inoculent des fleurs en les trempant dans une suspension de conidies. Des nécroses apparaissent 7 à 10 jours plus tard sur les pédicelles, à proximité du calice. Ensuite, le champignon envahit le calice et le jeune fruit. Les inoculations de racines, par contre, restent sans effet.

2. *Inoculations de végétaux stérilisés*

Un certain nombre d'isolats de *Gnomonia comari* Karst. ainsi que d'autres espèces de Gnomoniacées ne forment pas de périthèces en culture sur gélose au malt. Pour tenter d'induire la production des périthèces, nous avons inoculé ces souches à des végétaux stérilisés en tubes de verre. Cette méthode nous permet également de vérifier la spécifité du champignon en fonction de la plante hôte et d'observer l'apparition éventuelle de formes conidiennes chez certaines espèces décrites plus loin.

Méthode: Dans des éprouvettes bactériologiques, on place des fragments de tiges et de feuilles (limbe et pétiole) des plantes qu'on veut tester. On ajoute 1,5 cm^3 d'eau distillée et, après fermeture avec un tampon d'ouate, on stérilise le tout à 120 °C pendant 20 minutes. Les tubes stérilisés sont inoculés avec un fragment d'une culture pure sur agar de la souche désirée. Deux mois après l'inoculation, on contrôle la présence des fructifications du champignon. Chaque essai est répété de 3 à 5 fois.

Au cours d'une dizaine de ces essais, nous avons ainsi inoculé à quelque 20 Rosacées et sur *Epilobium hirsutum* L., 18 souches de *Gnomonia comari* Karst., 6 souches

de *Gnomonia fragariae* Kleb. ainsi que quelques souches de *Gnomonia gei* Pat. et Doass. et *Gnomonia sanguisorbae* (Rehm) E. Müller. Les résultats de cette expérimentation sont résumés au tableau 8.

Tableau 8

Récapitulation des essais d'inoculation de divers végétaux stérilisés en tubes avec diverses souches de *Gnomonia comari* Karst., *Gnomonia fragariae* Kleb., *Gnomonia gei* Pat. et Doass. et *Gnomonia sanguisorbae* (Rehm) E. Müller

Plantes en tubes	Champignons inoculés			
	Gnomonia			
	comari	*fragariae*	*gei*	*sanguisorbae*
Aruncus silvester Kost.	z P	O	–	P
Rubus idaeus L.	z P	–	–	–
Rubus caesius L.	z	–	–	–
Rubus cultivar	z P	–	–	–
Fragaria cultivar	z P	P	O	–
Fragaria moschata Duchesne	z	–	–	–
Fragaria vesca L.	z P	P	–	–
Potentilla rupestris L.	z P	P	P	–
Potentilla sterilis Garcke	z P	–	P	–
Potentilla anserina L.	z P	P	P	–
Potentilla erecta Räuschel	z P	–	P	–
Potentilla reptans L.	z P	P	P	–
Potentilla argentea L.	z	P	P	–
Geum urbanum L.	z P	O	–	–
Geum rivale L.	z P	P	–	–
Filipendula ulmaria Maxim.	O	P	P	P
Alchemilla conjuncta Bab.	z P	P	–	–
Alchemilla vulgaris L.	z P	P	–	–
Agrimonia eupatoria L.	z P	–	O	P
Sanguisorba officinalis L.	z P	P	–	P
Sanguisorba minor Scop.	z P	O	–	P
Rosa sp.	z	–	–	–
Prunus avium L.	z P	–	–	–
Epilobium hirsutum L.	z P	–	–	–

O: pas de fructification, –: non inoculé; z: pycnides; P: périthèces

Il ressort du tableau 8 que *Gnomonia comari* Karst. est capable de se développer en saprophyte et de fructifier sur presque tous les substrats expérimentés. L'échec constaté sur *Filipendula Ulmaria* Maxim. provient probablement davantage de la nature très ligneuse des tiges et des pétioles utilisés que d'un réel antagonisme entre l'hôte et le champignon.

Sur des organes morts d'*Epilobium hirsutum* L., *Gnomonia comari* Karst. fructifie abondamment alors qu'à l'essai précédent, les inoculations sur cette plante vivante restent stériles.

D. Importance économique de la maladie

1. Dégâts aux fraisières

Sur le plan économique, le dommage causé aux fraisières par le champignon *Gnomonia comari* Karst. se traduit par une diminution de récolte causée par la pourriture des fraises ou leur dessèchement à la suite d'attaques sur les pédicelles et les calices. Le dessèchement du feuillage n'apparaît qu'après la récolte, sur les organes les plus âgés et ne semble guère avoir d'influence néfaste sur la formation des réserves pour l'année suivante. Des pertes ont toutefois été enregistrées en Grande-Bretagne, dans les champs de multiplication (Shipton, 1967).

Dans la pratique, les dégâts causés aux fraises par *Gnomonia comari* Karst. sont très souvent confondus avec ceux provoqués par la pourriture grise (*Botrytis cinerea* Pers.) ou sont masqués par elle.

Aux USA, dans l'Etat de Michigan, Alexopoulos et Cation (1948) contrôlent 1215 fraises d'une parcelle de la variété Robinson, récoltées les 4 et 7 juillet 1947. La proportion des fraises attaquées par *Gnomonia comari* Karst. est de 50,9 %. Les fraises saines ne représentent que le 33,7 % de la récolte alors que seulement 5,9 % d'entre elles sont atteintes de la pourriture grise.

Shipton (1967) rapporte que dans le Hampshire, en Grande-Bretagne, plus de 70 % des fraises portent les symptômes de la maladie. Il s'agit d'une deuxième récolte cueillie en novembre 1966 sur 720 plantes de la variété Redgauntlet.

En 1968, la maladie a causé d'importantes pertes de récolte en Allemagne, dans la région de Heilbronn, Rastatt (Bade-Würtemberg). Seemüller (1969) signale dans une fraisière de la variété Marieva, que 9,6 % des inflorescences et des jeunes fruits sont détruits par *Gnomonia comari* Karst. Dans une autre culture, sur la variété Redgauntlet, 70–80 % des fruits pourris sont atteints par ce champignon.

En Suisse romande, dans la région du Bassin lémanique et en Valais, les attaques sur fraises sont rares sur la variété Mme Moutot, faibles sur la variété Senga Sengana. Nous avons organisé en 1968 un essai de lutte contre la pourriture grise des fraises à Bex, dans une plantation de Senga Sengana. En raison des faibles précipitations atmosphériques à l'approche et pendant la récolte, la pourriture grise ne s'est pratiquement pas manifestée, ce qui nous a permis de mieux contrôler l'importance des attaques de *Gnomonia comari* Karst.

Dans l'essai de Bex, 3 traitements fongicides sont appliqués en mai, au début, au milieu et à la fin de la floraison, avec les préparations suivantes, à raison de 1200 l de bouillie par ha:

A. Dichlofluanide (50 % matière active) à 0,25 %
B. Captafol (80 % matière active) à 0,3 %
C. Folpet (50 % matière active) + sulfate basique de Cu (45 % Cu métal) à 0,3 %
T. Témoin, sans traitements spécifiques contre la pourriture

Les résultats des contrôles des cueillettes des 4 et 11 juin sont rapportés au tableau 9.

Dans cet essai qui comporte 6 répétitions, l'analyse statistique des résultats des contrôles de l'attaque de *Gnomonia comari* Karst. montre qu'au seuil de P = 0,05, la différence n'est significative qu'entre le produit A, d'une part, et les produits B, C et le témoin, d'autre part.

Tableau 9

Bex: essai de lutte contre la pourriture des fraises. Résultats des contrôles des 4 et 11 juin 1968

	A Dichlofluanide	B Captafol	C Folpet+Cu	T Témoin
Nombre de fraises contrôlées	7090	8540	7500	7310
% de fraises avec *Botrytis cinerea* Pers.	0,2	0,6	0,5	1,3
% de fraises avec *Gnomonia comari* Karst.	0,8	1,8	1,9	2 7

L'essai de Bex donne une certaine idée de l'importance de *Gnomonia comari* Karst. dans les fraisières de Suisse romande. Entre 1960 et 1968, nous avons organisé chaque année un ou plusieurs essais de lutte contre la pourriture grise des fraises. L'essai que nous relatons ici est les seul où le développement de *Gnomonia comari* Karst. était suffisant pour permettre un dénombrement. C'était aussi la seule fois où la pourriture grise y était aussi faible; d'ordinaire, cette maladie détruit de 30 à 60 % de la récolte.

Aucun des chercheurs mentionnés dans ce chapitre ne fait état de recherches sur la lutte contre *Gnomonia comari* Karst. dans les fraisières. Seul Shipton (1967) signale que les traitements effectués dans le Hampshire avec des préparations à base de Dichlofluanide contre *Botrytis cinerea* Pers. n'ont que peu d'efficacité contre *Gnomonia comari* Karst. C'est d'ailleurs ce que nous constatons dans l'essai de Bex. En dépit d'une attaque faible des deux pourritures, les traitements à base de Dichlofluanide font preuve d'une efficacité de 84 % contre *Botrytis cinerea* Pers. et de 70 % seulement contre *Gnomonia comari* Karst.

2. *Sensibilité des variétés de fraisiers cultivés*

Il existe peu d'indications sur la sensibilité des diverses variétés de fraisiers cultivés aux attaques de *Gnomonia comari* Karst. Des infections graves sont mentionnées sur les variétés Robinson (Alexopoulos et Cation, 1948), British Sovereign, Northwest et Agassiz (van Adrichem et Bosher, 1958), Regauntlet et Mariva (Seemüller, 1969). Shipton (1967) donne pour les principales variétés cultivées dans le Hampshire l'échelle de sensibilité suivante:

Variété très sensible: Redgauntlet
Variétés sensibles: Cambridge Favorite et Regina
Variété peu sensible: Cambridge Prizewinner

Lors d'essais d'infections artificielles sur les variétés British Sovereign, Premier, Louise, Sparkle, Temple et Valentine, Bolton (1954) constate que la variété Louise est beaucoup plus sensible que les cinq autres.

En ce qui concerne les attaques sur le feuillage, nous avons relevé, en septembre 1961, les différences suivantes dans un champ de multiplication de plants de fraisiers à La Frétaz sur Bullet (Jura vaudois):

Forte attaque: Surprise des Halles
(plus de la moitié des folioles nécrosée) Wädenswil 6

Faible attaque:	Mme Moutot
(moins d'un quart des folioles nécrosé)	Souvenir de Ch. Machiroux
Très faible attaque:	Triomphe de Tihange
(moins d'un dixième des folioles nécrosé)	Wädenswil 4
	Wädenswil 5

E. Distribution géographique de la maladie

Gnomonia comari Karst. est une espèce largement répandue en Europe et en Amérique du Nord, de l'Atlantique au Pacifique. Son aire de distribution est circumpolaire, tout comme un certain nombre de ses plantes hôtes: *Comarum palustre* L., *Potentilla anserina* L., *Geum rivale* L.

Nous avons résumé au tableau 10 sa distribution géographique en fonction des indications bibliographiques et des plantes hôtes.

Tableau 10

Distribution géographique de *Gnomonia comari* Karst.

Pays	Plantes hôtes	Auteurs
Europe		
Finlande	*Comarum palustre* L.	Karsten, 1873
Suède	*Agrimonia eupatoria* L.	Starbäck, 1889
Danemark	*Fragaria cultivar*	Buback, 1912
Pologne	*Fragaria cultivar*	Truszkowska 1963
Allemagne	*Agrimonia eupatoria* L	Brefeld et von Tavel, 1891 Kirschstein, 1935
	Fragaria cultivar	Buback, 1912; Laibach, 1908 Seemüller, 1969
	Potentilla anserina L.	Kirschstein, 1906
	Geum urbanum L.	Bresadola, 1900
Pays-Bas	*Fragaria cultivar*	Kerling 1964
	Geum cultivar	Anonyme, 1963
Angleterre	*Epilobium hirsutum* L.	Smith, 1910
	Fragaria cultivar	Wormald et Montgomery, 1941 Wormald, 1944; Shipton, 1967
	Geum cultivar	Moore 1949
	Potentilla reptans L.	Wormald, 1944
France	*Fragaria cultivar*	Arnaud et Arnaud, 1931 Viennot-Bourgin, 1967
	Sanguisorba minor Scop.	Saccardo, 1905
Suisse	*Fragaria, Geum, Alchemilla* *Sanguisorba, Potentilla* sp.	Bolay, 1967
Grèce	*Potentilla* sp.	Petrak, 1956

Amérique du Nord			
Canada:	Ontario, Québec	*Fragaria cultivar*	Fall, 1951; Bolton, 1954
		Fragaria vesca L.	Bolton, 1954
		Agrimonia sp.	Wehmeyer, 1942
	Vancouver, Colombie britannique	*Fragaria cultivar*	van Adrichem et Bosher, 1958
USA:	Maine, Michigan	*Fragaria cultivar*	Folsom, 1954
		Fragaria cultivar	Alexopoulos et Cation, 1948
			Sung Huang, 1949
	Californie	*Fragaria cultivar*	McOnie et Snyder 1966

Chapitre V

Autres Gnomoniacées inféodées aux Rosacées herbacées

A. Introduction et clef de détermination

Nous avons vu, au chapitre II, lettre B, que l'identification de *Gnomonia comari* Karst. s'est heurtée non seulement au fait que ce champignon se développe sur quelque 8 genres de phanérogames, mais encore, que sur chacun d'entre eux, on trouve une ou plusieurs autres espèces de Gnomoniacées. Dans ce chapitre V, nous désirons établir les distinctions entre *Gnomonia comari* Karst. et les autres Gnomoniacées décrites jusqu'à ce jour sur les Rosacées herbacées. Il s'agit soit d'espèces inféodées aux mêmes plantes hôtes que *Gnomonia comari* Karst., soit d'espèces morphologiquement proches de ce champignon, mais croissant sur d'autres Rosacées. Nous avons tenu compte aussi bien des espèces européennes que nord-américaines.

Clef de détermination des Gnomoniacées inféodées aux Rosacées herbacées

1	Périthèces droits: bec inséré au sommet	2
1*	Périthèces couchés: bec inséré latéralement	10
2	Ascospores septées entre le milieu et les ⅔ de leur longueur	3
2*	Ascospores septées au milieu	7
3	Asques contenant 4, 6 ou 16 ascospores	4
3*	Asques contenant 8 ascospores	5
4	Asques avec 6 (rarement 4 ou 8) ascospores fusiformes, munies de courts appendices triangulaires: 7—16 × 2—2,5 μ	*Gnomonia sanguisorbae*
4*	Asques avec 16 ascospores oblongues ellipsoïdales, sans appendices: 8—13 × 2—3 μ	*Gnomonia alpina*
5	Ascospores dépourvues d'appendices, oblongues ellipsoïdales: 6,5—13 × 1,5—2,5 μ	*Gnomonia comari*
5*	Ascospores avec appendices terminaux filiformes	6
6	Ascospores oblongues ellipsoïdales: 5—8,5 × 1—2 μ. Bec du périthèce entouré, à sa sortie de l'hôte, d'une couronne blanchâtre	*Gnomonia waldsteiniae*
6*	Ascospores cylindro-fusiformes: 7,5—15 × 1,5—3,2 μ	*Gnomonia gei-montani*
7	Ascospores filiformes à cylindro-fusiformes, appendices filiformes	8
7*	Ascospores ellipsoïdales	9

8 Périthèces à bec filiforme, de 40—25 μ de section, ascospores filiformes: 13—18 × 0,9—1,2 μ — *Gnomonia gei*

8* Périthèces à bec robuste, de 70—35 μ de section, ascospores cylindro-fusiformes: 12—20 × 1—2 μ — *Gnomonia rosae*

9 Ascospores ellipsoïdales, munies d'appendices filiformes: 13—22 × 2,5—4,5 μ — *Gnomonia fragariae*

9* Ascospores ellipsoïdales, sans appendices, brunes au sortir du bec: 11—17 × 3—5 μ — *Gnomonia sibbaldiae*

10 Ascospores septées entre le milieu et les ⅔ de leur longueur et munies d'appendices filiformes, ellipsoïdales: 6—10 × 1,5—2,5 μ — *Plagiostoma tormentillae*

10* Ascospores septées au milieu, sans appendices apicaux, oblongues fusiformes: 18—22 × 4,5—6 μ — *Plagiostoma lugubris*

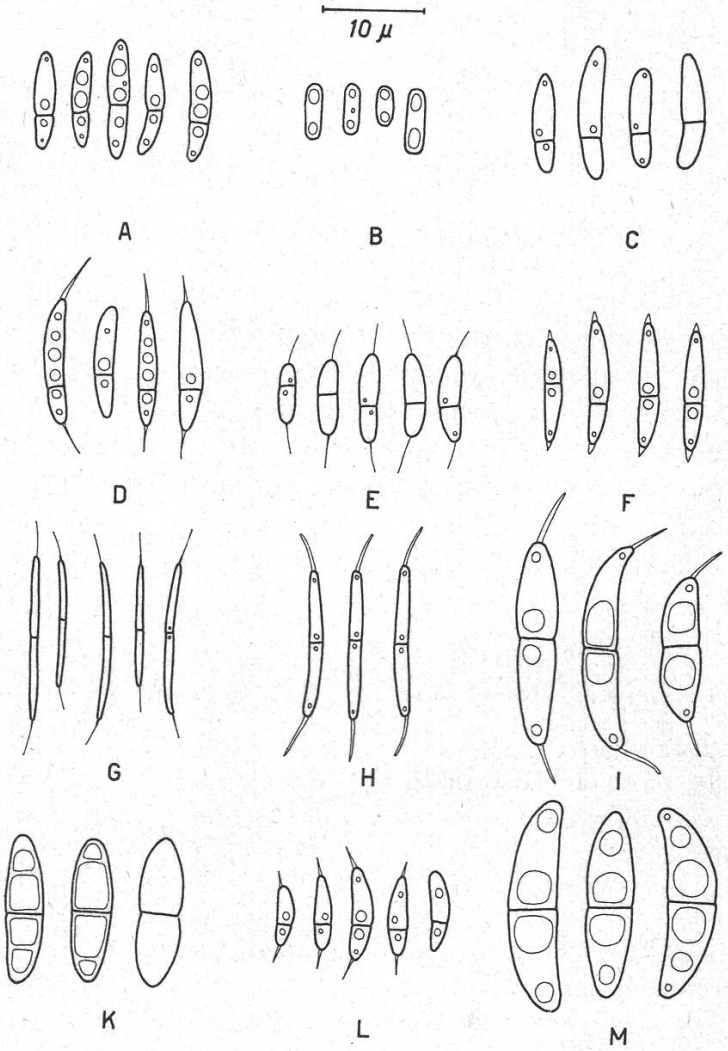


Figure 10

A: Ascospores de *Gnomonia comari* Karst. – B: Conidies de *Gnomonia comari* Karst. – C: Ascospores de *Gnomonia alpina* Wint. – D: Ascospores de *Gnomonia gei-montani* Ranojevic – E: Ascospores de *Gnomonia waldsteiniae* Dearness et House – F: Ascospores de *Gnomonia sanguisorbae* (Rehm) E. Müller – G: Ascospores de *Gnomonia gei* Pat. et Doass. – H: Ascospores de *Gnomonia rosae* Fuck. – I: Ascospores de *Gnomonia fragariae* Kleb. – K: Ascospores de *Gnomonia sibbaldiae* Petr. – L: Ascospores de *Plagiostoma tormentillae* (Lind) comb. nov. – M: Ascospores de *Plagiostoma lugubris* (Karst.) comb. nov.

B. Description des espèces

1. *Gnomonia alpina Winter*

in Rhb. Krypt. Flora 1 (2):589 (1887)

Synonymes: Rehmiella alpina Wint. – Hedwigia 22:2 (1883)
Ditopella alpina v. Höhn. – Ann. Mycol. 17:132 (1919)

Diagnose: Les périthèces sont épars, immerses, noirs, globuleux à subglobuleux, de 300–500 μ de diamètre. L'ostiole, en forme de bec cylindrique, de 500–800 μ de long et de 130–100 μ de section, est inséré au sommet du périthèce. La paroi périthéciale, de 30–35 μ de large, est composée, à l'extérieur, de 2–3 couches de cellules polygonales à membrane épaisse et foncée et, à l'intérieur, de 3–4 couches de cellules à membrane mince et hyaline et qui contiennent une grande gouttelette huileuse jaunâtre.

Les asques unituniqués, cylindro-claviformes, de 45–70 $\times$ 7–12 μ, contiennent 16 ascospores et sont pourvus d'un anneau apical. A maturité, ils remplissent toute la cavité périthéticale. Paraphyses absentes.

Les ascospores hyalines, de 8–13 $\times$ 2–3 μ, sont oblongues ellipsoïdales, droites ou légèrement arquées, bicellulaires, septées entre le milieu et les $^2/_3$ de leur longueur et contiennent généralement 2 gouttelettes huileuses par cellule (fig. 10C).

Matrix: Sur les tiges et pétioles d'*Alchemilla* sp.

Matériel examiné: Alchemilla conjuncta Bab. em Becherer, Vallée de Joux, VD, Les Grandes Chaumilles sur l'Orient, 25 mai 1968 – Corbeyrier, VD, lac Neirvaux, 29 mai 1968 – *Alchemilla vulgaris* L., Vallée de Joux, VD, Les Grandes Chaumilles sur l'Orient, 24 mai 1969.

Gnomonia alpina Wint. se distingue de *Gnomonia comari* Karst. par la grosseur de ses organes et par le nombre double des ascospores par asque. Par contre, les dimensions et la forme des ascospores sont semblables pour les deux espèces.

2. *Gnomonia gei-montani Ranojevic*

Ann. Mycol. 8:362 (1910)

Diagnose: Les périthèces sont noirs, épars, immerses, globuleux, légèrement aplatis à la base, de 150–300 μ de diamètre. L'ostiole, au sommet du périthèce, se prolonge en un long bec cylindrique de 400–550 μ de long et de 50–30 μ de section. La paroi périthéciale, de 10–15 μ d'épaisseur, comprend 1–2 couches externes de cellules à membrane épaisse et foncée et de 2–4 couches internes de cellules aplaties à membrane fine et hyaline.

Les asques unituniqués, pourvus d'un anneau apical, sont cylindro-claviformes, de 25–50 $\times$ 4–9 μ et contiennent 8 ascospores disposées sans ordre défini. A maturité, ils remplissent toute la cavité périthéciale. Paraphyses absentes.

Les ascospores sont hyalines, de 7,5–15 $\times$ 1,5–3,2 μ, cylindro-fusiformes, droites ou très légèrement arquées, bicellulaires, septées entre le milieu et les $^2/_3$ de leur longueur, non constrictées, munies d'un appendice filiforme aux 2 extrémités (fig. 10D).

Matrix: Sur les pétioles, nervures et dans le limbe des feuilles sèches de *Sieversia montana* R. Br.

Matériel examiné: Sieversia montana R. Br. Herb. ZT, Simplon, VS, Gabis, 2050 m, 11 juin 1953, leg. E. Müller – Herb. ZT, France, Val Queras, 2350 m, au-dessus du village de St-Veran, 25 août 1954, leg. E. Müller – Herb. ZT, Aletschwald, Riederfurka, VS, souche 356, 7 septembre 1962, leg. E. Müller.

Cette espèce alpine a été récoltée pour la première fois dans les Alpes serbes, à Midzur (2000 m), en mai 1908, par Ranojevic (1910). En culture pure sur agar malté, elle produit des périthèces fertiles, mais pas de conidies. Elle est proche parente de *Gnomonia comari* Karst. et ne s'en distingue que par les ascospores légèrement plus longues et munies d'appendices filiformes.

3. Gnomonia waldsteiniae Dearness et House

New York State Museum. Circ. 24:37 (1940)

Diagnose: Les périthèces sont hypophylles, immerses, dispersés dans le limbe ou grégaires et en ligne sur les nervures, brun-noir, globuleux, de 200–250 μ de diamètre et de 180–200 μ de hauteur. L'ostiole, au sommet du périthèce, est en forme de bec de 150–200 μ de long sur 40–35 μ de section. A sa sortie du substrat, le bec est entouré d'une couronne blanchâtre constituée d'un dépôt pulvérulent amorphe. La paroi périthéciale, de 12–16 μ d'épaisseur, se compose, à l'extérieur, d'une couche de cellules à membrane foncée et, à l'intérieur, de 3–5 couches de cellules aplaties à membrane mince et hyaline.

Les asques unituniqués, fusiformes à claviformes, de 18–28 $\times$ 4–6 μ, contiennent 8 ascospores disposées sans ordre précis et sont pourvus d'un anneau apical. A maturité, ils remplissent toute la cavité périthéciale. Paraphyses absentes.

Les ascospores sont oblongues ellipsoïdales, droites ou faiblement arquées, hyalines, de 5–8,5 $\times$ 1–2 μ, bicellulaires septées entre le milieu et les $^2/_3$ de leur longueur, munies d'un appendice filiforme à l'une ou aux deux extrémités (fig. 10E).

Matrix: Sur les pétioles, les nervures et dans le limbe des feuilles sèches de *Waldsteinia fragarioides* (Michx.) Tratt.

Matériel examiné: Waldsteinia fragarioides (Michx.) Tratt. Herb. DAOM, Type! USA, Clarkville, Albany County, 11 mai 1924, leg. H. D. House.

Cette espèce américaine, observée près d'Albany, dans l'Etat de New York, et décrite par Dearness et House (1940), est très proche de *Gnomonia comari* Karst. Elle s'en distingue par la présence d'un appendice filiforme aux extrémités des ascospores et par cette couronne claire caractéristique qui entoure le bec du périthèce à sa sortie du substrat. Cette dernière particularité se retrouve chez d'autres Gnomoniacées: *Gnomonia amoena* (Nees) Ces. et de Not. sur *Corylus avellana* L. et *Gnomonia pulcherrima* Seaver et Waterston, espèce américaine récoltée aux Bermudes sur *Coccolobis uvifera* (L.) Jaq. par Seaver et Waterston (1940).

4. Gnomonia sanguisorbae (Rehm) E. Müller

Beitr. Krypt. Fl. Schweiz 11 (2):744 (1962)

Synonymes: Gnomonia tithymalina Sacc. et Br., var. *sanguisorbae* Rehm – Ann. Mycol. 3:229 (1905)
Melanopelta saxonica Kirschst. – Ann. Mycol. 37:113 (1939)

Diagnose: Les périthèces immerses, surmontés d'un léger clypeus, sont isolés ou grégaires, accolés par groupes de 2–4, brun noirâtre, globuleux dépressés, allongés dans le sens du substrat, 170–350 μ de diamètre, 120–170 μ de hauteur. Le bec, inséré au sommet du périthèce, mesure 100–200 μ de long et 85–70 μ de section et a tendance à s'élargir à sa sortie du substrat. La paroi périthéciale, de 12 à 16 μ d'épaisseur, se compose de 2–3 couches de cellules externes à membrane foncée et de 1–2 couches de cellules internes aplaties, à membrane mince et hyaline (fig. 11).

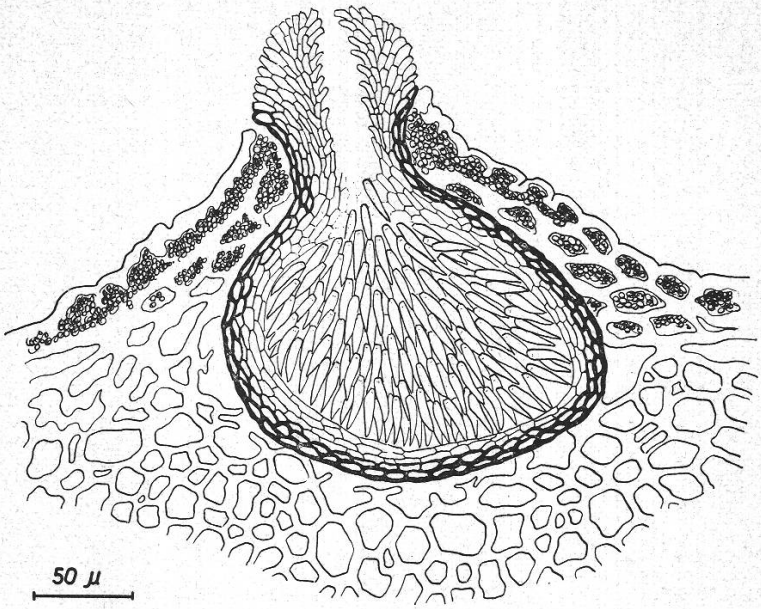


Figure 11

Coupe à travers un périthèce de *Gnomonia sanguisorbae* (Rehm) E. Müller sur une tige de *Sanguisorba minor* Scop.

Les asques unituniqués, fusiformes, pourvus d'un anneau apical, contiennent ordinairement 6 ascospores, très rarement 4 ou 8. Ils mesurent 22–27 × 4–8 μ et remplissent, à maturité, toute la cavité périthéciale. Paraphyses absentes.

Les ascospores hyalines, de 7–16 × 2–2,5 μ, sont fusiformes, bicellulaires, septées entre le milieu et les $^2/_3$ de leur longueur, peu ou pas constrictées, avec un court appendice triangulaire à chaque extrémité (fig. 10 F).

Matrix: Tiges et pétioles secs de *Sanguisorba officinalis* L. et *Sanguisorba minor* Scop.

Matériel examiné: Sanguisorba officinalis L. Herb. LAU, Sydow, Mycoth. germanica N° 792 (Sub. *Gnomonia tithymalina* Sacc. et Br. var. *sanguisorbae* Rehm), Allemagne, bei Königstein (10c. class.) Sachsen, 28 mai 1908, leg. W. Krieger – *Sanguisorba minor* Scop. Vouvry, VS, Haute-Grive, souche 318, 15 mai 1961 – Puidoux, VD, Crêt Bérard, 10 septembre 1961.

Gnomonia sanguisorbae (Rehm) E. Müller est une espèce proche de *Gnomonia tithymalina* Sacc. et Br. qui se développe sur diverses *Euphorbia* sp. Ces deux champignons ne se distinguent guère que par le nombre des ascospores par asque, qui est labile chez le premier (variant de 4 à 8, mais en majorité 6) et qui est fixé à 4 chez le second. Rehm (1905) considère l'espèce trouvée sur *Sanguisorba officinalis* L. comme une sous-espèce de *Gnomonia tithymalina* Sacc. et Br., alors que Müller (Müller et von Arx, 1962) l'élève au rang d'espèce.

Les ascospores de *Gnomonia sanguisorbae* (Rehm) E. Müller sont très variables dans leur longueur qui semble dépendre du nombre des spores par asque. En effet, les ascospores des asques tétrasporés atteignent 14–16 μ, alors que celles des asques hexasporés ou octosporés sont plus petites. Dans ces derniers asques, on trouve fréquemment des ascospores très petites (entre 7 et 9 μ) et même des spores avortées. La partie supérieure du bec du périthèce s'élargit parfois au sortir du substrat. A cause de la présence d'un léger clypeus, Kirschstein (1939) a créé pour cette espèce le nouveau genre *Melanopelta:* l'espèce type du genre devenant *Melanopelta saxonica* Kirschst. Un tel transfert ne se justifie pas et le genre *Melanopelta* Kirschst. doit être considéré,

comme le proposent déjà Müller et von Arx (1926), comme synonyme de *Gnomonia* Ces. et de Not.

En culture pure, *Gnomonia sanguisorbae* (Rehm) E. Müller développe un mycélium gris sale et produit des périthèces fertiles sur agar malté, de même que sur des tiges stérilisées d'*Aruncus silvester* Kost., *Filipendula ulmaria* Maxim., *Agrimonia eupatoria* L., *Sanguisorba minor* Scop. et *S. officinalis* L. (tableau 8). Nous n'avons pas observé de conidies.

5. *Gnomonia gei Patouillard et Doassens*

Tab. An. Fung. 5:214 (1886)

Diagnose: Les périthèces sont rares, isolés, immerses, globuleux, noirs, de 200–300 μ de diamètre. L'ostiole, au sommet du périthèce, est cylindrique, filiforme, de 200–400 μ (jusqu'à 1500 μ en culture) de long et de 40–25 μ de section. La paroi périthéciale, de 30–40 μ d'épaisseur, se compose, à l'extérieur, de 2–3 couches de cellules polygonales à membrane épaisse et foncée et, à l'intérieur, de 2–3 couches de cellules aplaties, à membrane mince et hyaline.

Les asques unituniqués sont fusiformes, de 24–32 $\times$ 4,5–7 μ, contiennent 8 ascospores disposées en faisceau et sont pourvus d'un anneau apical. A maturité, ils remplissent toute la cavité périthéciale. Paraphyses absentes.

Les ascospores sont hyalines, filiformes, de 13–18 $\times$ 0,9–1,2 μ, bicellulaires, septées au milieu et prolongées aux 2 extrémités par un appendice filiforme (fig. 10G).

Matrix: Sur les tiges et pétioles de *Geum* et *Potentilla* sp.

Matériel examiné: Geum pyrenaicum Willd. Herb. FH, Type! France, Les Eaux-Bonnes, 26 juin 1880, leg. Doassens – *Potentilla rupestris* L. Herb. ZT, Rovio, TI, 19 mai 1956, leg. E. Müller – Martigny-Borgeaud, VS, souche 321, 15 mai 1961.

Ce champignon, récolté sur *Geum pyrenaicum* Willd. en France, a été décrit et illustré par Patouillard (1886). Il se rapproche, par ses ascospores filiformes, de *Gnomonia vulgaris* Ces. et de Not. et de *Gnomonia rosae* Fuck. En culture pure sur agar malté, il produit facilement des périthèces fertiles, de même que sur des végétaux stérilisés des genres *Potentilla* et *Filipendula* (tableau 8). Par contre, il ne forme pas de fructifications asexuées.

6. *Gnomonia rosae Fuckel*

Symb. Mycol. :122 (1870)

Synonyme: Gnomoniella rosae (Fuck.) Sacc. – Syll. Fung. 1:416 (1882)

Diagnose: Les périthèces sont épars, nombreux, immerses, noirs, subglobuleux, de 200–350 μ de diamètre sur 120–200 μ de hauteur. L'ostiole, en forme de long bec cylindrique, de 500–1200 μ de long, sur 70–35 μ de section, est inséré au sommet du périthèce. La paroi périthéciale, de 15–30 μ d'épaisseur, est composée, à l'extérieur, de 2 couches de cellules polygonales à membrane épaisse et foncée et, à l'intérieur, de 3–4 couches de cellules aplaties, à membrane mince et hyaline.

Les asques unituniqués, cylindro-claviformes, de 22–35 $\times$ 3,5–6 μ, contiennent 8 ascospores disposées en faisceau et sont pourvus d'un anneau apical. A maturité, ils remplissent toute la cavité périthéciale. Paraphyses absentes.

Les ascospores hyalines, de 12–20 $\times$ 1–2 μ, sont cylindro-fusiformes, bicellulaires, septées au milieu et munies d'appendices filiformes (fig. 10H).

Matrix: Sur les tiges et feuilles sèches de *Rosa sp.*, *Rubus sp.* et *Agrimonia eupatoria* L.

Matériel examiné: Rosa sp. Herb. G, Fung. rhenan. N° 1790, Type!, leg. L. Fuckel – Herb. LAU, Fungi selecti exsiccati N° 219, Allemagne, Triglitz, Brandenburg, 10 avril 1906, leg. O. Jaap– Saillon, VS, La Sarvaz, 2 avril 1958 – Pully, VD, La Rosiaz, 19 avril 1958 – Sion, VS, Les Ecussons, souche 258, 21 avril 1959 – *Rubus sp.* Herb. G. Fungi rhenani N° 2061, Type!, leg. L. Fuckel – Fey, VS, souche 257, 21 avril 1959 – Vouvry, VS, Haute Grive, 22 mai 1958 – Fey, VS, 3 mai 1967 – *Agrimonia eupatoria* L. Herb. LAU, Sydow, Mycotheca germanica N° 3492 (Sub. *Gnomonia guttulata* [Starb.] Kirschst.), Allemagne, Tiefensee bei Werneuchen, Brandenburg, 19 mai 1940, leg. H. Sydow – Changins sur Nyon, VD, souche 316, 5 mai 1961.

L'échantillon N° 3492 de la «Mycotheca germanica», récolté sur *Agrimonia eupatoria* L. par H. Sydow, déposé à l'Herb. LAU et désigné sous le nom de *Gnomonia guttulata* (Starb.) Kirschst., contient en fait les périthèces d'un autre *Gnomonia*. Morphologiquement, ce champignon s'identifie à deux espèces décrites par Fuckel (1869): *Gnomonia rosae* Fuck. sur feuilles mortes de *Rosa rubiginosa* et *Gnomonia graphis* Fuck. sur feuilles sèches de *Rubus* sp. Les diagnoses sommaires de ces deux espèces, reprises par Saccardo (1882) et par Winter (1887) ne permettent pas de les distinguer. La description de *Gnomonia rosae* Fuck a heureusement été complétée par Klebahn (1918) et par Petrak (1920). Les échantillons types de ces deux champignons, déposés à l'Herb. G. sont inutilisables, les périthèces contenant des asques immatures ou agglutinés, ce que déplorait déjà Winter (1887). Les mesures des asques et des ascospores effectuées à partir d'échantillons récoltés en Suisse romande sur des feuilles mortes de *Rosa* et *Rubus* sp. ne permettent pas non plus de les séparer (tableau 11).

Tableau 11

Dimensions en μ des asques et des ascospores de *Gnomonia rosae* Fuck. Echantillons récoltés sur *Agrimonia eupatoria* L., *Rosa sp.* et *Rubus* sp.

Plantes hôtes	Nombre d'échantillons	Asques	Ascospores
Agrimonia eupatoria L.	2	25,6—35 × 3,2—5,7	12,8—17,3 × 0,9—1,9
Rosa sp.	4	22,5—32 × 3,8—5,7	12,8—19 × 0,9—1,6
Rubus sp.	3	22,4—35 × 3,8—6,4	16,0—19,8 × 0,9—1,6

En culture pure, sur agar malté, les isolations à partir d'ascospores récoltées sur *Agrimonia eupatoria L.*, *Rosa* sp. et *Rubus* sp. se comportent de manière semblable; les trois souches forment des périthèces fertiles, mais pas de conidies. La culture isolée de *Rosa* sp. produit un pigment jaune soufre. Cette seule différence ne permet guère de la séparer des deux autres, ceci d'autant moins que ce pigment, qui n'est probablement pas spécifique, n'est pas signalé par Klebahn (1918) qui a également cultivé ce champignon. Enfin, des périthèces fertiles apparaissent aussi bien sur des tiges, pétioles et feuilles stérilisés d'*Aruncus silvester* Kost., *Sanguisorba officinalis* L. et *Agrimonia eupatoria* L. inoculés avec la souche 316 isolée d'*Agrimonia eupatoria* L., que sur les mêmes organes stérilisés de divers *Rosa* et *Rubus* sp. inoculés, d'une part, avec la souche 257 isolée de *Rubus* sp. et, d'autre part, avec la souche 258 isolée de *Rosa* sp.

Il ressort de ces observations préliminaires que le champignon récolté sur *Agrimonia eupatoria* L., ainsi que *Gnomonia rosae* Fuck. et *Gnomonia graphis* Fuck. appartiennent à un même groupe, sinon à une seule et même espèce. En attendant que des recherches

plus poussées permettent de résoudre définitivement ce problème, nous adoptons provisoirement, pour le champignon observé sur *Agrimonia eupatoria* L., le taxon *Gnomonia rosae* Fuck.

7. *Gnomonia fragariae Klebahn*

Haupt- u. Nebenfruchtformen der Ascomyceten: 285 (1918)

Diagnose: Les périthèces sont isolés ou, le plus souvent grégaires, par places, serrés les uns contre les autres, immerses, rarement érumpants, noirs, globuleux à subglobuleux, de 160–400 μ de diamètre. L'ostiole, en forme de bec cylindrique, de 200–500 μ de long, de 130–60 μ de section, est inséré au sommet du périthèce. La paroi périthéciale est composée, à l'extérieur, de 1–2 couches de cellules polygonales à membrane épaisse et foncée et, à l'intérieur, de 2–4 couches de cellules à membrane fine et hyaline (fig. 12 et 13).

Les asques unituniqués, claviformes à fusiformes, de 40–70 $\times$ 6,5–10 μ, pourvus d'un anneau apical, contiennent 8 ascospores disposées sans ordre précis. A maturité, ils remplissent toute la cavité périthéciale. Les paraphyses sont rares et disparaissent avec l'âge.

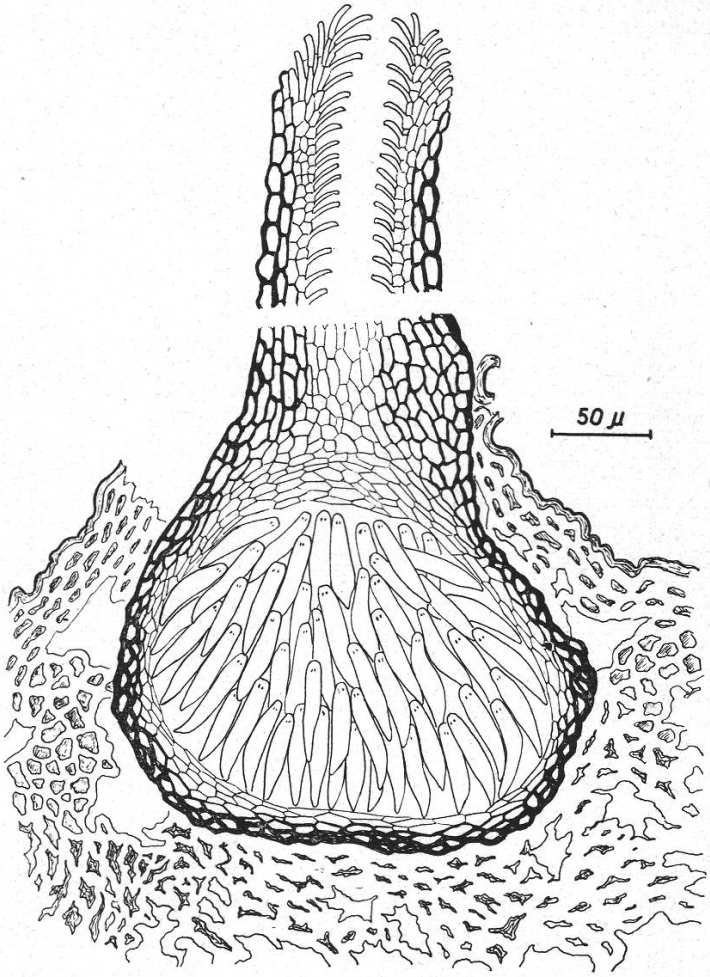


Figure 12

Coupe à travers un périthèce de *Gnomonia fragariae* Kleb. sur un pétiole de fraisier

Les ascospores hyalines, de 13–22 × 2,5–4,5 μ, sont fusiformes à ellipsoïdales, droites ou légèrement arquées, bicellulaires, septées au milieu, faiblement constrictées, avec un appendice filiforme aux extrémités. Chaque cellule contient 1–2 gouttelettes huileuses (fig. 10I).

Figure 13

Périthèces de *Gnomonia fragariae* Kleb. sur un pétiole de fraisier

Matrix: Sur les tiges et pétioles secs de *Fragaria* et *Potentilla* sp.

Matériel examiné: Fragaria cultivar, Chailly-sur-Clarens, VD, 17 juin 1958 – Tenero, TI, 20 juin 1958 – Vouvry, CS, Les Barges, souche 202, 25 juin 1958 – Corbeyrier, VD, Vers Cort, souche 261, 23 juin 1961 – Miex, VS, souche 342, 29 août 1961, leg. R. Corbaz – *Fragaria vesca* L. Herb. ZT, Porrentruy, BE, 22 juillet 1942, leg. Ch. Terrier – La Conversion sur Lutry, VD, Clos solide, 22 mai 1958 – *Potentilla micrantha* Ram., Lausanne, VD, Jardin botanique, souche 204, 21 mai 1958, leg. R. Corbaz – *Potentilla anserina* L., Torgon, VS, 11 octobre 1961, leg. R. Corbaz – *Potentilla rupestris* L., Martigny-Brocard, VS, souche 344, 19 octobre 1961.

Cette espèce a été soigneusement décrite et illustrée par Klebahn (1918). En culture pure sur agar malté, elle développe un mycélium d'abord gris sale, puis noirâtre qui cache des périthèces fertiles. Des périthèces sont également apparus sur des feuilles et des tiges de végétaux stérilisés en tubes de verre et appartenant aux genres *Fragaria*, *Potentilla*, *Geum*, *Filipendula*, *Alchemilla et Sanguisorba* (tableau 8). Aucune fructification asexuée n'a été odservée par Klebahn (1918) ou par nous-même, ni sur les plantes hôtes, ni en culture pure, sur agar ou végétaux stérilisés. Morphologiquement, ce champignon est très proche de *Gnomonia rubi* (Rehm) Winter. Cette dernière espèce se distingue de *Gnomonia fragariae* Klebahn par ses asques qui ne contiennent que 4 ascospores et par son caractère nettement parasitaire sur diverses espèces cultivées des genres *Rosa* et *Rubus* (Schneider, Paetzholdt et Willer, 1969).

8. Gnomonia sibbaldiae Petrak

Kryptogamische Forschungen 2 (2):162 (1931)

Diagnose: Les périthèces sont épars, parfois grégaires par groupes de 2–5, immerses, noirs, globuleux à subglobuleux, de 200–300 μ de diamètre et de 150–200 μ de hauteur. L'ostiole, au sommet du périthèce, est surmonté d'un long bec cylindrique, de 200–500 μ de long sur 80–70 μ de section. La paroi périthéciale, de 15–25 μ d'épaisseur, se compose, à l'extérieur, de 2 couches de cellules épaisses et foncées et, à l'intérieur, de 4–5 couches de cellules hyalines.

Les asques fusoïdo-claviformes, de 38–60 × 7–14 μ contiennent 8 ascospores disposées sans ordre particulier et remplissent, à maturité, toute la cavité périthéciale. Paraphyses rares ou absentes.

Les ascospores, de 11–17 × 3–5 μ, hyalines à jaunâtres à l'intérieur du périthèce, sont ellipsoïdales, bicellulaires, septées au milieu, non constrictées, et contiennent 2 grosses gouttelettes huileuses dans chaque cellule. Les ascospores, à l'extérieur du périthèce, agglutinées à l'extrémité du bec, sont brunes, légèrement constrictées, sans gouttelette huileuse, mais de dimensions semblables à celles des spores contenues dans la cavité périthéciale (fig. 10K).

Matrix: Sur les tiges, les pétioles et dans le limbe de feuilles sèches de *Sibbaldia procumbens* L. et *Sieversia reptans* R. Br.

Matériel examiné: Sieversia reptans R. Br. Herb. ZT, col de l'Albula, GR, bord de la route, côté W, 2250 m, 23 août 1961, leg. E. Müller.

Le champignon récolté par E. Müller au col de l'Albula sur *Sieversia reptans* R. Br. correspond, dans les grandes lignes au *Gnomonia* découvert par Petrak (1931) au Tyrol, dans la région de l'Arlberg, sur *Sibbaldia procumbens* L. Dans sa description pourtant très détaillée, l'auteur ne mentionne pas la présence de l'anneau apical qui caractérise les asques des Diaporthales. Sur le matériel en provenance de l'Albula, nous n'avons pas non plus observé cet anneau apical.

Les ascospores situées à l'intérieur de la cavité périthéciale correspondent bien à la description que Petrak en a faite; les gouttelettes huileuses sont particulièrement bien visibles. Cependant, l'auteur ne nous dit rien sur la couleur des spores. Sur *Sieversia reptans* R. Br., elles sont hyalines à légèrement jaunâtres à l'intérieur du périthèce; elles sont brunes, avec une membrane épaisse, sans gouttelette huileuse, lorsqu'elles sont sorties naturellement du périthèce. Ainsi donc, on doit considérer que les ascospores de cette espèce sont hyalines à jaunâtres et pourvues de grosses gouttelettes huileuses à l'état immature, et brunes lorsqu'elles sont expulsées de la fructification.

Les isolations de ce champignon à partir des ascospores hyalines sont restées stériles. Les spores n'ont pas germé sur agar malté.

Il ne nous a pas été possible d'examiner l'espèce type de *Gnomonia sibbaldiae* Petrak. Toutefois, la description très détaillée qui en est donnée permet sans grand risque d'identifier le champignon ramassé au col de l'Albula sur *Sieversia reptans* R. Br. à cette même espèce. Cependant, l'absence de l'anneau apical et la coloration brune des ascospores nous fait douter de son appartenance au genre *Gnomonia*. Il y aurait lieu de poursuivre les recherches sur cette espèce avec d'autres récoltes.

9. *Plagiostoma tormentillae (Lind) comb. nov.*

Synonyme: Gnomoniella tormentillae J. Lind – Bot. Tidsskrift 41:217 (1931)

Diagnose: Les périthèces, de type valsoïdien, sont épars, immerses, globuleux, fortement dépressés, noirs, de 200–250 μ de diamètre sur 100–150 μ de hauteur. L'ostiole, en forme de bec cylindrique, de 70–100 μ de long et de 60–50 μ de section, est inséré latéralement et s'infléchit pour permettre à son extrémité de déboucher perpendiculairement au plan du substrat. La paroi périthéciale, de 25–50 μ d'épaisseur comprend, à l'extérieur, 2–4 couches de cellules polygonales à membrane épaisse et foncée et, à l'intérieur, 2–4 couches de cellules aplaties à membrane mince et hyaline (fig. 14).

Les asques unituniqués, cylindro-fusiformes, de 20–33 × 3–5 μ, contiennent 8 ascospores et sont pourvus d'un anneau apical. Ils sont disposés horizontalement par

rapport au plan du substrat et remplissent, à maturité, toute la cavité périthéciale. Paraphyses absentes.

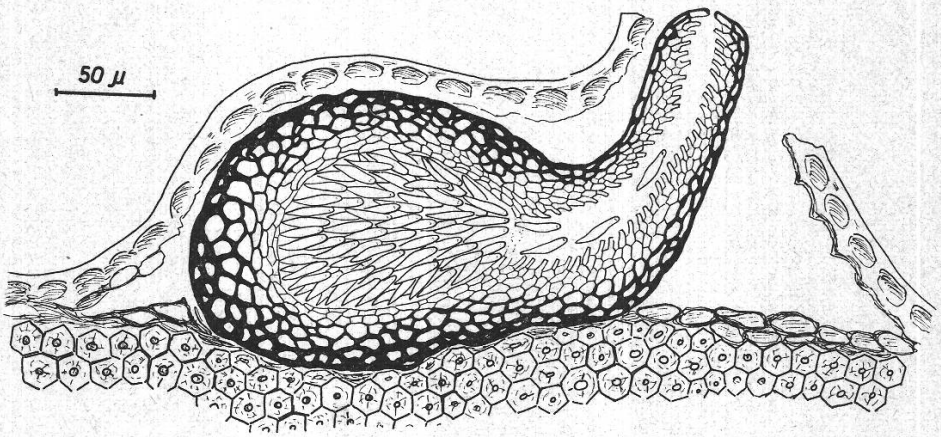


Figure 14

Coupe à travers un périthèce de *Plagiostoma tormentillae* (Lind) comb. nov. sur une tige de *Potentilla erecta* Räuschel

Les ascospores hyalines, de 6–10 × 1,5–2,5 μ sont oblongues ellipsoïdales, droites à légèrement arquées, bicellulaires, septées entre le milieu et les $^2/_3$ de leur longueur et munies d'appendices filiformes (fig. 10L).

Matrix: Sur les tiges sèches de *Potentilla* sp.

Matériel examiné: Potentilla erecta Räuschel, Herb. C. (Sub. *Gnomoniella tormentillae* Lind) Type! Danemark, Undallslund ved Viborg, 23 avril 1930, leg. J. Lind – Vallée de Joux, VD, Le Chenit, route du Marchairuz, plat de la Rollaz, 15 juin 1969 – *Potentilla rupestris* L., Herb. ZT, Rovio, TI, 19 mai 1956, leg. E. Müller – Martigny-Borgeaud, 15 mai 1961.

Dans la diagnose de Lind (1931), les ascospores sont indiquées comme «non septatis». Les dessins de l'auteur, au contraire, montrent une ascospore bicellulaire, septée entre le milieu et les $^2/_3$ de sa longueur. L'examen de l'échantillon type, déposé à l'Herb. C, et des récoltes suisses, confirme la nature bicellulaire des ascospores et révèle encore la présence, sur la majorité des spores, d'un appendice filiforme.

Le caractère valsoïdien des périthèces et la nature bicellulaire des ascospores justifient le transfert de cette espèce du genre *Gnomoniella* Sacc. au genre *Plagiostoma* Fuck.

10. Plagiostoma lugubris (Karst.) comb. nov.

Synonymes: Gnomonia lugubris Karst. – Myc. Fenn. 2:122 (1873)
Gnomoniella lugubris (Karst.) Sacc. – Syll. Fung. 1:415 (1882)

Diagnose: Les périthèces, de type valsoïdien, sont épars, immerses, globuleux à subglobuleux, brun noirâtre, de 200–225 μ de diamètre et de 120–150 μ de hauteur. L'ostiole, en forme de bec cylindrique, de 100–150 μ, parfois jusqu'à 500 μ de long et de 55–65 μ de large, est inséré latéralement et se redresse pour émerger perpendiculairement au plan du substrat. Il prend une teinte brun roux en sortant de l'épiderme. La paroi périthéciale, de 15–25 μ d'épaisseur, comprend, à l'extérieur, 1–2 couches de cellules polygonales à membrane épaisse et foncée et, à l'intérieur, 2–3 couches de cellules aplaties, à membrane mince et hyaline (fig. 15).

Les asques unituniqués, fusiformes à claviformes, de 50–70 × 10–15 μ contiennent 8 ascospores et sont pourvus d'un anneau apical. Ils sont couchés et remplissent, à maturité, toute la cavité périthéciale. Paraphyses absentes.

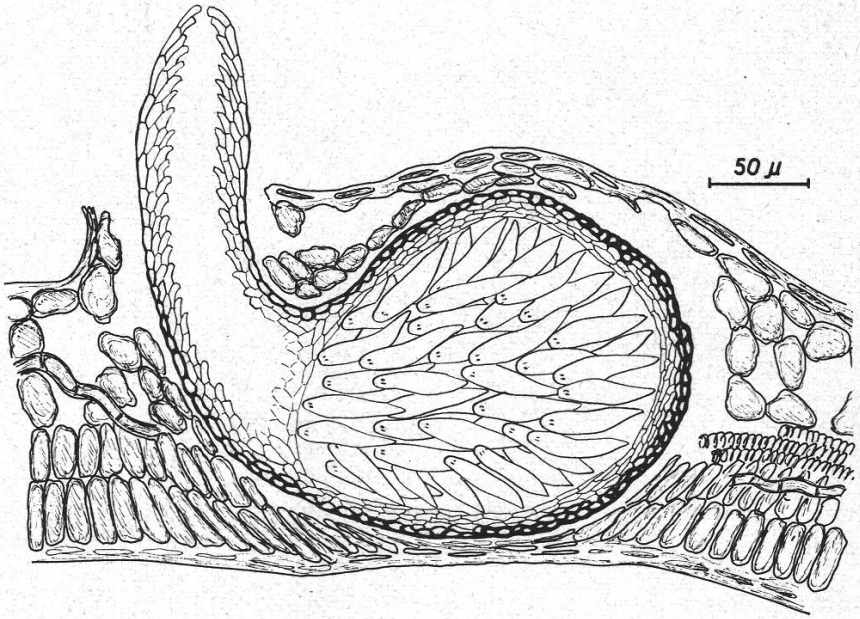


Figure 15

Coupe à travers un périthèce de *Plagiostoma lugubris* (Karst.) comb. nov. dans une foliole de *Comarum palustre* L.

Les ascospores hyalines, oblongues fusiformes, droites à légèrement arquées, de 18–22 × 4,5–6 μ, sont bicellulaires, septées au milieu, avec 1–2 gouttelettes huileuses dans chaque cellule (fig. 10M).

Matrix: Sur les nervures et dans le limbe de feuilles sèches de *Comarum palustre* L.

Matériel examiné: Comarum palustre L., Herb. ZT, Allemagne, Pirna, Sachsen, juillet 1903, leg. W. Krieger.

Le caractère valsoïdien des périthèces nécessite le passage de cette espèce du genre *Gnomonia* au genre *Plagiostoma*.

C. Inventaire des Gnomoniacées croissant sur les Rosacées herbacées

Plantes hôtes	Gnomoniacées
Fragaria cultivar	*Gnomonia comari* Karst.
	Gnomonia fragariae Kleb.
Fragaria vesca L.	*Gnomonia comari* Karst.
	Gnomonia fragariae Kleb.
Fragaria moschata Duchesne	*Gnomonia comari* Karst.
Comarum palustre L.	*Gnomonia comari* Karst.
	Plagiostoma lugubris (Karst.) comb. nov.
Waldsteinia fragarioides (Michx.) Tratt.	*Gnomonia waldsteiniae* Dearness et House
Potentilla rupestris L.	*Gnomonia comari* Karst.
	Gnomonia fragariae Kleb.
	Gnomonia gei Pat. et Doass.
	Plagiostoma tormentillae (Lind) comb. nov.

Plantes hôtes	Gnomoniacées
Potentilla micrantha Ram.	*Gnomonia fragariae* Kleb.
Potentilla anserina L.	*Gnomonia comari* Karst.
	Gnomonia fragariae Kleb.
Potentilla erecta Räuschel	*Gnomonia comari* Karst.
	Plagiostoma tormentillae (Lind) comb. nov.
Potentilla reptans L.	*Gnomonia comari* Karst.
Potentilla aurea L.	*Gnomonia comari* Karst.
Sibbaldia procumbens L.	*Gnomonia sibbaldiae* Petr.
Geum urbanum L.	*Gnomonia comari* Karst.
Geum rivale L.	*Gnomonia comari* Karst.
Geum pyrenaicum Willd.	*Gnomonia gei* Pat. et Doass.
Sieversia montana R. Br.	*Gnomonia gei-montani* Ranojevic
Sieversia reptans R. Br.	*Gnomonia sibbaldiae* Petr.
Alchemilla conjuncta Bab. em Becherer	*Gnomonia comari* Karst.
	Gnomonia alpina Wint.
Alchemilla vulgaris L.	*Gnomonia comari* Karst.
	Gnomonia alpina Wint.
Agrimonia eupatoria L.	*Gnomonia comari* Karst.
	Gnomonia rosae Fuck.
Agrimonia odorata L.	*Gnomonia comari* Karst.
Sanguisorba officinalis L.	*Gnomonia sanguisorbae* (Rehm) E. Müller
Sanguisorba officinalis L.	*Gnomonia sanguisorbae* (Rehm) E. Müller
Sanguisorba minor Scop.	*Gnomonia comari* Karst.
	Gnomonia sanguisorbae (Rehm) E. Müller

Deuxième partie

Etude physiologique

Chapitre VI

Matériel et méthodes

Dans notre étude des Gnomoniacées vivant sur les Rosacées herbacées, nous avons isolé 6 espèces récoltées sur quelque 15 plantes hôtes. Sur agar à 2 % d'extrait de malt, ces isolations se développent très bien et la plupart d'entre elles forment des périthèces ou des pycnides.

Les travaux faisant état de cultures in vitro de champignons du genre *Gnomonia* sont relativement peu nombreux et se rapportent presque uniquement à des milieux organiques. Klebahn (1908) utilise des géloses à la décoction de prunes, à la carotte ou le milieu de Salep. Fall (1951), Bolton (1954) et Mc Onie (1964) ont recours à une gélose au glucose et à l'extrait de pomme de terre. Alexopoulos et Cation (1948) emploient de l'agar à la farine de maïs. Arnaud et Arnaud (1931) les cultivent sur géloses à la prune ou à la farine d'avoine. Bolton (1954) remplace le saccharose dans le milieu de Czapeck par des concentrations variables d'amidon, de pectine, de cellulose et de fécule. Plus récemment, Mc Onie et Snyder (1966) étudient la morphogénèse de *Gnomonia comari* Karst. cultivé sur un milieu minéral vitaminé avec nitrate et glucose.

A. Souches et milieux de culture

Les essais de nutrition sont entrepris avec diverses souches de *Gnomonia comari* Karst. dont les origines sont indiquées au tableau 6.

Le champignon est cultivé dans des flacons erlenmeyer de 100 ou 150 cm³ contenant 50 cm³ de milieu liquide. La stérilisation est réalisée à l'autoclave en chauffant lentement jusqu'à 120 °C et en maintenant cette température pendant 15 à 20 minutes.

Les flacons sont inoculés au moyen d'une suspension de conidies obtenue d'une culture en tube penché sur agar malté (2 % d'extrait de malt). L'inoculum est standardisé à une concentration de 400000 à 500000 spores par cm^3. Dans chaque flacon, on introduit 2 gouttes d'inoculum, soit $^2/_{35}$ cm^3, ce qui représente de 22850 à 28600 spores par erlenmeyer. Pour les essais de nutrition carbonée ou azotée, ce mode d'inoculation est suffisant; l'apport de carbone ou d'azote est négligeable. Dans la recherche des besoins vitaminiques, cette méthode est discutable, des traces d'aneurine ou de biotine pouvant passer de la gélose maltée dans l'inoculum et permettre une faible croissance dans les séries témoins sans vitamine.

Après inoculation, les cultures sont incubées pendant 21 jours dans un local soumis à un éclairage artificiel alternatif de 12 heures. La température moyenne est de 23 °C avec des variations de + 3 °C durant l'éclairage et de — 2 °C à la fin de la période d'obscurité.

Le milieu minéral de base utilisé pour nos recherches est inspiré d'une formule de Fries (1938). Dans la suite, nous la désignerons par le symbole F.

Milieu F (pour 1 litre d'eau distillée)

KH_2PO_4	1 g	
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,5 g	
NaCl	0,1 g	
$CaCl_2 \cdot 6H_2O$	0,1 g	
$FeCl_3$	0,005 g	
Oligoéléments	1 ml d'une solution contenant par litre d'eau distillée	
	$MnCl_2$	0,5 g
	$ZnSO_4$	0,1 g
	$CuSO_4$	0,1 g
	$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$	0,2 g
	$CoCl_3$	0,2 g
	H_3BO_3	0,5 g

En général, les substances chimiques utilisées dans nos essais proviennent de la Maison Fluka à Buchs et sont de la qualité puriss.

B. Evaluation de la croissance

Les cultures sont récoltées après 21 jours d'incubation. On détermine tout d'abord le pH du milieu; le contenu de chaque flacon est filtré sur un papier filtre préalablement taré, puis il est séché quinze heures à 80 °C avant d'être pesé.

L'examen visuel des cultures porte sur l'aspect du mycélium et la présence de fructifications. Pour ces notations, nous utilisons les symboles suivants:

Pycnides

0	aucune pycnide
+	quelques rares pycnides contre le verre, à la limite du liquide
++	pycnides en un anneau régulier contre le verre, à la limite du liquide
+++	comme ++, mais avec en plus, quelques pycnides à la surface du mycélium surnageant
++++	pycnides abondantes contre le verre et nombreuses à la surface du mycélium surnageant

Périthèces

P	présence de quelques périthèces contre la paroi du flacon
PP	périthèces nombreux, répartis sur tout le pourtour du flacon, à la limite du liquide
PPP	beaucoup de périthèces contre le verre et à la surface du mycélium surnageant

Mélanisation

m	quelques points de mélanisation contre le verre, à la limite du liquide
mm	zone de mélanisation s'étendant à tout le mycélium développé contre le verre, à la limite du liquide
M	mélanisation moyenne de tout le mycélium
MM	forte mélanisation de tout le mycélium

Calcul des résultats

Par essai, chaque milieu est répété 5 fois. Toutefois, dans quelques essais comportant plus de 20 variantes, nous avons dû limiter à 4 le nombre des répétitions. Les résultats sont analysés

statistiquement selon Linder (1951), Gysel et Keller (1952). Les symboles suivants figurent dans le texte et les tableaux:

PDS ($P_{0,05}$) = plus petite différence significative au seuil $P_{0,05}$

1·2·3·4·5·6 La valeur 1 est significativement différente de 2, 3, 4, 5 et 6.

Les différences ne sont pas significatives entre 2, 3 et 4, d'une part, et 3, 4 et 5, d'autre part.

Chapitre VII

Influence des conditions du milieu

A. Température

Cette série d'essais a pour but de déterminer les points cardinaux thermiques (minimum, optimum, maximum) pour la croissance de *Gnomonia comari* Karst. (Gäumann, 1951). On utilise à cet effet la technique des cultures en milieux liquides décrite au chapitre VI. Le milieu de base $FANO_3$ contient 2,5 % d'amidon soluble Nordux

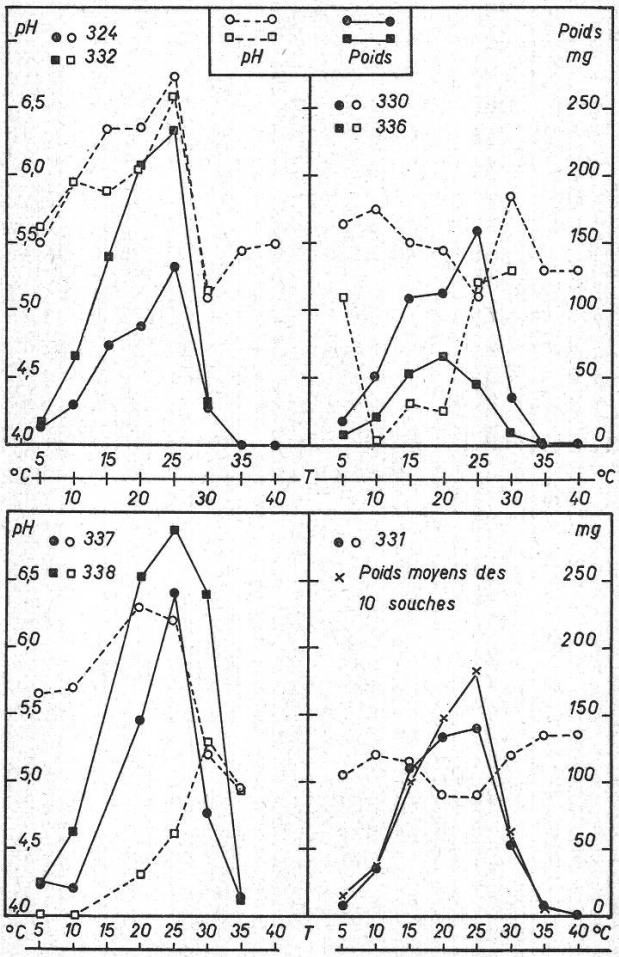


Figure 16

Croissance mycélienne et pH finaux en fonction de la température de *Gnomonia comari* Karst., souches 324, 330, 331, 332, 336, 337 et 338 et poids moyens des souches étudiées

Standard, 0,7 g d'azote nitrique et 500 γ d'aneurine par litre. Dix souches de *Gnomonia comari* Karst. sont placées pendant 21 jours dans des étuves réglées aux températures suivantes: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 °C et, pour certaines, à 40 °C. La variation de la température des étuves durant l'expérimentation est inférieure à $\pm$ 1 °C pour les températures de 5 à 15 °C; elle peut atteindre $\pm$ 1,5 °C pour les séries à 20 °C et au-dessus. Le thermostat de la cellule à 15 °C s'est déréglé lors du dernier essai, ce qui fait que les récoltes des souches 333, 337, 338 et 339 manquent pour cette température. Il y a 5 répétitions par température et par souche.

A la fin de la période de croissance, on détermine le poids sec de chaque culture, on note l'apparition des fructifications (pycnides) et l'on mesure le pH final. Les résultats de ces contrôles sont consignés au tableau 12 et, en partie, représentés graphiquement à la figure 16.

Tableau 12

Influence de la température sur la croissance (P = poids sec en mg), la fructification (F) et le pH final de dix souches de *Gnomonia comari* Karst. Milieu de base: $FANO_3$

Souches isolées		Températures en °C								PDS
(voir tableau 6)		5	10	15	20	25	30	35	40	(P 0.05)
324	P	11.7	28.1	74.2	87.3	132.5	27.1	0.0	0.0	10.5
Fragaria cultivar	F	0	0	0	0	0	0	0	0	
	pH	5.50	5.95	6.35	6.35	6.75	5.10	5.45	5.50	
326	P	17.2	31.5	109.8	152.1	187.7	26.9	0.0	0.0	5.0
Geum rivale L.	F	0	0	0	0	0	0	0	0	
	pH	5.65	5.80	6.25	6.60	6.60	4.90	—	—	
330	P	18.4	50.1	110.4	111.3	160.7	35.6	0.0	0.0	21.3
Alchemilla conjuncta Bab.	F	0	0	+	+++	++++	0	0	0	
	pH	5.65	5.75	5.50	5.45	5.15	5.85	5.30	5.30	
331	P	8.8	34.7	111.3	136.5	139.5	52.4	6.7	0.0	11.1
Fragaria vesca L.	F	0	0	++	++++	++++	0	0	0	
	pH	5.05	5.20	5.15	4.90	4.90	5.20	5.35	5.35	
332	P	18.6	64.9	140.9	209.3	232.4	30.7	0.0	0.0	23.8
Alchemilla vulgaris L.	F	0	0	0	0	0	0	0	0	
	pH	5.60	5.95	5.90	6.05	6.60	5.15	—	—	
333	P	7.0	16.5	—	148.2	215.7	75.3	11.0	—	9.9
Sanguisorba minor Scop.	F	0	0		++++	++++	0	0		
	pH	5.00	4.75		4.70	4.85	5.50	5.40		
336	P	7.1	19.9	51.6	64.3	44.1	8.6	0.0	0.0	10.5
Geum urbanum L.	F	0	0	0	0	0	0	0	0	
	pH	5.10	4.00	4.30	4.25	5.20	5.30	—	—	
337	P	25.7	19.2	—	145.5	240.0	75.0	12.0	—	29.2
Alchemilla vulgaris L.	F	0	0		++	+++	++	0		
	pH	5.65	5.70		6.30	6.20	5.20	4.95		
338	P	24.7	62.0	—	253.5	287.5	240.0	11.0	—	16.2
Potentilla anserina L.	F	0	0		++++	++++	++++	0		
	pH	4.00	4.00		4.30	4.60	5.30	4.95		
339	P	7.0	51.7	—	177.5	183.0	49.7	13.0	—	11.6
Potentilla erecta Räuschel	F	0	0		++	+++	0	0		
	pH	5.30	5.60		4.75	4.95	5.15	5.00		
Poids moyen des 10 souches		14.6	37.9	99.7	148.6	182.3	62.1	5.4	0.0	

La lecture du tableau 12 et de la figure 16 fait ressortir le comportement relativement homogène des dix souches comparées pour ce qui est de la croissance en fonction de la température.

La température minimale n'a pas été atteinte dans notre expérimentation. Toutes les cultures présentent encore un développement à 5 °C. Toutefois, en raison des poids minimes mesurés, on peut admettre que le point cardinal minimum est peu inférieur à cette température.

La température optimale se situe à 25 °C dans 9 cas sur 10. La culture 336, caractérisée par une très faible vitalité in vitro, fait exception avec un développement optimum à 20 °C. On constate par ailleurs que les différences dans les poids des récoltes entre 20 et 25 °C ne sont pas significatives pour les souches 331, 332 et 339, ce qui nous incite à penser que le point cardinal optimum se situe entre 20 et 25 °C, mais plus proche de 25° que de 20 °C.

Le point cardinal maximum est voisin de 35 °C. A cette température, la moitié des cultures n'a plus de croissance et chez l'autre moitié, le développement mycélien est quasi nul.

La courbe de croissance de la souche 331, qui est utilisée dans la plupart de nos essais de nutrition, est très semblable à celle obtenue en prenant les poids moyens de toutes les souches comparées.

En faisant abstraction des réserves formulées ci-dessus et en tenant compte du fait que les écarts de température sont dans notre essai de 5 °C, on peut admettre les valeurs ci-après pour les points cardinaux thermiques de *Gnomonia comari* Karst.:

Température minimale: 5 °C
Température optimale: 25 °C
Température maximale: 35 °C

La température optimale de croissance est plus élevée chez *Gnomonia comari* Karst. que chez les autres espèces étudiées du même genre. Henriksson et Morgan-Jones (1951) ont établi cet optimum à 17 °C pour *Gnomonia vulgaris* Ces. et de Not. isolé de *Corylus avellana* L. et à 19 °C pour *Gnomonia intermedia* Rehm isolé de *Betula pubescens* Ehrh. Pour Neely et Himelick (1967), cette valeur se situe à 18 °C pour *Gnomonia quercina* Kleb. isolé de *Quercus alba* L. et à 21 °C pour *Gnomonia platani* Kleb. isolé de *Platanus occidentalis* L.

Le comportement du pH final en fonction de la température est extrêmement variable d'une souche à l'autre. Des pycnides se sont développées dans six des dix souches comparées; le nombre des fructifications est proportionnel au poids du mycélium. Aucune pycnide n'est apparue aux températures inférieures à 15 °C ou supérieures à 30 °C.

B. Lumière

Nous incubons nos cultures dans un local climatisé à éclairage intermittent, à raison de 12 heures de lumière suivies de 12 heures d'obscurité. La température est maintenue entre 21 et 25 °C par une aération artificielle. L'intensité de la lumière, fournie par des tubes luminescents, varie, au niveau des erlenmeyers, de 1400 à 1100 lux.

Pour vérifier l'influence de l'éclairage sur le développement de notre champignon, nous procédons à l'essai suivant avec la souche 331 et le milieu $FANO_3$. Nous plaçons

dans le local 10 erlenmeyers, dont 5 sont obscurcis par un papier noir recouvert d'une feuille d'aluminium. La récolte de ces flacons, 21 jours après l'inoculation, donne les résultats présentés au tableau 13.

Tableau 13

Influence du mode d'éclairage sur la croissance de *Gnomonia comari* Karst., souche 331, en milieu $FANO_3$

Eclairage	Mycélium (poids sec en mg)	Pycnides
1. Erlenmeyers normaux	110.2	++++
2. Erlenmeyers obscurcis	82.2	+++

Dans ce local à éclairage intermittent, les flacons obscurcis et recouverts d'une feuille d'aluminium se réchauffent plus lentement que les erlenmeyers normaux lorsque la lumière est rétablie. C'est à cette cause qu'il faut attribuer la différence de poids entre les séries 1 et 2.

Cet essai, réalisé dans des conditions primitives, ne nous permet pas de tirer des conclusions bien précises quant à l'influence de la lumière sur le comportement de *Gnomonia comari* Karst. Il nous montre cependant que, pour la croissance du mycélium, la température joue un rôle plus important que la lumière et que, pour la fructification, l'alternance de lumière est plus favorable que l'obscurité.

C. pH initial

L'étude porte sur les souches 331 et 333 de *Gnomonia comari* Karst., en milieu de base FA avec 2,5 % d'amidon soluble Nordux Standard et 500 γ/l d'aneurine. L'azote est apporté à raison de 0,7 g/l, sous forme de KNO_3 ($FANO_3$), de phosphate diammonique ($FANH_4$) ou d'asparagine (FAAsp). Les milieux ne sont pas tamponnés. Le pH initial est abaissé par adjonction de H_2SO_4 dilué ou relevé par un apport de NaOH dilué. Le pH initial est corrigé de manière à donner une gamme de valeurs s'étendant de 2,0 à 8,0, avec des intervalles de 0,5 unité. Après stérilisation des milieux, le pH est mesuré à nouveau. Ce contrôle montre que le traitement à la vapeur modifie les valeurs primitivement choisies en rapprochant les extrêmes vers le centre. Dans ce chapitre, il ne sera fait état pour les pH initiaux que des valeurs mesurées après stérilisation à la vapeur.

Les essais comprennent 5 répétitions par pH initial avec la souche 331 et 4 avec la culture 333. L'organisation et le déroulement de ces cultures sont conformes à la méthode de travail décrite au chapitre VI. Les résultats sont rapportés au tableau 14 et représentés graphiquement aux figures 17 et 18.

Les résultats de la figure 17 montrent que le pH initial d'un milieu à base d'amidon doit être compris entre 3,5 et 6,5 pour assurer une croissance suffisante du champignon. L'optimum varie, suivant les isolations et les sources d'azote, de 4,45 à 6,10. La majorité des valeurs optima se situant toutefois vers 5,5.

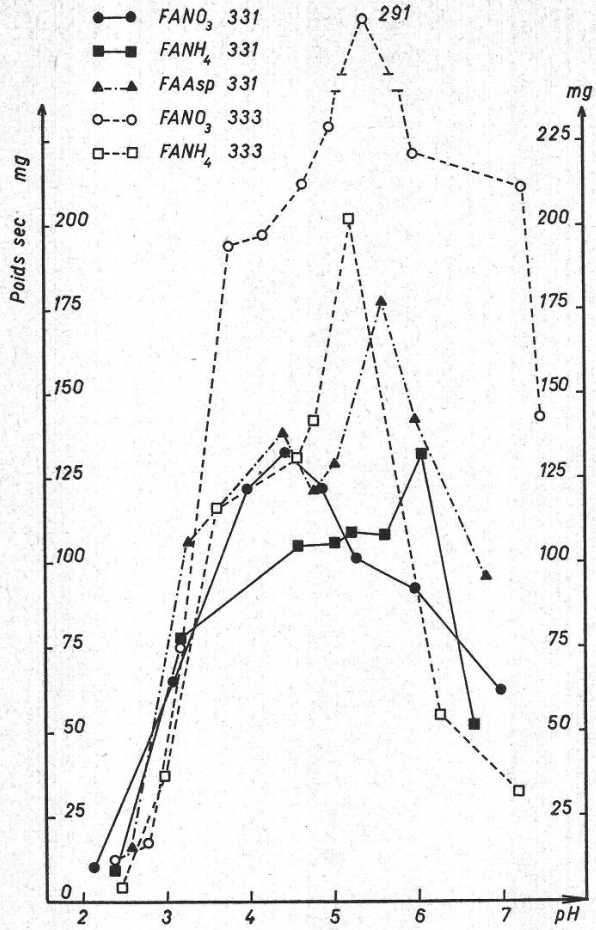


Figure 17

Croissance de *Gnomonia comari* Karst., souches 331 et 333, en fonction du pH initial. Milieux de base FA: 2,5 % amidon + 0,7 g N/l, sous forme de KNO_3 ($FANO_3$), de phosphate diammonique ($FANH_4$) ou d'asparagine (FAAsp)

Avec le milieu $FANO_3$, on constate une différence assez grande entre les souches 331 et 333, non seulement dans leur vitalité, fait qu'on retrouve au tableau 20, mais aussi dans leur pH optimum qui est de 4,45 pour la première souche et de 5,4 pour la seconde. Les pH finaux, par contre, sont très semblables et offrent une très grande régularité, oscillant entre 4,2 et 4,9 pour des pH initiaux compris entre 3,0 et 7,5.

En milieu $FANH_4$, la différence de vitalité entre les deux souches est moins marquée. Le pH initial optimum est de 6,10 pour la souche 331 et de 5,25 pour la culture 333. Les deux souches se comportent de manière très semblable en ce qui concerne les pH finaux qui ne varient qu'entre 2,75 et 3,25 lorsque les pH initiaux sont compris entre 3,0 et 5,0. Toutefois, dès que le pH initial dépasse l'optimum de croissance, le pH final monte en flèche et atteint des valeurs proches de 7,0.

Avec le milieu à l'asparagine, la courbe de croissance en fonction du pH initial présente deux optima. Le premier, à 4,10, n'est statistiquement pas assuré, toutefois, il correspond à l'optimum de la culture 331 en milieu $FANO_3$. Le second point optimum, mieux marqué, se situe à 5,6. La courbe des pH finaux diffère sensiblement de celle des milieux $FANO_3$ et $FANH_4$. Elle se rapproche de celle du milieu $FANO_3$ pour ce qui est des pH initiaux compris entre 2,5 et 6,0. Toutefois, il n'y a pas de palier marqué pour les valeurs initiales de 4,0 à 7,0. Comme la courbe de croissance,

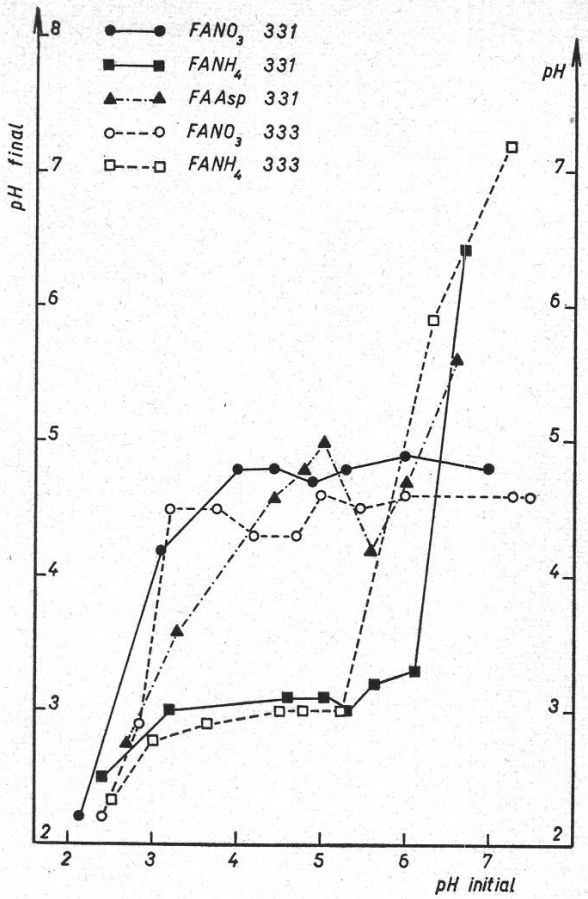


Figure 18

Influence du pH initial sur le pH final de cultures de *Gnomonia comari* Karst., souches 331 et 333. Milieux de base: FA: 2,5 % d'amidon + 0,7 g N/l, sous forme de KNO_3 ($FANO_3$), de phosphate diammonique ($FANH_4$) ou d'asparagine (FAAsp)

la courbe des pH finaux présente deux optima. Le premier optimum, pour le pH final, correspond au minimum, situé entre les deux optima, de la courbe des poids. A partir du pH initial optimum de 5,6, la croissance diminue très rapidement alors que le pH final augmente, phénomène déjà constaté avec le milieu $FANH_4$.

Le champignon paraît être en mesure de modifier le pH initial pour le ramener à des valeurs favorables à sa croissance. Cet effet tampon semble s'exercer sur les pH initiaux compris entre 3,0 et 7,0 pour le milieu $FANO_3$, entre 3,0 et 5,5 pour le milieu $FANH_4$. Cette action ne se remarque pas avec le milieu à l'asparagine.

Dans son étude de l'influence du pH initial sur le développement de *Gäumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier, champignon proche du genre *Gnomonia*, Gindrat (1965) obtient une croissance optimale avec un pH initial de 5,5 en utilisant un milieu à base de 2 % de saccharose et 0,212 g N par litre sous forme de KNO_3 ou d'asparagine. Les poids des récoltes sont jugés suffisants lorsque les pH initiaux sont compris entre 4,8 et 6,8 pour les milieux au KNO_3 et entre 3,9 et 7,1 avec l'asparagine. Cet auteur signale encore que ses résultats diffèrent notablement de ceux d'autres chercheurs et il émet l'hypothèse de races physiologiques ou plutôt de groupes physiologiques à pH optimaux caractéristiques. Cette dernière hypothèse pourrait aussi être retenue pour *Gnomonia comari* Karst., étant donné les différences que nous constatons entre les souches 331 et 333 (fig. 17).

Tableau 14

Influence du pH initial sur la fructification de *Gnomonia comari* Karst., souches 331 et 333 et analyse statistique des poids de mycélium récolté

Milieux	Souches	PDS P 0,05	pH initiaux et aptitude à la fructification
$FANO_3$	331	16,0	2,15 · 3,10 · 4,00 · 4,45 · 4,90 · 5,30 · 6,00 · 7,00 · 0 0 +++ +++ +++ +++ +++ +++
$FANH_4$	331	7,0	2,40 · 3,20 · 4,60 · 5,05 · 5,25 · 5,65 · 6,10 · 6,70 · 0 0 ++ +++ +++ +++ +++ 0
FAAsp.	331	19,2	2,70 · 3,30 · 4,45 · 4,80 · 5,05 · 5,60 · 6,00 · 6,85 · 0 ++ +++ ++++ ++++ ++++ ++++ 0
$FANO_3$	333	18,2	2,40 · 2,85 · 3,20 · 3,75 · 4,20 · 4,70 · 5,00 · 5,45 · 6,00 · 7,30 · 7,50 · 0 0 ++ +++ +++ +++ +++ +++ ++++ +++ +++
$FANH_4$	333	9,8	2,45 · 3,00 · 3,65 · 4,55 · 4,80 · 5,25 · 6,30 · 7,20 0 0 0 + + + + 0

Les récoltes correspondant aux pH initiaux réunis par une accolade ne sont significativement pas différentes au seuil de P 0,05

Henriksson et Morgan-Jones (1951) ont étudié le comportement en milieu à l'extrait de malt, de *Gnomonia intermedia* Rehm isolé de *Betula pubescens* Ehrh. et de *Gnomonia vulgaris* Ces. et de Not. isolé de *Corylus avellana* L. L'optimum de croissance se situe à un pH initial de 4,3 pour la première espèce et vers 5,7 pour la seconde. Ces chiffres sont proches de ceux obtenus pour *Gnomonia comari* Karst.

D. Mode d'inoculation

Pour tous nos essais in vitro, en milieu liquide, l'inoculation des cultures s'effectue selon la méthode décrite au chapitre VI. Elle apporte entre 22850 et 28600 spores par erlenmeyer.

Dans le but de vérifier si la quantité des spores introduites dans le milieu de culture influence notablement le poids du mycélium développé, nous avons procédé à l'essai ci-après en utilisant la souche 331 et le milieu $FANO_3$ (2,5 % amidon + 0,7 g/l d'azote nitrique + 500 γ/l d'aneurine).

La suspension de conidies utilisée contient 10000000 spores par cm^3. A raison d'une goutte de cette suspension par erlenmeyer, soit $^1/_{35}$ cm^3, cela représente quelque 285700 spores par flacon. Par dilutions successives, nous obtenons des inocula apportant 28750, 2850, 285 et 28 spores par erlenmeyer. En plus, on prépare une suspension très concentrée amenant 1600000 spores par flacon. Enfin, à titre comparatif, on inocule une série d'erlenmeyers avec un fragment de mycélium prélevé avec un emporte-pièce (environ 0,62 cm^3) dans une culture en boîte de Petri sur agar malté (2 % extrait de malt), âgée de 8 jours. Il y a 5 répétitions par mode d'inoculation. Les résultats sont consignés au tableau 15.

Tableau 15

Influence du mode d'inoculation sur la croissance de *Gnomonia comari* Karst., souche 331. Milieu de culture: $FANO_3$. Cultures non agitées

Inoculum par erlenmeyer	Mycélium récolté poids sec en mg	Fructifications (pycnides)	pH final
1 600 000 spores	171,5	++++	4,60—4,70
285 700 spores	144,7	++++	4,70—4,80
28 570 spores	143,1	++++	4,80—4,85
2 850 spores	111,8	++++	4,75—4,80
285 spores	75,8	++	4,85
28 spores	71,6	+	4,85—4,90
Fragment de mycélium	37,0	0	4,75—4,85
PDS	P 0,05 = 14,4	—	—

Les chiffres du tableau 15 montrent que la densité des spores de l'inoculum exerce une influence non négligeable sur le poids des récoltes de mycélium. Toutefois, cette influence ne se manifeste de manière notable que lorsque la concentration est 100 fois plus élevée ou 10 fois inférieure à la dose habituellement utilisée. Le palier qui subsiste entre ces deux limites nous laisse une certaine liberté de travail lors de la préparation des inocula.

On constate que le développement des pycnides est proportionnel à celui du mycélium. Quant au pH final, en milieu $FANO_3$, il reste très stable, avec une tendance à une légère acidification dans la série la plus favorable à la croissance du champignon.

E. Durée d'incubation

L'expérimentation est réalisée avec la souche 331. Les milieux de culture sont établis à partir de la formule minérale de base F additionnée de 500 γ/1 d'aneurine. La dose des sources de carbone est fixée à 2,5 % et celle d'azote à 0,7 g N par litre. Les milieux comparés sont:

$FANO_3$: amidon Nordux Standard + KNO_3
$FANH_4$: amidon Nordux Standard + $(NH_4)_2\ HPO_4$
$FSNO_3$: D-saccharose + KNO_3

Les milieux ne sont pas tamponnés. Le pH initial du milieu $FANH_4$ est abaissé de 7,2 à 5,35 par adjonction de H_2SO_4 dilué. Les pH initiaux donnés au jour de l'inoculation des milieux (o) sont mesurés avant la stérilisation à la vapeur. Les résultats de cette expérimentation sont représentés graphiquement à la figure 19.

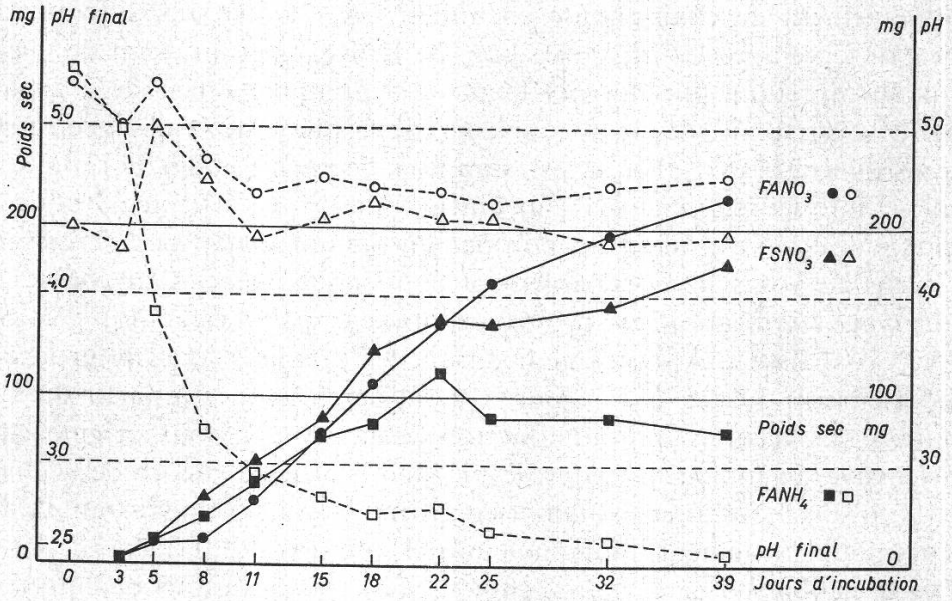


Figure 19

Croissance de *Gnomonia comari* Karst., souche 331, et pH finaux, en fonction de la durée d'incubation et des milieurx de cultures: $FANO_3$, $FANH_4$ et $FSNO_3$

Analyse statistique:

$FANO_3$ PDS (P 0,05 = 15,6)
3·5·8·11·15·18·22·25·32·39 jours

$FANH_4$ PDS (P 0,05 = 8,5)
3·5·8·11·15·18·22·25·32·39 jours

$FSNO_3$ PDS (P 0,05 = 15,3)
3·5·8·11·15·18·22·25·32·39 jours

Le comportement de *Gnomonia comari* Karst. dans les deux milieux nitratés est très semblable. L'aspect de la croissance est conforme à ce que l'on observe d'ordinaire chez les autres champignons et présente trois stades de développement bien marqués: une phase initiale lente, de l'inoculation au 5e ou 8e jour, suivie d'une phase de croissance rapide s'étendant jusqu'au 22e–25e jour et enfin une phase de croissance plus lente, à partir du 22e jour en milieu $FSNO_3$ et du 25e jour en milieu $FANO_3$.

Jusqu'au 22e jour, la croissance du champignon est plus rapide en présence de saccharose qu'en présence d'amidon, ce qui correspond aux résultats relatés plus loin aux figures 20 et 21 pour une période d'incubation de 21 jours. A partir du 22e jour, c'est le contraire qui se produit, la croissance se poursuit en milieu $FANO_3$ alors qu'elle atteint un palier dans le milieu au saccharose.

Les pH finaux des deux milieux à base de KNO_3 sont peu différents et restent très stables dès le 8e jour et jusqu'à la fin de l'expérimentation. Les valeurs du milieu $FANO_3$ étant régulièrement supérieures à celles du milieu $FSNO_3$. Nous avons vu précédemment qu'en milieu nitrique, les pH finaux sont pratiquement invariables quelles que soient les modifications apportées au pH initial (fig. 18) ou à la dose d'azote (fig. 23).

Le comportement du champignon en milieu $FANH_4$ est très différent de ce que nous avons observé avec les milieux à base de KNO_3, tant au point de vue du développement du mycélium que des pH finaux. La première phase de croissance lente est courte. Elle est suivie, dès le 3e jour déjà, de la phase de croissance rapide qui se prolonge jusqu'au 22e jour. Toutefois, durant ce deuxième stade, la rapidité de développement est inférieure à celle des deux autres milieux. A partir du 23e jour, s'amorce la troisième phase qui est marquée, non par un ralentissement de la croissance, mais par une perte de poids liée probablement à un phénomène d'autolyse. Le pH du milieu qui, avant stérilisation, et après correction par quelques gouttes d'H_2SO_4 dilué, était de 5,35, s'abaisse très rapidement durant les premiers jours pour atteindre des valeurs inférieures à 3,0 dès le 11e jour. L'arrêt de croissance à partir du 22e jour et la diminution des récoltes qui suit ont très certainement pour origine cette acidification excessive du milieu. En effet, le pH final s'abaisse encore de 2,75 à 2,45 du 22e au 39e jour. Or, nous avons vu antérieurement que le développement de *Gnomonia comari* Karst. était fortement inhibé par un pH inférieur à 3,0 (fig. 17).

La durée d'incubation de 21 jours, choisie pour tous les essais de cultures in vitro relatés dans ce travail, se situe à la fin de la période de grande croissance du champignon.

Chapitre VIII

La nutrition carbonée

A. Influence de la nature de la source de carbone

Plusieurs essais sont organisés pour définir la valeur nutritive des principales sources de carbone. Ces essais sont entrepris avec l'espèce *Gnomonia comari* Karst., souche 331, cultivée en milieu liquide suivant la technique décrite au chapitre VI. Le milieu de base F contient 0,7 g/l d'azote sous forme de KNO_3 et 500 γ/l d'aneurine. Toutes les sources de carbone sont administrées à la concentration de 2,5 %, sauf certaines

substances, désignées par *, difficilement solubles ou rares, qui sont testées à la dose de 0,5 %. Pour établir une relation entre ces deux doses, l'amidon soluble (Nordux Siegfried), choisi comme standard, est utilisé aux doses de 0,5 et 2,5 %. Les résultats de l'essai principal, comportant 24 sources de carbone, sont représentés graphiquement à la figure 20.

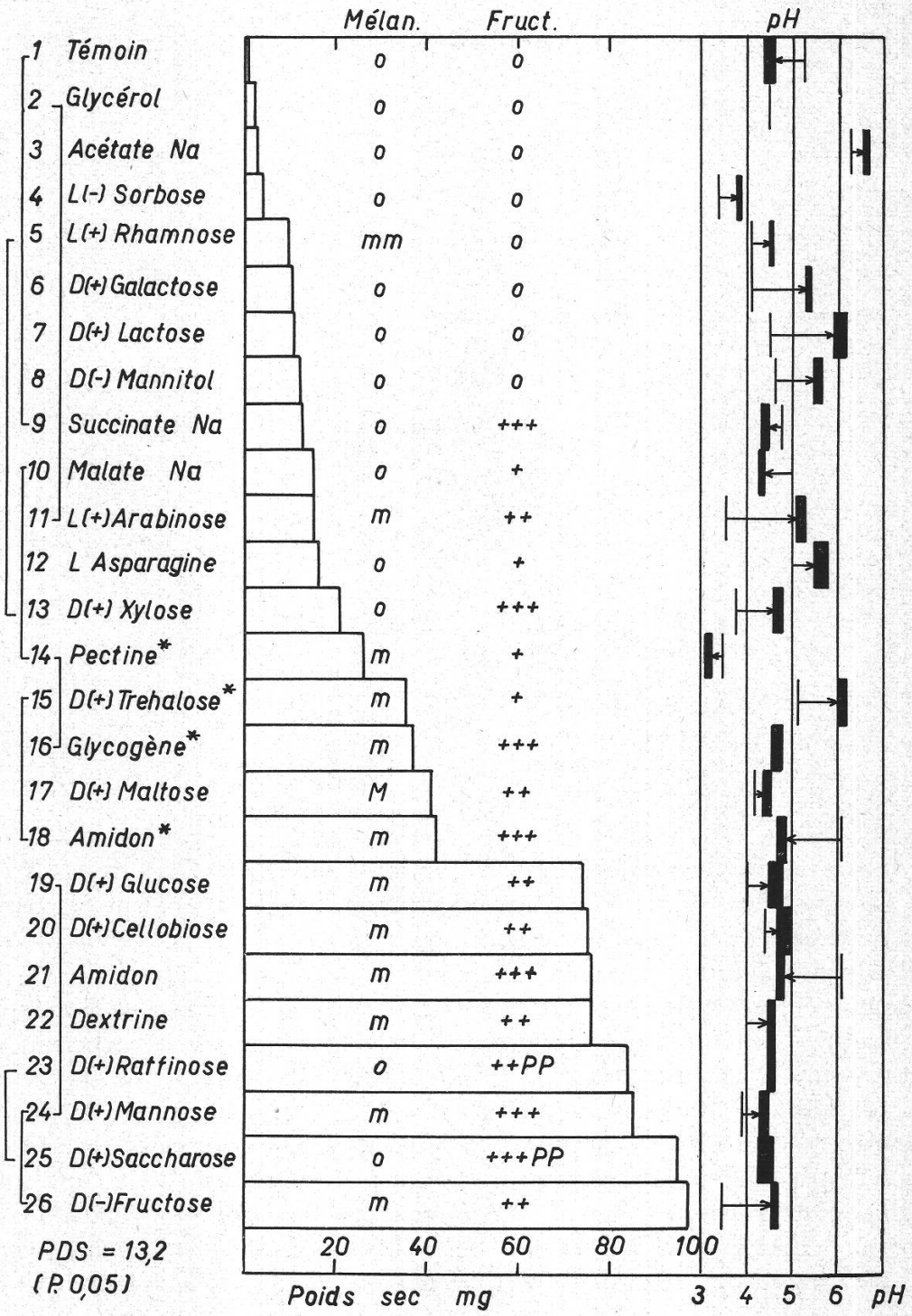


Figure 20

Croissance mycélienne, pH initiaux et finaux et aptitudes à la mélanisation et à la fructification de *Gnomonia comari* Karst., souche 331, en fonction de la nature de la source de carbone

En tenant compte des poids secs récoltés après 21 jours de croissance, nous pouvons répartir les substances comparées en cinq catégories:

Excellentes sources:	croissance supérieure au standard amidon Fructose Saccharose
Bonnes sources:	croissance égale au standard amidon Mannose Raffinose Dextrine Amidon Cellobiose Glucose Glycogène* Tréhalose*
Sources moyennes:	jusqu'à 50 % de la croissance du standard amidon Maltose Pectine*
Faibles sources:	entre 20 et 49 % de la croissance du standard amidon Xylose Asparagine Arabinose Malate de sodium
Sources insuffisantes:	moins de 20 % de la croissance du standard amidon Succinate de sodium Mannitol Lactose Rhamnose Sorbose Acétate de sodium Glycérol

La valeur nutritive du glycérol est très variable suivant les organismes (Cochrane, 1958; Tandon, 1962). Cet alcool n'est pratiquement pas utilisé par notre champignon et ne constitue qu'une pauvre nourriture pour *Gäumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier (Gindrat, 1965).

Avec les pentoses expérimentés, la croissance de *Gnomonia comari* Karst. est faible à insuffisante. Toutefois, dans un essai postérieur, le xylose à 2,5 % a permis un développement mycélien équivalent aux meilleurs hexoses (fig. 21), ce qui correspond mieux aux résultats obtenus par Gindrat (1965).

L'intérêt des hexoses est variable. Parmi tous les sucres comparés, le fructose est celui qui favorise le plus la croissance mycélienne. Sa supériorité sur les autres hexoses, et le glucose en particulier, est un phénomène peu fréquent. Il a cependant déjà été signalé par Leben et Keitt (1948) pour certains mutants de *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., par Lilly et Barnett (1951) pour *Helminthosporium sativum* Pamm. et al., *Sordaria fimicola* (Rob.) Ces. et de Not. et *Mucor ramannianus* Moeller et par Gindrat (1965) pour *Gäumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier. Le sorbose, le galactose et le mannitol sont mal utilisés par *Gnomonia comari* Karst. tant en ce qui concerne sa croissance que sa fructification.

Le sorbose est non seulement de valeur nutritive insuffisante pour les champignons (Cochrane, 1958; Gindrat, 1965; Kulik et Combs, 1967), mais il exerce encore un effet nettement inhibiteur sur la croissance (Barnett et Lilly, 1951) et la sporulation (Malca et Ullstrup, 1962) lorsqu'il est ajouté à d'autres sources de carbone.

Dans un essai organisé de manière identique à celui relaté à la figure 20, nous avons comparé la croissance et la fructification de *Gnomonia comari* Karst. en milieu standard $FANO_3$ (amidon et nitrate) et dans ce même milieu additionné de sorbose (tableau 16).

Tableau 16

Effet inhibiteur du L-sorbose sur la croissance de *Gnomonia comari* Karst.

Milieu	pH final	Mycélium mg poids sec	Pycnides
$FANO_3$	4,5—4,65	206,0	+++
$FANO_3$+L-sorbose 0,5 %	4,5—4,6	40,4	+++

Il ressort du tableau 16 que l'adjonction de L-sorbose au milieu à l'amidon inhibe très nettement la croissance du mycélium, mais ne semble pas influencer la production des pycnides.

En règle générale, les oligosaccharides sont bien utilisés par les champignons, à l'exception du lactose (Lilly et Barnett, 1951: Cochrane, 1958). *Gnomonia comari* Karst. réagit tout particulièrement aux oligosaccharides libérant du fructose par hydrolyse. Le saccharose et le raffinose sont non seulement parmi les meilleures sources carbonées pour la croissance mycélienne, mais elles sont encore les seules à induire la formation des fructifications sexuées, les périthèces.

Dans notre essai, la valeur nutritive du maltose, de provenance Fluka, est moyenne et significativement inférieure à celle de l'amidon. Le degré de pureté de ce disaccharide joue certainement un rôle important, car, avec du maltose issu de fabrications moins raffinées, le développement de notre champignon est semblable ou supérieur à celui que l'on obtient avec du glucose ou du saccharose.

Les polysaccharides permettent une bonne croissance à l'exception de l'inuline, qui, dans des essais complémentaires, se comporte comme une source de carbone insuffisante, fait déjà mentionné par Cochrane (1958) et Gindrat (1965).

Gnomonia comari Karst. est en mesure d'utiliser la cellulose comme seule source de carbone. Sur un papier filtre en cellulose pure, immergé par moitié dans le milieu minéral FNO_3, ce champignon développe un mycélium chétif et forme de nombreuses pycnides. Ce résultat confirme l'expérience relatée par Bolton (1954) qui fait pousser et fructifier cette même espèce sur du papier buvard déposé sur un milieu minéral gélosé.

Les sels sodiques des acides succinique et malique constituent une pauvre source de carbone. Dans deux essais parallèles, nous avons examiné la valeur, comme seul aliment carboné, des acétate, oxalate, lactate, malate, maléate, fumarate, tartrate, succinate et citrate de sodium. Aucun de ces sels n'a permis une croissance supérieure à celle enregistrée avec les succinate et malate mentionnés à la figure 20.

En présence de KNO_3, comme seul apport d'azote, les différentes substances carbonées mentionnées à la figure 20 n'ont que très peu d'influence sur la mélanisation du mycélium, à l'exception du rhamnose et du maltose.

En ce qui concerne la fructification, on note que les sources de carbone permettant une bonne croissance du mycélium favorisent aussi la formation des pycnides. Le succinate de sodium et le xylose, de faible valeur nutritive, sont cependant favorables à la conidiation. Les périthèces ne se développent qu'en présence de saccharose et de raffinose.

L'influence du pH initial sur la croissance a été étudiée aux pages 444 et suivantes. En ce qui concerne le pH final, on remarque que pour les meilleures sources carbonées, il reste compris entre 4 et 5.

B. Influence de la concentration de la source de carbone

Pour ce travail, nous avons utilisé la technique décrite au chapitre VI. Le milieu minéral de base FNO_3 contient 0,7 g d'azote nitrique et 500 γ d'aneurine par litre. Les substances sont administrées aux doses de 0,1–0,5–1,0–2,5–5,0 et 10 %. Dans une

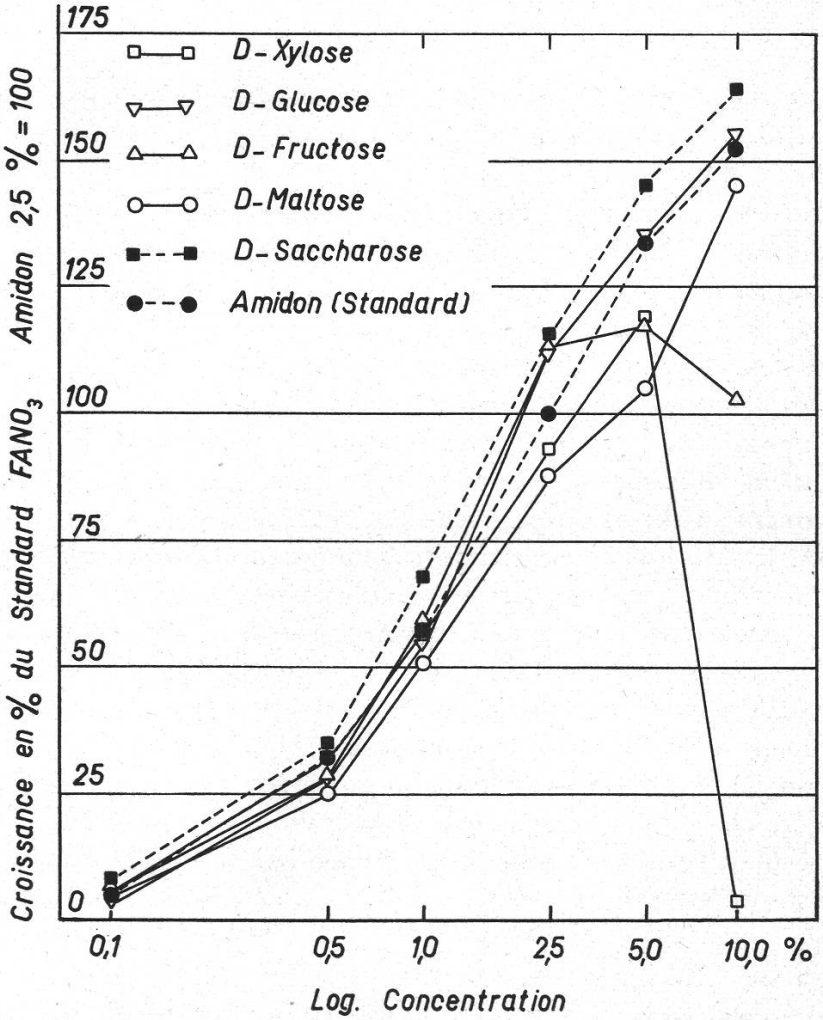


Figure 21

Croissance du mycélium de *Gnomonia comari* Karst., souche 331, en fonction de la concentration de la source de carbone

première série, nous comparons les sources suivantes: D-xylose, D-glucose, D-fructose et D-maltose. On y ajoute encore l'amidon à 2,5 % pour faciliter la comparaison avec la deuxième série qui comprend le D-saccharose et l'amidon. Les résultats ne sont pas donnés en valeurs absolues, mais en pour-cent des poids obtenus par l'amidon à 2,5 %, choisi comme standard. Ils sont représentés graphiquement à la figure 21.

L'analyse statistique des résultats nous apporte les compléments suivants:

- Pour chaque source carbonée, les différences de croissance entre les doses sont significatives au seuil de P 0,05, sauf, dans le cas du fructose, entre 2,5 et 5,0 %.
- La comparaison entre les substances étudiées n'est possible que dans le cadre de la même série. Dans le schéma ci-après, les préparations réunies par une accolade ne sont significativement pas différentes au seuil de P 0,05.

	Série I	*Série II*
	PDS (P 0,05 = 21,2)	PDS (P 0,05 = 22,7)
Doses:	0,1—0,5—1,0 %	
	maltose—glucose—fructose—xylose	amidon—saccharose
Dose:	2,5 %	
	maltose—xylose—amidon—glucose—fructose	amidon—saccharose
Dose:	5,0 %	
	maltose—fructose—xylose—glucose	amidon—saccharose
Dose:	10,0 %	
	xylose—fructose—maltose—glucose	amidon—saccharose

Dans l'ensemble, la croissance du mycélium de *Gnomonia comari* Karst. est très semblable avec les six substances comparées, pour les doses de 0,1 à 1,0 %. Les différences n'apparaissent qu'aux concentrations égales ou supérieures à 2,5 %. A la dose de 2,5 %, l'amidon donne des valeurs qui diffèrent de celles obtenues avec le maltose, d'une part, et les glucose, fructose et saccharose, d'autre part, ce qui correspond bien aux résultats présentés à la figure 20.

A partir de 5 %, on note un fléchissement de la croissance pour le xylose et le fructose. Au-dessus de 5 %, les poids des récoltes doivent être considérés avec réserves. En effet, lors de la récolte du mycélium sur papier filtre, une partie de la source carbonée non utilisée par le champignon est retenue par le filtre. C'est tout particulièrement le cas avec le maltose et l'amidon.

L'optimum de la concentration de la source de carbone se situe donc entre 2,5 et 5,0 %. En dessous de 2,5 %, la croissance du champignon baisse rapidement et si l'on dépasse 5 %, on enregistre déjà un fléchissement de la croissance pour certaines sources carbonées ou alors, on court le risque d'erreurs dues à la rétention par le papier filtre de substances carbonées non utilisées par le champignon.

Dans une même étude, conduite avec *Gäumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier, Gindrat (1965) établit l'optimum de croissance à 4 % pour le glucose. Bolton (1954) compare le développement de *Gnomonia comari* Karst. cultivé sur des milieux

de Czapek gélosés où le saccharose est remplacé par de la pectine, de l'amidon, de la cellulose ou du glucose. La croissance est mesurée en prenant le diamètre de la surface colonisée par le champignon. Ces expériences indiquent que la poussée du mycélium, le nombre des pycnides et des périthèces sont en constante augmentation entre 0,001 et 50,0 % pour la pectine, l'amidon et la cellulose. Par contre, avec le glucose, le développement du mycélium n'est en augmentation que jusqu'à 0,25 %, pour redescendre ensuite et atteindre presque 0 à la dose de 50 %. La courbe établie pour la formation des pycnides est semblable à la précédente, avec comme points cardinaux: min. 0,001 %; opt. 0,5 % et max. 10 %. La formation des périthèces va en diminuant avec l'augmentation de la concentration en glucose, pour devenir nulle vers 10 %.

Dans nos propres essais en milieu liquide, l'accroissement du nombre des pycnides suit, pour les six sources de carbone, la progression du poids du mycélium. Quant aux périthèces, ils n'apparaissent qu'en présence de saccharose. Leur nombre s'accroît avec la concentration en sucre du milieu.

Chapitre IX

La nutrition azotée

A. Influence de la nature de la source d'azote

Les essais in vitro sont entrepris avec *Gnomonia comari* Karst., souche 331, selon la méthode décrite au chapitre VI. Le milieu minéral de base F contient 500 γ/l d'aneurine. Toutes les préparations sont comparées à équivalence d'azote, soit 0,7 g N par litre. L'essai est répété avec trois sources de carbone: amidon 2,5 %, D-saccharose 2,5 % et D-glucose 2,5 %. Le pH initial, avant stérilisation, est ramené à une valeur proche de 5 par adjonction de NaOH ou de H_2SO_4 dilués. Il y a quatre répétitions par milieu.

Les résultats de ces trois essais sont rapportés en valeur absolue au tableau 17. Pour permettre la comparaison entre les sources de carbone, nous présentons, à la figure 22, les résultats en pour-cent du standard amidon-nitrate ($FANO_3$) qui est incorporé aux trois essais. Nous ajoutons encore à la figure 22 les données obtenues avec les substances azotées qui manquent au tableau 17 et qui sont testées dans un quatrième essai complémentaire.

Au tableau 18 figurent les valeurs des pH initiaux, avant stérilisation, et les limites inférieure et supérieure des pH finaux des milieux comparés.

L'analyse statistique des trois essais principaux est résumée dans les schémas ci-contre. Elle ne se rapporte qu'aux substances testées dans une même série. Elle n'englobe donc pas les milieux azotés étudiés dans l'essai complémentaire. Les sources d'azote réunies par une accolade ne sont significativement pas différentes au seuil de P 0,05. Les chiffres se rapportent aux numéros d'ordre des sources azotées.

Tableau 17

Croissance de *Gnomonia comari* Karst., souche 331, en fonction de la source d'azote (0,7 g N/1) en présence d'amidon, de D-saccharose et de D-glucose. Poids du mycélium sec en mg

		Poids moyen du mycélium (mg)			Fructifications, mélanisation		
N° d'ordre	Source d'azote	Amidon	Saccharose	Glucose	Amidon	Saccharose	Glucose
1	Sans azote	35	30	2	+	0	0m
2	Na NO_2	0	0	0	0	0	0
3	K NO_3	144	152	72	++++	++++P	+m
4	NH_4 NO_3	95	91	99	+++mm	++	+m
5	$(NH_4)_2$ H PO_4	148	206	214	++++m	+m	++++m
6	Tartrate d'ammonium	153	190	201	++++	++++m	++
7	Citrate d'ammonium	185	270	272	++++	++++	++++
8	Urée	28	29	32	0	0	0
9	Hydrolysat caséine	235	349	188	++++mm	++++m	++mm
10	Peptone	186	336	262	++M	+++m	+++m
11	DL-Acide aspartique	145	229	139	++++m	+++m	+mm
12	L-Acide glutamique	162	285	143	++++m	++++m	++mm
13	L-Asparagine	198	243	191	++++	++++m	++++mm
14	L-Glutamine	16	—	21	0m	—	0m
15	L-Arginine	160	274	189	++++	++++m	++++
16	DL-Histidine	90	155	134	+m	+m	++++
17	Glycine	102	252	98	0	+	++
18	DL-Alanine	81	247	72	++m	++m	++
19	DL-Valine	51	64	32	0mm	0m	0M
20	DL-Leucine	91	91	61	0MM	0M	0M
21	DL-Phénylalanine	61	147	—	0mm	++m	—
22	DL-Sérine	129	317	127	+++m	+	+m
23	DL-Thréonine	81	—	89	++m	—	+
24	DL-Tryptophane	3	—	7	0	—	0
25	L-Tyrosine	141	183	36	++++M	++++m	++M
26	L-Proline	192	227	156	++++	+++	++++m
27	L-Méthionine	92	110	93	+++m	++m	+M
28	L-Cystéine	0	—	—	0	—	—
	$FANO_3$ (Standard Amidon)	144	177	142			

Amidon PDS (P 0,05 = 12,8)

8·1·19·21·18·16·20·27·4·17·22·25·3·11·5·6·15·12·7·10·26·13·9

D-saccharose PDS (P 0,05 = 28,1)

8·1·19·20·4·27·21·3·16·25·6·5·26·11·13·18·17·7·15·12·22·10·9

D-glucose PDS (P 0,05 = 24,0)

1·24·14·8·19·25·20·18·3·23·27·17·4·22·16·11·12·26·9·15·13·6·5·10·7·

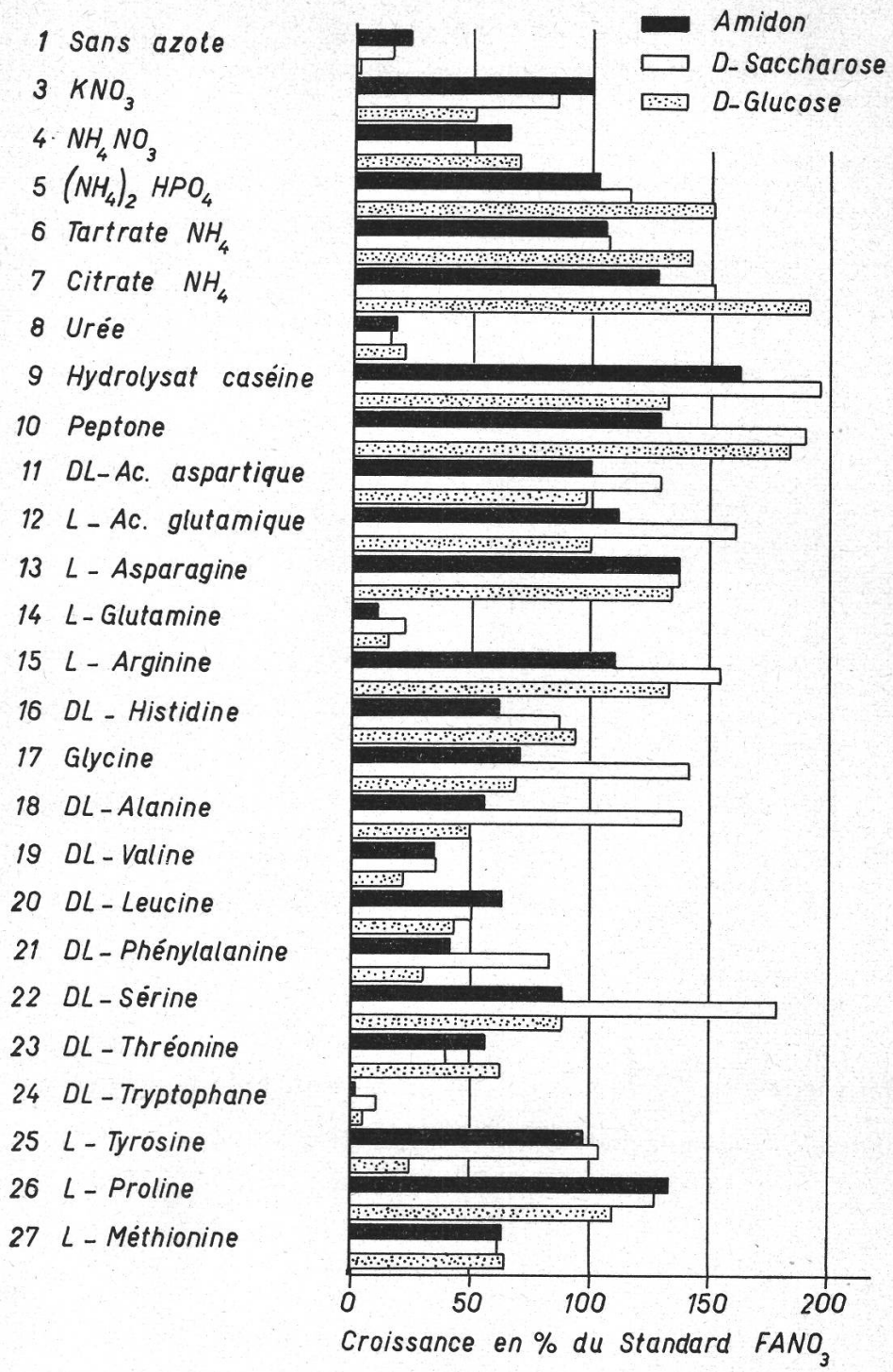


Figure 22

Croissance de *Gnomonia comari* Karst., souche 331, en fonction de la source d'azote, en présence d'amidon, de D-saccharose et de D-glucose. Les poids sont exprimés en pour-cent du standard amidon-nitrate ($FANO_3$)

Tableau 18

Valeurs des pH initiaux et finaux des milieux azotés rapportés à la figure 22

N° d'ordre	Source d'azote	Amidon pH initiaux	Amidon pH finaux	Saccharose pH initiaux	Saccharose pH finaux	Glucose pH initiaux	Glucose pH finaux
1	Sans azote	5,1	4,3—4,4	4,3	3,9—4,1	4,3	4,1—4,2
2	Na NO_2	5,4	5,9—6,0	5,3	5,9—6,0	5,3	6,0—6,1
3	K NO_3	5,2	4,7—4,8	4,4	4,3—4,5	4,3	5,5—5,8
4	NH_4 NO_3	5,2	2,5—2,6	4,3	2,6—2,7	4,3	2,5—2,7
5	(NH_4) HPO_4	*5,8	3,2—3,3	*4,7	2,8—2,9	*5,5	2,5—2,6
6	Tartrate d'ammonium	5,7	4,4—4,5	*4,6	4,0—4,1	5,5	3,8—4,2
7	Citrate NH_4	5,0	4,4—4,6	*4,6	3,8—4,1	5,0	4,0—4,2
8	Urée	5,0	8,7—8,8	4,3	8,6—8,7	4,3	8,8—8,9
9	Hydrolysat caséine	5,2	3,7—3,8	*4,1	3,3—3,4	5,1	4,0—4,2
10	Peptone	5,6	4,7—4,8	*4,4	4,3—4,5	5,1	4,0—4,2
11	DL-Acide aspartique	4,4*	5,0—5,1	4,3*	4,8—4,9	4,3*	4,3—4,5
12	L-Acide glutamique	4,4*	4,8—4,9	4,2*	4,7—4,8	4,3*	4,3—4,4
13	L-Asparagine	5,0	3,8—3,9	4,3	4,3—4,5	4,3	3,7—4,0
14	L-Glutamine	4,8	5,0—5,3	4,5	4,0—4,2	4,7	4,6—5,1
15	L-Arginine	5,0	3,2—3,3	4,3	3.1—3,6	4,5	2,9—3,0
16	DL-Histidine	6,4	5,3—5,7	*4,4	3,5—3,6	5,8	4,7—4,9
17	Glycine	5,2	4,1—4,2	*4,2	4,4—4,5	4,9	3,8—3,9
18	DL-Alanine	5,2	4,2—4,3	4,7	3,9—4,0	4,8	3,9—4,0
19	DL-Valine	5,2	4,2—4,3	4,7	3,6—3,7	4,8	3,9—4,0
20	DL-Leucine	5,2	4,2—4,3	4,7	3,9—4,0	4,9	3,8—3,9
21	DL-Phénylalanine	5,2	4,2—4,3	4,7	3,7—3,8	4,9	4,0—4,1
22	DL-Sérine	5,2	3,9—4,0	4,7	4,3—4,4	4,7	3,7—3,8
23	DL-Thréonine	4,9	3,9—4,0	4,8	3,6—3,7	4,7	3,8—3,9
24	DL-Tryptophane	4,9	5,6—5,7	5,0	4,0—4,4	4,7	4,5—4,7
25	L-Tyrosine	5,2	3,6—3,7	4,6	3,5—3,7	4,4	3,7—3,8
26	L-Proline	5,2	3,8	4,6	3,7—3,8	4,6	3,7—3,9
27	L-Méthionine	5,3	3,8	4,7	3,4—3,5	4,7	3,6—3,7
28	L-Cystéine	5,2	3,6—3,7	—	—	—	—

* pH corrigé par adjonction de H_2SO_4 (*5,8) ou de NaOH (4,4*).

En comparant les poids secs récoltés après 21 jours de croissance, nous pouvons classer, pour *Gnomonia comari* Karst., les sources d'azote en 4 catégories: excellente, bonne, moyenne ou faible. Cette classification dépend encore de la nature de la source carbonée incorporée au milieu: amidon, saccharose ou glucose.

Excellentes sources: croissance égale ou supérieure à 150 % du standard $FANO_3$

Amidon	*Saccharose*	*Glucose*
Hydrolysat de caséine	Hydrolysat de caséine	Citrate d'NH_4
	Peptone	Peptone
	Sérine	$(NH_4)_2$ HPO_4
	Ac. glutamique	
	Arginine	
	Citrate d'NH_4	

Bonnes sources: croissance entre 100 et 149 % du standard $FANO_3$

Amidon	*Saccharose*	*Glucose*
Asparagine	Glycine	Tartrate d'NH_4
Proline	Alanine	Asparagine
Peptone	Asparagine	Arginine
Citrate d'NH_4	Ac. aspartique	Hydrolysat de caséine
Ac. glutamique	Proline	Proline
Arginine	$(NH_4)_2$ HPO_4	Ac. glutamique
Tartrate d'NH_4	Tartrate d'NH_4	
$(NH_4)_2$ HPO_4	Tyrosine	
Ac. aspartique		
KNO_3		

Sources moyennes: croissance entre 50 et 99 % du standard $FANO_3$

Amidon	*Saccharose*	*Glucose*
Tyrosine	Histidine	Ac. aspartique
Sérine	KNO_3	Histidine
Glycine	Phénylalanine	Sérine
NH_4NO_3	Méthionine	NH_4NO_3
Méthionine	NH_4NO_3	Glycine
Leucine	Leucine	Méthionine
Histidine		Thréonine
Alanine		KNO_3
Thréonine		Alanine

Faibles sources: croissance inférieure à 50 % du standard $FANO_3$

Amidon	*Saccharose*	*Glucose*
Phénylalanine	Thréonine	Leucine
Valine	Valine	Phénylalanine
Témoin sans azote	Glutamine	Tyrosine
Urée	Témoin sans azote	Valine
Glutamine	Urée	Urée
Tryptophane	Tryptophane	Glutamine
$NaNO_2$	$NaNO_2$	Tryptophane
Cystéine	Cystéine	Témoin sans azote
		$NaNO_2$
		Cystéine

On doit constater que, pour une même source d'azote, la croissance peut être très variable suivant qu'on l'associe à de l'amidon, du saccharose ou du glucose. D'une manière générale, les poids des récoltes de mycélium sont les plus élevés avec le saccharose. L'amidon n'est supérieur au saccharose qu'en présence de nitrates, de leucine, de proline et de méthionine. Le glucose ne se montre supérieur au saccharose et à l'amidon que lorsqu'il accompagne les sels minéraux ou organiques d'ammonium, ou en mélange avec l'histidine ou la thréonine.

Dans les erlenmeyers témoins, sans adjonction d'azote, on constate néanmoins une certaine croissance, faible avec l'amidon et le saccharose, négligeable avec le glucose. Les récoltes étant inégales entre les trois sources de carbone, nous pensons que la contamination azotée des milieux ne provient ni de l'inoculum, ni d'un dégagement d'ammoniaque dans l'autoclave lors de la stérilisation, mais plutôt d'impuretés azotées contenues dans les sources carbonées.

Les nitrites sont généralement toxiques pour les champignons. Cochrane (1958) et Nicholas (1965) ne mentionnent guère que 5 espèces capables d'utiliser l'azote

nitreux. D'après ces deux auteurs, la toxicité des nitrites est davantage fonction de la concentration en ions H^+ que de la toxicité des ions NO_2, étant donné que la croissance est possible en milieu alcalin. *Gnomonia comari* Karst. ne se développe pas en présence de $NaNO_2$. Il se comporte donc de la même manière que la grande majorité des espèces étudiées récemment: *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (Tandon et Chaudra, 1962), *Alternaria solani* (Ell. et Mart.) Sor. (Nagaraj Rao et Apparao, 1965), *Chaetomium* sp., *Myrothecium verrucaria* Tode, *Pestalotia gracilis* Kleb. et *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quél. (Yusef et Allam, 1967).

La croissance du mycélium est assez variable en présence de KNO_3. Dans cet essai, l'amidon est meilleur que le saccharose et le glucose, alors que nous constatons le contraire aux figures 20 et 21. Nous n'avons pas d'explication à donner pour cette différence. Nous envisageons plusieurs hypothèses: époque des essais (deux ans séparent les deux expériences), variations dans les conditions de stérilisation ou d'incubation des milieux, ou encore, dans le degré de pureté des sources de carbone ou d'azote.

Les résultats présentés à la figure 22 montrent que l'azote ammoniacal est mieux utilisé que l'azote nitrique, quelle que soit la source carbonée ajoutée. Les différences de croissance sont significatives, sauf dans la série amidon, entre le nitrate de potassium et les tartrate et phosphate d'ammonium. Dans les trois séries, les différences sont significatives entre KNO_3 et NH_4NO_3. Il n'y a pas de différence entre le phosphate diammonique et le tartrate d'ammonium. Par contre, ces deux derniers sels sont significativement différents du NH_4NO_3 d'une part, et du citrate d'ammonium, d'autre part.

Dans d'autres essais parallèles, il est apparu que l'utilisation de l'azote ammoniacal sous forme de nitrate ou de phosphate diammonique varie énormément. L'assimilation du cation NH_4^+ a pour effet une acidification rapide et marquée du milieu (Morton et Macmillan, 1954; Cochrane, 1958). Suivant le pH initial et probablement aussi les conditions de stérilisation et d'incubation, l'acidification du milieu peut être plus ou moins intense et atteindre plus ou moin rapidement la limite d'inhibition de la croissance du mycélium. Le faible développement de notre champignon dans les milieux à base de NH_4NO_3 peut s'expliquer par l'utilisation préférentielle du cation NH_4^+, ce qui a pour conséquence, une chute sensible du pH (tableau 18). A la lecture des tableaux 17 et 18, on constate que, parmi les sels d'ammonium, ce sont justement es milieux à base de NH_4NO_3, où les pH finaux sont les plus bas, qui accusent la plus faible croissance. En parcourant la littérature consacrée à l'assimilation de l'azote ammoniacal, on est frappé par l'inconstance des résultats pour l'utilisation des divers sels d'ammonium. Malheureusement, il est rarement fait état des pH finaux des cultures. Dans les quelques cas où cette précieuse indication est donnée, la faible croissance mycélienne enregistrée est liée à une forte acidification du milieu (Nagaraj Rao et Apparao. 1965; Sorensen et Hesseltine, 1966; Kraft et Erwin, 1967).

L'urée est mal utilisée par *Gnomonia comari* Karst. D'après Cochrane (1958), les milieux à base de cette substance ne doivent pas être stérilisés par passage à l'autoclave, car, sous l'effet de la chaleur, l'urée libère de l'ammoniaque et rend ainsi le milieu très alcalin, voire toxique. C'est ce que nous constatons avec notre champignon. Sa mauvaise croissance, dans un milieu au pH compris entre 8,6 et 8,9, n'a probablement pas d'autre origine. La réaction des champignons au mode de stérilisation du milieu

de culture n'est cependant pas aussi simple que Cochrane (1958) le laisse supposer. Plusieurs souches de *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. se développent normalement sur un milieu à base d'urée, stérilisé à l'autoclave (Leben et Keitt, 1948). Avec cette même source d'azote, stérilisée à la chaleur, Yusef et Allam (1967) obtiennent une croissance normale pour *Chaetomium* sp. et *Pestalotia gracilis* Kleb., faible avec *Myrothecium verucaria* Tode et *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quél., nulle avec *Nigrospora oryzae* (Berk. et Br.) Petch. Après stérilisation par filtration d'un milieu avec urée comme seule source azotée, la croissance est normale avec *Ascobolus immersus* Pers. (Yu Sun, 1964) alors qu'elle est quasiment nulle avec cinq espèces de champignons, parasites de nématodes, appartenant aux genres *Arthrobotrys* et *Dactylaria* (Satchuthanathavale et Cooke, 1967).

Les acides aminés et amides, dans leurs formes L- et DL-, constituent généralement d'excellentes sources d'azote pour les champignons dont certains sont susceptibles d'être assimilés directement, sans transformation préalable et passage par la forme ammoniacale (Cochrane, 1958). Un très grand nombre de travaux ont déjà été entrepris dans le but de préciser leur valeur, en tant que seule source d'azote. Dans l'ensemble, le comportement de *Gnomonia comari* Karst. est assez semblable à celui de la majorité des champignons, de toutes classes, étudiés par les auteurs cités dans notre travail. En effet, nous retrouvons parmi les meilleures sources: l'asparagine, l'arginine, l'acide glutamique, la proline, la sérine, l'acide aspartique et la glycine, alors que la cystéine, le tryptophane, la glutamine et la valine figurent parmi celles qui sont généralement mal utilisées. Une telle classification doit cependant être considérée avec prudence car, comme nous l'enseigne le travail de Pelletier et Keitt (1954) avec *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., la valeur des acides aminés et des amides dépend largement du milieu de base, de la dose d'emploi et de la durée du temps de croissance.

Dans nos essais, l'acide glutamique permet un développement mycélien légèrement supérieur à celui de l'acide aspartique. Avec les amides de ces deux acides, c'est le contraire qui se produit et ceci pour les trois sources carbonées. Alors que l'asparagine favorise une croissance régulière, la glutamine est très mal utilisée et ceci indépendamment du mode de stérilisation du milieu (autoclave ou filtration). Dans les travaux consacrés à la nutrition azotée, la glutamine est rarement mentionnée. Cette amide, sous forme DL- ou L-, est aussi favorable que l'asparagine pour *Cladosporium fulvum* Cke. (Towther, 1964) et pour *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. (Ross, 1968). Kraft et Erwin (1967) relatent que le développement de *Pythium ultimum* Trow. est trois fois plus important avec la glutamine qu'avec l'asparagine alors qu'avec *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitz., c'est le contraire, l'asparagine étant six fois mieux utilisée que la glutamine. Enfin, Yu Sun (1964) récolte un poids mycélien huit à dix fois supérieur avec l'asparagine qu'avec la glutamine.

Les différences de croissance en fonction de la source de carbone sont assez surprenantes avec la glycine, l'alanine, la phénylalanine et la sérine. Dans ces quatre cas, le développement du mycélium est, avec le saccharose, le double de ce qu'il est en présence d'amidon ou de glucose.

Dans notre comparaison des sources d'azote, l'optimum de croissance est obtenu avec l'hydrolysat de caséine et la peptone, substances constituées d'un mélange des principaux acides aminés auxquels s'ajoutent encore des peptides pour la seconde. Nos résultats sont conformes à ceux obtenus par les chercheurs dont les travaux sont

cités dans ce chapitre, sauf en ce qui concerne *Ascobolus immersus* Pers., qui se développe huit fois moins avec l'hydrolysat de caséine qu'avec l'asparagine (Yu Sun, 1964).

L'influence de la nutrition azotée sur le développement des fructifications asexuées est manifeste (tableau 17). A quelques exceptions près, la conidiation est fonction du développement du mycélium. En effet, les sources d'azote les plus favorables à la production de conidies sont: l'asparagine, l'arginine, le citrate d'NH_4, la proline, l'hydrolysat de caséine, l'acide glutamique, le tartrate d'NH_4. La conidiation est nulle ou très limitée avec la cystéine, le $NaNO_2$, le tryptophane, la glutamine, l'urée, la valine, la leucine, la phénylalanine et la thréonine. Parmi les exceptions figurent la sérine et la glycine qui sont très peu favorables à la fructification alors que sur le plan de la croissance, elles sont classées dans les sources moyennes à excellentes.

Les fructifications sexuées, les périthèces n'apparaissent que dans le milieu associant le nitrate au saccharose.

La mélanisation du mycélium est très variable suivant les produits. Elle est la plus marquée avec la leucine, la tyrosine, la valine, la méthionine, la peptone et l'hydrolysat de caséine.

En comparant les tableaux 17 et 18, on note que la croissance de *Gnomonia comari* Karst. diminue très nettement lorsque le pH final monte au-dessus de 5,0. C'est particulièrement le cas pour l'urée, le $NaNO_2$ et partiellement pour la glutamine et le tryptophane.

B. Influence de la concentration de la source d'azote

Ces essais in vitro sont effectués avec *Gnomonia comari* Karst., souche 331, selon la technique décrite au chapitre VI. Au milieu minéral de base F, nous ajoutons 2,5 % d'amidon et 500 γ/l d'aneurine. Trois sources d'azote sont comparées: KNO_3, $(NH_4)_2HPO_4$ et asparagine. Dans la série avec le phosphate diammonique, le pH est abaissé à 5,5 par adjonction de H_2SO_4 dilué. Il y a 5 répétitions par milieu. La crois-

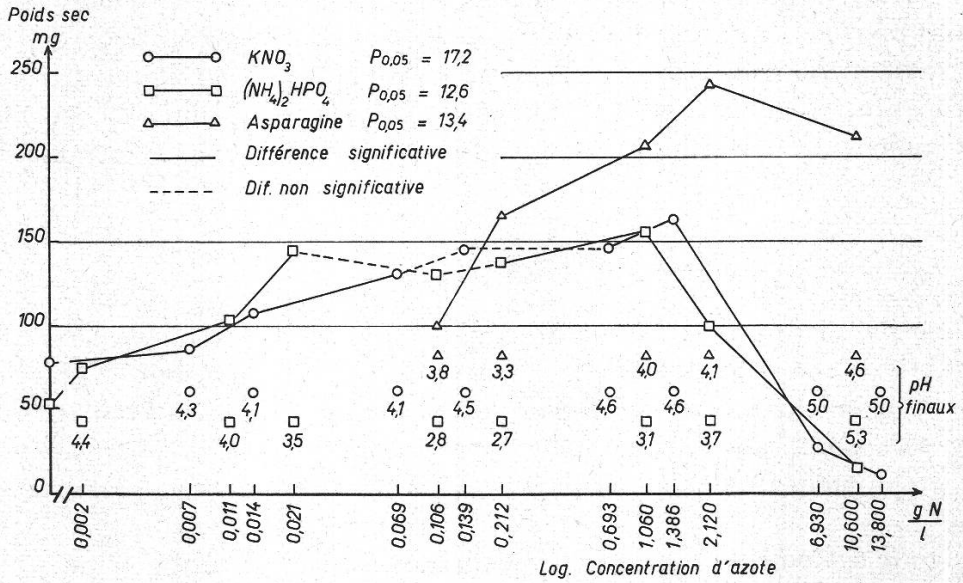


Figure 23

Croissance de *Gnomonia comari* Karst., souche 331, en fonction de la quantité d'azote donnée. Milieu de base: F + amidon 2,5 % + aneurine 500 γ/l

sance du mycélium, en fonction de la concentration des trois sources d'azote, est représentée graphiquement à la figure 23.

La dose de 0,7 g N/l retenue dans les autres essais est très proche de l'optimum. A cette concentration, les relations entre les poids du mycélium développé à partir des trois sources d'azote se présentent dans le même ordre qu'à la figure 22.

En présence d'amidon, les courbes de croissance avec l'azote ammoniacal ou nitrique sont pratiquement parallèles. Aux concentrations supérieures à 0,2 g N/l, le développement du mycélium s'avère nettement supérieur avec l'asparagine qu'avec les deux autres sources azotées. La dose optimale pour cette amide se situe vers 2 g N/l.

Le pH final n'est que peu modifié par la concentration, pour ce qui est du nitrate et de l'asparagine. Avec le phosphate diammonique par contre, on note une nette acidification du milieu aux doses les plus favorables à la croissance.

La concentration d'azote agit sur la conidiation de la même manière que sur la croissance. Le nombre des pycnides est d'autant plus grand que le poids du mycélium est plus élevé.

Dans son travail sur la nutrition de *Gäumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier, Gindrat (1965) obtient un optimum de croissance à la dose de 0,2 g N/l en utilisant du KNO_3 en présence de 2 % de glucose ou de saccharose. Avec l'asparagine et 2 % de glucose, l'optimum se situe à 2 g N/l, soit la même valeur que celle définie précédemment pour *Gnomonia comari* Karst.

Chapitre X

Exigences vitaminiques

Les recherches sur les besoins en vitamines de *Gnomonia comari* Karst. sont conduites en milieu liquide suivant la technique adoptée pour les essais précédents. Cependant, pour éviter au maximum les contaminations, la préparation de la verrerie est tout particulièrement soignée. Les erlenmeyers et les mesures sont traités au mélange sulfochromique puis rincés d'abord à l'eau échangée, puis à l'eau bidistillée. Tous les milieux sont stérilisés par passage à l'autoclave (120 °C pendant 15 à 20 minutes).

A. Etude qualitative

Dans une première série d'essais, nous avons utilisé les vitamines qui, selon Lilly et Barnett (1951) et Cochrane (1958), sont les plus importantes pour les champignons. Nous avons testé chaque vitamine d'abord séparément, puis en combinaisons. Les doses utilisées sont: amide de l'acide nicotinique (N) 500 γ/l; mésoinositol (M) 2000 γ/l; pyridoxine (P) 50 γ/l; riboflavine (R) 250 γ/l; biotine (B) 5 γ/l; aneurine (A) 500 γ/l.

Nous avons également employé en mélange standard* à raison d'un ml par litre de milieu et contenant par ml: mésoinositol 500 γ; pyridoxine 20 γ; riboflavine 100 γ; biotine 10 γ; aneurine 150 γ; panthoténate de Ca 20 γ; acide paraamino-benzoïque 50 γ; acide folique 5 γ; B_{12} 0,2 γ et niacine 20 γ.

Ces premiers essais sont réalisés avec la souche 331, à la température du laboratoire, dans des conditions de croissance peu favorables, ce qui explique les récoltes de mycélium relativement faibles. Au milieu de base FA (amidon 2,5 %), nous ajoutons du KNO_3 ($FANO_3$) ou de l'asparagine (FAAsp) à raison de 0,7 g N/l. Il y a 5 répétitions par milieu. Les résultats sont consignés au tableau 19.

Tableau 19

Influence des principales vitamines sur la croissance de *Gnomonia comari* Karst., souche 331. Milieu de base F+amidon 2,5 %+KNO_3 ou asparagine (0,7 g N/1)

Vitamines		Symboles	Poids du mycélium sec en mg		
			$FANO_3$ I	$FANO_3$ II	FAAsp III
Sans vitamine		O	31.4	18.9	32.2
Amide ac. nicotinique	500 γ/l	N	—	19.4	—
Mésoinositol	2000 γ/l	M	—	23.9	—
Pyridoxine	50 γ/l	P	—	19.7	30.8
Riboflavine	250 γ/l	R	29.4	—	—
Biotine	5 γ/l	B	27.0	—	34.7
Aneurine	500 γ/l	A	33.8	—	45.8
B+P		BP	—	—	34.7
A+P		AP	—	—	43.7
A+B		AB	37.8	33.8	45.0
A+B+P		ABP	—	32.6	46.6
A+B+M		ABM	—	33.1	—
A+B+N		ABN	—	28.3	—
Mélange Vit. Standard*		S	36.6	—	—
PDS P 0,05			9.7	2.6	3.2

* Composition: voir page 464
— non expérimenté

Analyse statistique:

I $FANO_3$ B·R·O·A·S·AB

II $FANO_3$ O·N·P·M·ABN·ABP·ABM·AB

III FAAsp P·O·B·BP·AP·AB·A·ABP

Cette première approche du problème des besoins vitaminiques de *Gnomonia comari* Karst. nous révèle l'intérêt primordial de l'aneurine. De toutes les vitamines comparées, c'est la seule à exercer une influence notable et régulière sur le développement du mycélium. Dans les trois essais, les meilleures récoltes proviennent toutes des milieux contenant de l'aneurine. L'augmentation de croissance qu'elle provoque est significative dans les séries II et III.

La biotine seule n'apporte aucune amélioration par rapport au témoin sans vitamine. En adjonction à l'aneurine, elle semble permettre une légère stimulation de croissance.

Le mélange standard de 10 vitamines n'améliore pas notablement la croissance par rapport à l'aneurine seule et il s'avère même légèrement inférieur à la combinaison aneurine + biotine.

Le mésoinositol utilisé seul est significativement plus favorable au développement du champignon que l'amide de l'acide nicotinique et la pyridoxine. En présence d'aneurine + biotine, cette action favorisante disparaît.

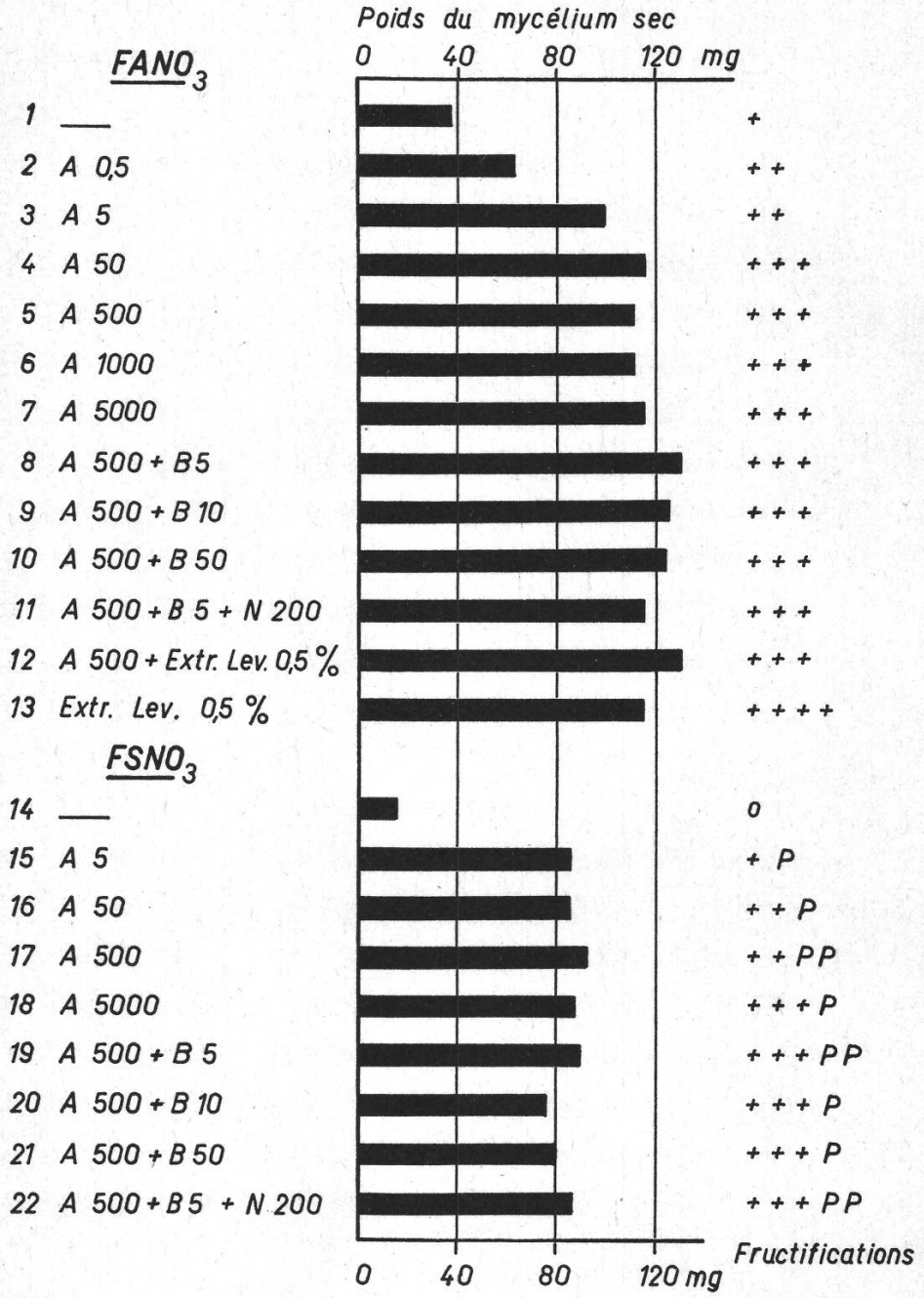


Figure 24

Croissance de *Gnomonia comari* Karst., souche 331, en fonction de la dose d'aneurine (A), de biotine (B) et en présence de l'amide de l'acide nicotinique (N) et d'extrait de levures Difco (Extr. Lev.). Doses des vitamines en γ/l. Milieux de base: $FANO_3$ = amidon-nitrate; $FSNO_3$ = saccharose-nitrate

L'amide de l'acide nicotinique, la pyridoxine et la riboflavine n'ont pas d'influence sur la croissance du champignon.

Les résultats ci-dessus rejoignent ceux obtenus par McOnie et Snyder (1966a) avec une souche américaine de *Gnomonia comari* Karst. En effet, dans leurs essais en milieu minéral glucosé, seule l'aneurine se montre indispensable. La biotine ou la pyridoxine seules ne se distinguent pas du témoin sans vitamine. L'inositol seul est légèrement supérieur aux deux précédents. En addition à l'aneurine, ces trois vitamines ne provoquent pas d'augmentaion de croissance.

B. Etude quantitative

Dans une deuxième série d'essais, nous avons recherché la dose optimale pour l'aneurine. Nous avons, à titre complémentaire, étudié l'intérêt de l'adjonction à cette vitamine, de biotine à diverses concentrations ainsi que de l'amide de l'acide nicotinique. Enfin, nous avons comparé de l'extrait de levures Difco, substance naturellement riche en vitamines.

Le milieu de base F + KNO_3 (0,7 g N/l) contient soit 2,5 % d'amidon ($FANO_3$) soit 2,5 % de D-saccharose ($FSNO_3$). Il y a 5 répétitions par milieu. Les résultats sont représentés graphiquement à la figure 24.

Analyse statistique

$FANO_3$ PDS (P 0,05 = 12,2) 1·2·3·5·6·11·7·13·4·10·9·8·12

$FSNO_3$ PDS (P 0,05 = 15,0) 14·20·21·16·15·22·18·19·17

L'effet maximum de l'aneurine est atteint avec 50 γ/l dans le milieu à l'amidon ($FANO_3$) et avec 5 γ/l déjà en présence de saccharose ($FSNO_3$).

L'addition de biotine à l'aneurine apporte une augmentation de croissance qui n'est toutefois significative que dans la série $FANO_3$. Le développement du mycélium est inversément proportionnel aux quantités de biotine, mais les différences ne sont pas significatives.

L'adjonction de l'amide de l'acide nicotinique au milieu $FANO_3$ + A 500 + B 5 détermine une diminution significative du poids des récoltes. L'action dépressive de l'amide de l'acide nicotinique se remarque déjà dans l'essai II du tableau 19.

L'extrait de levures Difco utilisé seul provoque une croissance sensiblement égale à celle obtenue avec l'aneurine seule. En association à cette dernière vitamine, il ne se distingue pas des mélanges aneurine + biotine.

Le développement des fructifications (pycnides et périthèces) est parallèle à celui du mycélium.

C. *Comportement de différentes souches de Gnomonia comari Karst. en présence d'aneurine et de biotine*

Dans deux essais, nous avons comparé la croissance de 10 souches de *Gnomonia comari* Karst. dans les conditions suivantes:

- sans vitamine
- aneurine 500 γ/l
- aneurine 500 γ/l et biotine 5 γ/l

Le milieu de base $FANO_3$ contient 2,5 % d'amidon et 0,7 g N/l sous forme de KNO_3. Il y a 4 répétitions par milieu et par souche. Les provenances des souches sont indiquées au tableau 6. Les résultats sont consignés au tableau 20.

Tableau 20
Influence des apports d'aneurine et de biotine sur la croissance de 10 souches de *Gnomonia comari* Karst. Milieu de base: $FANO_3$. Aneurine: 500 γ/l. Bitoine 5 γ/l

		Poids du mycélium sec en mg				
Souche N°	Culture isolée de (plante hôte)	A Sans vitamine	Dif. AB	B Aneurine	Dif. BC	C Aneurine +biotine
Série I	PDS (P 0,05 = 14,3)					
324	*Fragaria cultivar*	29.1	s	103.2	n.s.	91.2
326	*Geum rivale* L.	16.0	s	76.1	s	135.0
330	*Alchemilla conjuncta* Bab.	22.7	s	108.1	s	142.1
331	*Fragaria vesca* L.	21.0	s	183.1	n.s.	192.7
332	*Alchemilla vulgaris* L.	20.5	s	81.5	s	108.7
Série II	PDS (P 0,05 = 15,8)					
333	*Sanguisorba minor* Scop.	36.4	s	285.1	s	331.4
336	*Geum urbanum* L.	9.2	n.s.	13.2	n.s.	38.7
337	*Alchemilla vulgaris* L.	31.6	s	99.7	s	72.6
338	*Potentilla anserina* L.	64.1	s	284.0	n.s.	278.7
339	*Potentilla erecta* Räuschel	41.5	s	107.7	n.s.	116.1

n.s.: Différence non significative
s: Différence significative au seuil P. 0,05

L'addition d'aneurine au milieu de base $FANO_3$ provoque une augmentation de croissance pour toutes les souches comparées. La différence est significative dans 9 cas sur 10.

L'adjonction de biotine à l'aneurine provoque des effets variables. Dans 7 cas, on constate une augmentation de récolte, mais les différences ne sont significatives que pour 4 souches. Une seule souche (N° 337, isolée d'*Alchemilla vulgaris* L.) accuse une diminution de poids significative lorsqu'on ajoute de la biotine au milieu $FANO_3$ + aneurine.

D. Utilisation des composants de l'aneurine

Cette dernière série de travaux a pour but d'étudier la possibilité pour notre champignon de remplacer l'aneurine par ses constituants: le thiazol (Th) et la pyrimidine (Py). Le milieu de base FNO_3 à 0,7 g N/l contient 2,5 % d'amidon ($FANO_3$) ou 2,5 % de D-saccharose ($FSNO_3$). Il y a 4 répétitions par milieu et par souche. Les résultats sont représentés graphiquement à la figure 25.

Dans aucun des trois essais, le thiazol ou la pyrimidine ou encore leur mélange se montrent différents des milieux $FANO_3$ ou $FSNO_3$ sans vitamine. Il ressort nettement que notre champignon requiert la molécule entière d'aneurine pour sa croissance.

L'adjonction de biotine au milieu $FSNO_3$, en présence d'aneurine, provoque une augmentation de poids significative avec l'aneurine, ce qui rejoint les résultats rappor-

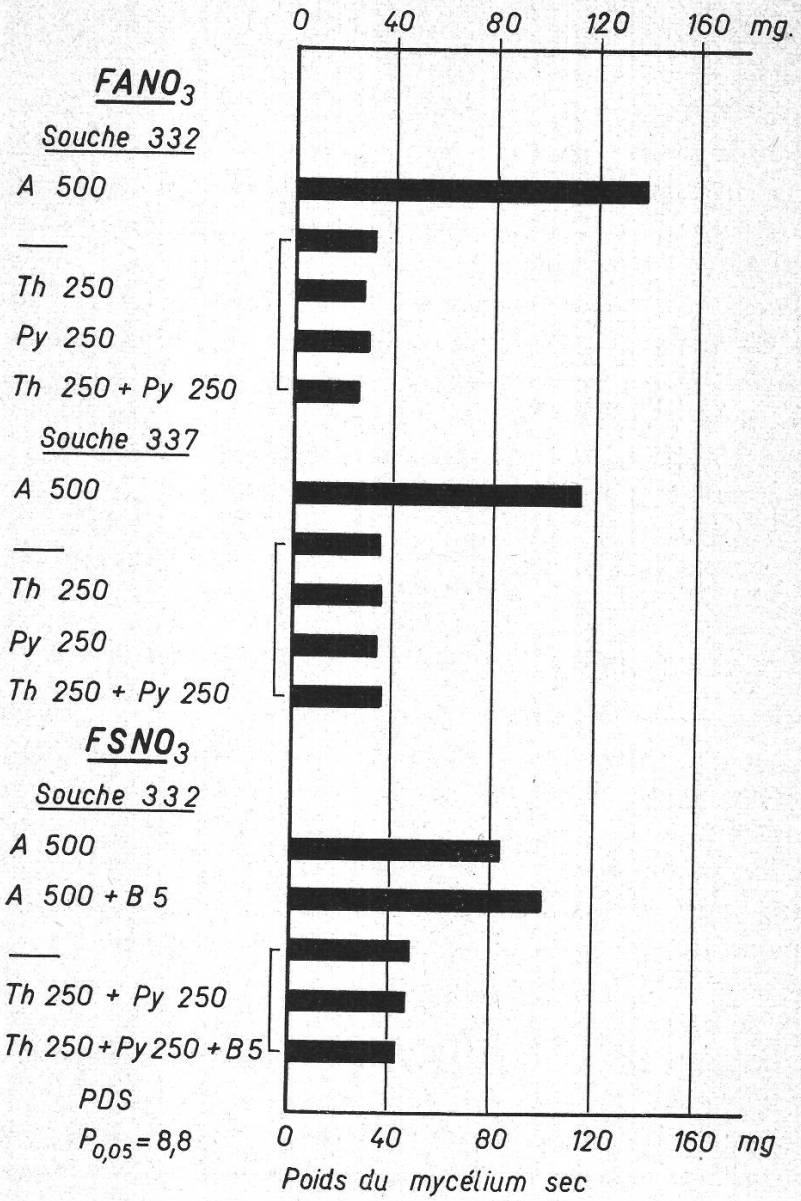


Figure 25

Croissance de *Gnomonia comari* Karst., souches 332 et 337, en fonction des apports d'aneurine (A) et de ses constituants – thiazol (Th) et pyrimidine (Py) – et de biotine (B)
Milieux de base: $FANO_3$ et $FSNO_3$. Doses de vitamines en γ/l

tés au tableau 20. Par contre, le supplément de biotine au mélange Th + Py n'apporte aucune amélioration.

Dans des essais complémentaires parallèles, nous avons, sans succès, fait varier les proportions entre le thiazol et la pyrimidine. Par exemple: Th 250 + Py 250; Th 350 + Py 125; Th 125 + Py 350. Ni le thiazol ni la pyrimidine n'occasionnent une diminution ou une augmentation de croissance lorsqu'on les ajoute, en doses croissantes de 125 à 500 γ/l, à un milieu $FANO_3$ contenant déjà 500 γ/l d'aneurine.

Au terme de cette étude des besoins vitaminiques, il apparaît que *Gnomonia comari* Karst. requiert l'aneurine sous sa forme complète. Un complément de biotine apporte généralement une légère augmentation de croissance. Les autres vitamines testées

n'ont pas d'influence notable. Turian (1954) arrive aux mêmes conclusions en ce qui concerne l'aneurine et la biotine, avec *Coniella diplodiella* (Speg.) Pet. et Syd., tout comme Gindrat (1965) avec *Gäumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier.

A notre connaissance, peu de travaux ont paru traitant de l'utilisation des diverses vitamines par des Ascomycètes de l'ordre des Diaportales. Les quelques rares travaux publiés mettent surtout en évidence l'hétérotrophie de ces champignons pour l'aneurine. C'est le cas pour *Gnomonia comari* Karst. (McOnie et Snyder, 1966a), pour *Valsa Cypri* Tul., *Leucostoma Curreyi* (Nit.) Défago et *L. cincta* (Fr.) v. Höhn. (Défago, 1942). La meilleure croissance est assurée par l'addition de biotine à l'aneurine pour *Gäumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx et Olivier (Gindrat, 1965) et *Endothia parasitica* (Murr.) And. (Lilly et Barnett, 1951). L'aneurine et l'inositol sont nécessaires au développement de *Valsa pini* Fr. (Lilly et Barnett, 1951).

Chapitre XI

Influence des conditions de culture in vitro sur la morphogénèse

Gnomonia comari Karst. est un champignon très intéressant au point de vue morphogénétique, car il fructifie relativement facilement en culture pure, tant sous sa forme sexuée (production de périthèces) que sous sa forme asexuée (production de pycnides). Dans chacun des essais entrepris dans la seconde partie de notre travail, nous avons régulièrement noté le développement des fructifications. Nous désirons, dans ce chapitre, réunir et discuter les informations recueillies sur ce sujet, bien que nous n'ayons pas entrepris d'études spéciales sur la morphogénèse de ce champignon.

Le développement des fructifications de *Gnomonia comari* Karst. a été étudié par Sung Huang (1949) qui a cultivé cette espèce sur des plaques de verre recouvertes d'une fine couche d'agar à 2,5 % d'extrait de malt. Dans ces conditions, les périthèces apparaissent différenciés en moins de 7 jours et sont fertiles en 2 semaines. Les ascogones se forment à partir d'hyphes minces. Ils ont d'abord l'apparence d'une crosse qui s'enroule sur elle-même pour donner ensuite une spirale plus ou moins compliquée qui, en s'accroissant, atteint le stade du propérithèce. L'auteur n'a pas observé de spermaties, mais considère certains appendices hyphaux comme des anthéridies.

Lorsque les propérithèces présentent un bec de quelque 20 μ de long, on peut, en écrasant les fructifications, faire sortir les cellules ascogènes. Celles-ci évoluent en dangeardies sur lesquelles naissent les jeunes asques.

Les pycnides se forment à partir d'un lacis d'hyphes dont l'origine varie selon les souches isolées. Certains sont du type méristogène (Kempton, 1919); leurs ébauches sont issues d'un seul hyphe qui s'enroule sur lui-même. Dans d'autres cas, le noyau de la fructification est constitué par une agglomération de plusieurs hyphes anastomosés; il s'agit alors du type symphogène. Les ébauches des pycnides sont visibles 4 jours après l'inoculation. Les conidies sortent après 10–15 jours.

A. Facteurs influençant la conidiation

D'une manière générale, la conidiation de *Gnomonia comari* Karst. est fonction du développement mycélien. Les pycnides sont d'autant plus abondantes que le poids du mycélium est plus élevé. Cette règle est mise en évidence dans la très grande majo-

rité des essais rapportés aux chapitres VII à X, ainsi que par les travaux de Bolton (1954).

Parmi les facteurs extérieurs étudiés au chapitre VII, la lumière paraît seule exercer une action indépendante de la croissance mycélienne. Le tableau 13 montre, en effet, que la production des conidies est plus faible dans les flacons maintenus à l'obscurité que dans ceux soumis à un éclairage intermittent.

L'influence favorable de la lumière sur la conidiation est signalée par de nombreux chercheurs dont les principaux sont cités par Lilly et Barnett (1951) et par Turian (1966). C'est notamment le cas pour trois Diaporthales proches parentes de notre champignon: *Diaporthe phaseolorum* (Cke. et Ell.) Sacc. var. *batatatis* (Harter et Field) Wehm., *Endothia parasitica* (Murr.) P.J. et W.H. And. et *Melanconium betulinum* Schn. et Kunze et pour une Sphæropsidales parasite du fraisier: *Dendrophoma obscurens* W.H. And.

Dans les chapitres VIII et IX, consacrés à la nutrition carbonée et azotée, nous devons signaler quelques cas particuliers où la croissance mycélienne et la conidiation ne vont pas de pair. Parmi les sources de carbone, présentées à la figure 20, le succinate de sodium et le xylose, de faible valeur pour la croissance, se montrent cependant favorables à la conidiation. En ce qui concerne les sources d'azote, on constate au tableau 17 que la glycine et la sérine favorisent le développement végétatif du champignon, mais sont, par contre, peu intéressantes pour la formation des pycnides. Le comportement de notre champignon en présence de glycine est en contradiction avec les résultats obtenus par Lilly et Barnett (1951) avec *Phoma betae* Frank et *Septoria nodorum* Berk. Chez ces deux derniers organismes, c'est la conidiation qui est avantagée par la glycine.

B. Facteurs influençant la formation des périthèces

Plusieurs chercheurs ont cultivé *Gnomonia comari* Karst. et obtenu des périthèces sur milieux gélosés. Arnaud et Arnaud (1931) observent des pycnides en abondance sur de l'agar à la farine d'avoine alors qu'il y a prédominance de périthèces sur de l'agar au jus de prunes. Les deux formes de fructifications apparaissent sur gélose à l'extrait de pomme de terre et glucose (PDA) (Fall, 1951) ou sur agar à la farine de maïs (Alexopoulos et Cation, 1948; Sung Huang, 1949). Bolton (1954) remplace le saccharose dans le milieu de Czapeck par des doses variables d'amidon, de pectine, de cellulose et de glucose. Le nombre des périthèces augmente avec la concentration des trois premières sources carbonées, mais diminue avec les apports de glucose. Sur agar malté, à 2 % d'extrait de malt Wander, nous avons observé des périthèces sur 16 des 18 souches isolées de *Gnomonia comari* Karst. (tableau 6).

En milieu liquide, le champignon fructifie beaucoup plus difficilement sous sa forme sexuée. Les périthèces apparaissent dans les quelques cas suivants:

1. Association saccharose-nitrate

Dans tous les essais de nutrition effectués dans ce travail, selon la méthode décrite au chapitre VI, nous avons régulièrement obtenu une production de périthèces dans le milieu minéral de base F additionné de 500 γ/l d'aneurine lorsque le saccharose se trouvait associé au nitrate de potassium (figures 20 et 24 et tableaux 17, 21 et 22).

En présence de nitrate, le saccharose peut être remplacé par du raffinose (figure 20). L'intérêt de ce trisaccharide réside probablement dans le fait qu'il peut être dissocié

par le champignon en saccharose, d'une part, et en mélibiose ou en galactose, d'autre part.

L'abondance des périthèces est fonction de la quantité de saccharose apportée au milieu, comme le révèlent les chiffres du tableau 21.

Tableau 21

Croissance mycélienne, aptitude à la fructification et pH finaux de *Gnomonia comari* Karst., souche 331, en fonction des concentrations en D-saccharose. Milieu de base FNO_3 (0,7 g N/l sous forme de KNO_3) + 500 γ/l d'aneurine

Concentrations en saccharose %	pH finaux	Mycélium poids sec mg	Pycnides	Périthèces
0,1	5,7—6,0	22.8	+	O
0,5	4,2—4,5	98,1	+++	P
1,0	4,1—4,6	120,5	+++	P
2,5	4,5—4,6	171,6	+++	P
5,0	4,5—4,6	203,1	+++	PP
10,0	4,3—4,7	319,7	+++	PP
Amidon 2,5 %	4,4—4,6	140,8	++++	O

Il apparaît nettement au tableau 21 que le nombre des pycnides et des périthèces ainsi que le poids du mycélium augmentent en fonction de la concentration du milieu en saccharose.

Il ne s'est pas formé de périthèces dans les milieux liquides combinant d'autres sources carbonées et azotées, aux doses retenues dans les essais relatés au tableau 17 et à la figure 20. Nous n'avons pas connaissance d'autres exemples d'induction périthéciale spécifique au mélange saccharose-nitrate. Nous n'avons pas non plus d'explications à donner sur cette particularité de *Gnomonia comari* Karst. qui mériterait de faire l'objet d'une étude postérieure.

2. Décoction de plantes et extrait de conidies

McOnie et Snyder (1966a et b) constatent que des fragments de pétioles de fraisiers ou quelques gouttes d'une décoction de ces mêmes organes, incorporés au milieu gélosé, stimulent la production de périthèces.

Ces deux auteurs obtiennent la même stimulation en utilisant des décoctions préparées à partir de pétioles d'autres végétaux: *Rubus vitifolius* Cham. et Schlecht., *Pyrus communis* L. et *Ipomoea batatatis* (L.) Lam. Ils attribuent l'action stimulante de ces décoctions aux vitamines qu'elles contiennent et mettent en évidence le rôle de l'aneurine.

Nous avons contrôlé l'influence de la décoction de pétioles de fraisiers en milieu liquide F contenant 0,7 g N/l sous forme de KNO_3 et 500 γ/l d'aneurine, avec pour sources de carbone, l'amidon, le D-saccharose et le D-glucose. La décoction de fraisiers est préparée en faisant bouillir 300 g de pétioles de fraisiers dans 5 dl d'eau distillée pendant 15 minutes. Les résultats de cet essai figurent au tableau 22.

Tableau 22

Croissance mycélienne et aptitude à la fructification de *Gnomonia comari* Karst., en présence de diverses sources de carbone et d'apports de décoction de pétioles de fraisiers (DF). Milieu de base FNO_3 (KNO_3 0,7 g N/l) et 500 γ/l d'aneurine

Milieux	Mycélium poids sec mg	Pycnides	Périthèces
FNO_3	0,5	O	O
FNO_3+amidon 2,5 %	105	+++	O
FNO_3+amidon 2,5 %+DF 1 cm³	128	++++	O
FNO_3+amidon 2,5 %+DF 10 cm³	181	++++	O
FNO_3+glucose 2,5 %	68	O	O
FNO_3+glucose 2,5 %+DF 1 cm³	113	++++	O
FNO_3+glucose 2.5 %+DF 10 cm³	89	++++	O
FNO_3+glucose 2,5 %+saccharose 0,5 %	126	++	P
FNO_3+saccharose 0,5 %	79	+++	P
FNO_3+saccharose 2,5 %	84	++++	PPP
Décoction de pétioles de fraisiers (DF)	19	+	PP

Il ressort du tableau 22 que les périthèces ne se sont formés que dans les milieux contenant du saccharose. La décoction de fraisiers ajoutée à l'amidon et au glucose a amélioré la conidiation, mais n'a pas favorisé l'apparition des périthèces. Utilisée seule, la décoction permet aux périthèces de se développer, alors que la croissance mycélienne et la conidiation sont quasi nulles.

L'aneurine, administrée à tous les milieux FNO_3, n'exerce aucune influence sur la fructification sexuée, contrairement à ce que constatent McOnie et Snyder (1966a et b) sur milieu gélosé.

McOnie (1964) inocule des plaques de Pétri contenant de l'agar à la décoction de pommes de terre et glucose (PDA) avec des suspensions de spores renfermant 1, 3, 48, 480, 4800 et 48000 conidies de *Gnomonia comari* Karst. Il constate que le nombre des périthèces développés est d'autant plus grand que l'inoculum est plus concentré et attribue ce phénomène à l'éventuelle présence dans l'inoculum d'une substance stimulatrice non définie apportée par les conidies. Pour vérifier cette hypothèse, il prépare un filtrat de conidies qu'il dépose, en différentes concentrations, dans des anneaux de verre enfoncés dans l'agar. Les périthèces apparaissent effectivement autour des anneaux ayant reçu le filtrat le plus concentré. L'auteur signale enfin qu'un mélange d'aneurine, de biotine plus 9 autres vitamines ne peut pas remplacer l'extrait de conidies.

3. Réaction de famine et rapport C/N

Lilly et Barnett (1951) mentionnent que l'épuisement de la source d'azote ou de carbone favorise la formation des périthèces. Une telle réaction de famine s'observe chez *Gnomonia comari* Karst., souche 331, cultivé en milieu F additionné de 2,5 % d'amidon et de 500 γ/l d'aneurine. L'azote est apporté sous forme de phosphate diammonique à des doses variant entre 5,0 et 0,001 %. Les périthèces n'apparaissent qu'aux doses les plus faibles, soit à 0,005 et 0,001 %.

En milieu FNO_3 (KNO_3 à 0,7 g N/l) et 500 γ/l d'aneurine, nous cultivons la même

souche 331, en présence de doses décroissantes d'extrait de malt Wander. Là aussi, les périthèces ne se forment qu'aux concentrations inférieures à 0,1 % et 0,05 %.

C'est probablement aussi à cette réaction de famine qu'il faut attribuer la présence de périthèces dans la décoction de fraisiers relatée au tableau 22.

Müller (1966) a longuement étudié le rôle de la nutrition sur l'induction périthéciale de *Leptosphaerulina australis* McAlpine. Les conclusions de ses travaux peuvent s'appliquer à d'autres Ascomycètes et à *Gnomonia comari* Karst. en particulier. Le développement des périthèces dépend de la concentration de la nourriture et plus particulièrement du rapport carbone/azote. A concentrations élevées, ces deux composants ont une action inhibitrice. L'un doit être en faible quantité pour permettre la formation des fructifications sexuées.

Résumé

Partie taxonomique et phytopathologique

1. Le présent travail donne la description du champignon *Gnomonia comari* Karsten dont la forme conidienne est *Zythia fragariae* Laibach et discute la position systématique du genre *Gnomonia* Ces. et de Not.

2. *Gnomonia comari* Karst. vit sur de nombreuses Rosacées herbacées appartenant aux genres *Fragaria*, *Comarum*, *Potentilla*, *Geum*, *Alchemilla*, *Agrimonia*, *Sanguisorba*, ainsi que sur *Epilobium hirsutum* L.

3. *Gnomonia comari* Karst. possède une dizaine de synonymes dont le plus connu est *Gnomonia fructicola* (Arnaud) Fall.

4. Ce champignon qui est homothallique se cultive facilement in vitro et 16 des 18 souches isolées sur une dizaine de plantes hôtes forment des périthèces et des pycnides sur agar malté.

5. Il provoque une pourriture et un dessèchement des fraises ainsi qu'un rougissement et un dessèchement des feuilles des fraisiers et de certaines variétés horticoles de *Geum*. C'est un parasite de faiblesse qui pénètre par les stomates ou par des blessures. La maladie peut être transmise du fraisier aux autres Rosacées herbacées et vice versa.

6. Dans les fraisières de Suisse romande, l'importance économique de la maladie est pour l'instant négligeable. En Allemagne, en Grande-Bretagne et en Amérique du Nord, le champignon peut détruire jusqu'à 70 % de la récolte. Les traitements usuels contre la pourriture grise des fraises (*Botrytis cinerea* Pers.) n'ont que peu d'efficacité contre *Gnomonia comari* Karst. L'intensité de la maladie dépend de la variété.

7. *Gnomonia comari* Karst. a une aire de distribution circumpolaire, tout comme un certain nombre de ses plantes hôtes.

8. Les Rosacées herbacées hébergent encore d'autres Gnomoniacées. On donne la description et une clef de détermination des espèces suivantes: *Gnomonia alpina* Wint., *Gnomonia gei-montani* Ranojevic, *Gnomonia waldsteiniae* Dearness et House, *Gnomonia sanguisorbae* (Rehm) E. Müller, *Gnomonia gei* Pat. et Doass., *Gnomonia rosae* Fuck.,

Gnomonia fragariae Kleb., *Gnomonia sibbaldiae* Petr., *Plagiostoma tormentillae* (Lind) comb. nov. et *Plagiostoma lugubris* (Karst.) comb. nov.

Partie physiologique

9. Les points cardinaux thermiques pour la croissance de *Gnomonia comari* Karst. sont: minimum 5 °C; optimum 25 °C; maximum 35 °C.

10. Le pH initial est favorable entre 3,5 et 6,5. L'optimum varie, suivant les milieux et les souches, entre 4,5 et 6,1.

11. Les récoltes de mycélium dépendent du type d'inoculum et de la durée d'incubation.

12. On compare, en milieu nitraté, la valeur nutritive de quelque 25 sources de carbone. Les meilleures sont le fructose et le saccharose. La concentration optimale se situe entre 2,5 et 5 %.

13. Quelque 28 sources d'azote sont comparées à équivalence d'azote (0,7 g N/l), en présence d'amidon, de saccharose ou de glucose. L'intérêt de la source azotée varie beaucoup selon la nature de la substance carbonée incorporée. Les meilleures sources d'azote sont constituées par des mélanges d'acides aminés: hydrolysat de caséine et peptone. Les sels organiques d'ammonium sont plus efficaces que les nitrates. Parmi les acides aminés et amides, la sérine, les acides glutamique et aspartique, l'asparagine, l'arginine et la proline donnent la meilleure croissance. La concentration d'azote optimale se situe entre 1,0 et 1,4 g N/l pour le phosphate diammonique et le nitrate de potassium et vers 2,0 g N/l pour l'asparagine.

14. *Gnomonia comari* Karst. est hétérotrophe pour l'aneurine qui doit lui être fournie dans sa molécule complète, à raison d'au moins 50 γ/l. La biotine, à 5 γ/l apporte généralement un supplément de croissance.

15. La production de pycnides est habituellement proportionnelle au développement mycélien.

16. En milieu liquide, contenant 0,7 g N/l, les périthèces n'apparaissent que lorsque le nitrate de potassium est associé au saccharose ou au raffinose. Le nombre des périthèces augmente en fonction de la dose de saccharose. Des périthèces se forment parfois dans certains milieux très pauvres en carbone ou en azote (réaction de famine).

Zusammenfassung

Beitrag zur Kenntnis von *Gnomonia comari* Karsten (Taxonomie, Phytopathologie, Wachstum in vitro).

Taxonomie und Phytopathologie

Die vorliegende Arbeit beschreibt den Pilz *Gnomonia comari* Karst. (Nebenfruchtform: *Zythia fragariae* Laibach) und diskutiert die systematische Stellung der Gattung *Gnomonia* Ces. et de Not. *Gnomonia comari* hat etwa ein Dutzend Synonyme; das bekannteste ist *Gnomonia fructicola* (Arnaud) Fall. Der Pilz ist homothallisch und lässt sich leicht in vitro kultivieren; 16 der 18 isolierten Stämme (von 10 Wirtspflanzen) bildeten auf Malzagar Perithezien und Pyknidien.

Gnomonia comari lebt auf zahlreichen krautigen Rosaceen der Gattungen *Fragaria*, *Comarum*, *Potentilla*, *Geum*, *Alchemilla*, *Agrimonia*, *Sanguisorba* sowie auf *Epilobium hirsutum* L. Sie ist – wie eine grosse Zahl ihrer Wirtspflanzen – zirkumpolar verbreitet.

Der Pilz verursacht eine Fäule und Welke der Erdbeeren sowie eine Rötung und Welke der Blätter der Erdbeerpflanzen und einiger Ziersorten von *Geum*. Es handelt sich um einen Schwächeparasiten, der durch die Spaltöffnungen oder durch Verletzungen in die Wirtspflanzen eindringt. Die Krankheit kann von Erdbeeren auf andere krautige Rosaceen übertragen werden und umgekehrt.

In den westschweizerischen Erdbeerkulturen ist die Krankheit bis jetzt von geringer wirtschaftlicher Bedeutung. In Deutschland, Grossbritannien und Amerika kann der Pilz bis 70 % der Ernte vernichten. Die übliche Bekämpfung der Graufäule der Erdbeeren *(Botrytis cinerea)* ist gegen *Gnomonia comari* nur wenig wirksam. Die Befallsstärke ist sortenbedingt.

Krautige Rosaceen können auch von anderen Vertretern der Gnomoniaceen befallen werden. Die Arbeit gibt eine Beschreibung und einen Bestimmungsschlüssel für die folgenden Arten: *Gnomonia alpina* Wint., *G. gei-montani* Ran., *G. waldsteiniae* Dearn. et House, *G. sanguisorbae* (Rehm) E. Müller, *G. gei* Pat. et Doass., *G. rosae* Fuck., *G. fragariae* Kleb., *G. sibbaldiae* Petr., *Plagiostoma tormentillae* (Lind.) comb. nov. und *Plagiostoma lugubris* (Karst.) comb. nov.

Physiologie

Die thermischen Kardinalpunkte für das Wachstum von *Gnomonia comari* sind: Minimum 5 °C, Optimum 25 °C, Maximum 35 °C. Das pH kann zwischen 3,5 und 6,5 betragen; das Optimum liegt je nach Milieu und Pilzstamm zwischen 4,5 und 6,1. Die Myzelproduktion der Kulturen in vitro hängt von der Art der Impfung und von der Inkubationsdauer ab.

In einem Nitratmilieu wurde der Nährwert von 25 Kohlenstoffquellen geprüft. Am besten werden Fruktose und Saccharose verwertet (optimale Konzentrationen zwischen 2,5 und 5 %).

Es wurden 28 Stickstoffquellen gleichen Gehaltes (0,7 g N/l) in Anwesenheit von Stärke, Saccharose oder Glukose verglichen. Der Wert der verschiedenen Stickstoffverbindungen hängt stark von der Art der beigefügten Kohlehydratverbindung ab. Die besten Stickstoffquellen bestehen aus einem Gemisch von Aminosäuren (Kaseinhydrolysat und Peptone). Organische Ammonverbindungen sind wirksamer als Nitrate. Von den reinen Aminosäuren und Amiden gaben Serin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Asparagin, Arginin und Prolin das beste Wachstum. Der optimale Stickstoffgehalt liegt bei 1 bis 1,4 g N/l für Diammoniumphosphat und Kaliumnitrat und bei 2 g/l für Asparagin.

Gnomonia comari ist heterotroph für Aneurin, das in einer Konzentration von mindestens 50 γ/l als vollständiges Molekül zur Verfügung stehen muss. Biotin (5 γ/l) bewirkt im allgemeinen eine Wachstumssteigerung.

Die Pyknidienproduktion ist meist dem Myzelwachstum proportional. In flüssigen Nährmedien bilden sich Perithezien nur, wenn Kaliumnitrat (0,7 g N/l) von Saccha-

rose oder Raffinose begleitet ist. Die Zahl der Perithezien steigt mit zunehmendem Saccharosegehalt. Perithezien bilden sich manchmal auch in Medien, die sehr arm an Kohlenstoff- oder Stickstoffverbindungen sind (Hungerreaktion).

Summary

Contributions to the taxonomical, phytopathological an physiological studies of *Gnomonia comari* Karsten.

Taxonomy and phytopathology

1. A description is given of the fungus *Gnomonia comari* Karsten, the conidial form of which is *Zythia fragariae* Laibach, and the systematic position of the genus *Gnomonia* Ces. et de Not. is discussed.

2. *Gnomonia comari* Karst. lives on numerous herbaceous Rosaceae belonging to the genera *Fragaria*, *Comarum*, *Potentilla*, *Geum*, *Alchemilla*, *Agrimonia*, *Sanguisorba* as well as on *Epilobium hirsutum* L.

3. *Gnomonia comari* Karst. is known under ten synonyms the most frequently used being *Gnomonia fructicola* (Arnaud) Fall.

4. The homothallic fungus is easily grown in vitro and 16 of 18 strains isolated from more than ten host plants form perithecia and pycnids on malted agar.

5. It causes a rot and drying of strawberry plants as well as a redenning and drying out of strawberry leaves, and the same effect also on some horticultural varieties of *Geum* sp. It is a weak parasite, which enters through the stomata and wounds. The disease can be transmitted from strawberry plants to other herbaceous Rosaceae and vice-versa.

6. In strawberry fields in the French-speaking part of Switzerland the disease is for the time being economically unimportant. In Germany, Great Britain and North America, the fungus can reduce the harvest by 70 per cent. The usual treatment against strawberry grey mold (*Botrytis cinerea* Pers.) has little effect on *Gnomonia comari* Karst. The intensity of the disease depends on the variety.

7. *Gnomonia comari* Karst. has a circumpolar area of distribution like a certain number of its host plants.

8. The herbeceous Rosaceae harbour still other Gnomoniaceae. A description and a determination key is given for the following species:
Gnomonia alpina Wint., *Gnomonia gei-montani* Ranojevic, *Gnomonia waldsteiniae* Dearness and House, *Gnomonia sanguisorbae* (Rehm) E. Müller, *Gnomonia gei* Pat. and Doass., *Gnomonia rosae* Fuck., *Gnomonia fragariae* Kleb., *Gnomonia sibbaldiae* Petr., *Plagiostoma tormentillae* (Lind) comb. nov. and *Plagiostoma lugubris* (Karst.) comb. nov.

Physiology

9. The cardinal thermal points for the growth of *Gnomonia comari* Karst. are: Minimum 5 °C, optimum 25 °C, maximum 35 °C.

10. The initial pH is favourable between 3,5 and 6,5. The optimum varies depending on the media and the strains between pH 4,5 and 6,1.

11. The mycelial yield depends on the inoculum type and the incubation period.

12. The nutritional values of over 25 C-sources are compared in nitrate-media. The best sources are fructose and sucrose. The optimal concentration lies between 2,5 and 5 %.

13. Some 28 N-sources are compared at equivalent N levels (0,7 g N/l), in media containing starch, sucrose or dextrose. The value of the N-source varies a great deal according to the nature of the C-source incorporated. The best N-sources are mixtures of amino acids: casein hydrolysate and peptone. Among the amino acids and amides, serine, glutamic and aspartic acids, asparagine, arginine and proline give the best growth. The optimal N-concentration lies between 1,0 and about 2,0 g N/l for asparagine.

14. *Gnomonia comari* Karst. is heterotrophous for thiamine which must be supplied as the whole molecule at 50 γ/l at least. Biotine at 5 γ/l generally increases growth.

15. Pycnids production is usually proportional to mycelial development.

16. In liquid media, containing 0,7 g N/l perithecia are formed only when potassium nitrate is associated with sucrose or raffinose. The number of perithecia increases according to the amount of saccharose. Perithecia sometimes appear in certain media very low in C or N content (hunger reaction).

Références

Adrichem van M.C.J. et J.E.Bosher. 1958. Leaf blotch and petiole blight of strawberry caused by *Gnomonia fructicola*. Plant Dis. Reptr. *42* (6):772–775.

Alexopoulos C.J. et D.Cation. 1948. Stem-end rot of strawberries. Phytopathology *38* (9):698–706.

— 1952. *Gnomonia fragariae* in Michigan. Mycologia *44* (2): 221–223.

Anonyme. 1963. Plantenziektenkundige Dienst Wageningen, Jaarboek: 33.

Arnaud G. et M.Arnaud. 1931. Traité de pathologie végétale, tome I Encycl. Myc. *4:* 1558–1562. P.Lechevalier, Paris.

Arx von J.A. 1951. Über die Gattung *Laestadia* und die Gnomoniaceen. Antonie Leeuwenh. *17:* 259–272.

— 1952. Über einige Ascomycetengattungen mit ungleich zweizelligen Sporen. Ber. Schweiz. Bot. Ges. *62:* 340–362.

— 1967. Pilzkunde. Verlag J.Cramer. Lehre: 1–356.

— 1970. A revision of the fungi classified as *Gloeosporium*. Bibliotheca Mycologia *24:* 1–203.

— et E.Müller. 1954. Die Gattungen der amerosporen Pyrenomyceten. Beitr. Krypt. Fl. Schweiz *11* (1): 1–434.

— et D.L.Olivier. 1952. The taxonomy of *Ophiobolus graminis* Sacc. Trans. Brit. Mycol. Soc. *35* (1): 29–33.

Barnett H.L. et V.G.Lilly. 1951. The inhibitory effects of Sorbose on fungi. Science *114:* 431–440.

Bolay A., in R.Bovey, et al., 1967. La défense des plantes cultivées. Payot. Lausanne: 509–510.

Bolton A.T. 1954. *Gnomonia fructicola* on strawberry. Can. J. Bot. *32:* 172–181.

Bovey R. 1958. Les vecteurs de maladies à virus du fraisier. Rev. Path. Gén. Physiol. Clinique (703): 1751–1762.

Brefeld O. et F. vonTavel. 1891. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie *10:* 232.

Bresadola J. 1900. Fungi aliquot saxonici nuovi. Hedwigia *39:* 325.

Brooks F.T. 1910. The development of *Gnomonia erythrostoma* Pers. Annals of Botany *24* (95): 585–605.

Bubak F. 1912. Ein Beitrag zur Pilzflora von Sachsen. Ann. Mycol. *10:* 46–47.

Cesati V. et G. de Botaris. 1863. Schema di classificazione degli spheriacei italici. Comment. Soc. Crit. Ital. *1* (4): 177–240.

Chadefaud M. 1960. Traité de botanique systématique, volume I. Les végétaux non vasculaires. Ed. Masson, Paris: 1–1010.

Cochrane V.W. 1958. Physiology of fungi. John Wiley & Sons, Inc. New York: 1–524.

Dearness J. et H.D.House. 1940. New or noteworthy species of fungi V. New York State Museum, Albany. Circ. *24:* 37–38.

Défago G. 1942. Seconde contribution à la connaissance des Valsées von Höhnel. Phytopath. Z. *14:* 108–187.

Dennis R.W.G. 1960. British cup fungi and their allies. Bernard Quaritch Ltd. Londres: 1–280.

Fall J. 1951. Studies on fungus parasites of stawberry leaves in Ontario. Can. J. Bot. *29:* 299–315.

Folsom D. 1954. Strawberry fruit rot in Maine caused by *Gnomonia fructicola*. Plant. Dis. Reptr. *38* (2): 796–797.

Fries N. 1938. Über die Bedeutung von Wuchsstoffen für das Wachstum verschiedener Pilze. (Thèse Uppsala): 1–188.

Fuckel L. 1870. Symbolae Mycologicae. Jahrb. Nassauisch. Ver. Naturkunde *23/24:* 1–459.

Gäumann E. 1949. Die Pilze. Verlag Birkhäuser, Bâle: 1–382.

— 1951. Pflanzliche Infektionslehre, 2e édition. Verlag Birkhäuser, Bâle: 1–681.

— 1964. Die Pilze, 2e édition. Verlag Birkhäuser, Bâle: 1–541.

Gindrat D. 1965. Recherches sur la physiologie de la nutrition de *Gäumannomyces graminis* (Sacc.) v.Arx et Olivier et établissement d'un milieu synthétique minimum. Bull. Soc. Bot. Suisse *75:* 183–218.

Gysel A. et E.R.Keller. 1952. Beiträge zur Technik des landwirtschaftlichen Versuchswesens. Schweiz. landw. Monatshefte *29* (3 et 6) *30* (5 et 11).

Henriksson L.E. et J.F.Morgan-Jones. 1951. The effect of temperature, pH and malt extract on growth and perithecial development of two *Gnomonia* species. Svensk Bot. Tidsskr. *45* (4): 648–657.

Höhnel von F. 1917. System der Diaportheen. Ber. Deutsch. Bot. Ges. *35:* 631–638.

— 1918. Mycologische Fragmente CCI. Ann. Mycol. *16:* 35–174.

— 1919. Mykologische Fragmente No 291–314. Ann. Mycol. *17:* 114–133.

Karsten P.A. 1873. Mycologia Fennica II Pyrenomycetes. Bidrag till Kännedom of Finlands Natur och Folk, Heft 23: 122.
Kempton F.E. 1919. Origin and development of the pycnidium. Bot. Gaz. *68:* 233–254.
Kerling L.C.P. 1964. Fungi in the phyllosphere of leaves of rye and strawberry. Mededel. Landbouwhochschool Gent *29* (3): 885.
Kirschstein W. 1906. Neue märkische Ascomyceten. Verh. Bot. Ver. Brandenburg *48:* 58.
— 1935. Neue und seltene Ascomyceten. Ann. Mycol. *33:* 219.
— 1939. Über neue, seltene und kritische Ascomyceten und Fungi imperfecti II. Ann. Mycol. *37:* 88–140.
Klebahn H. 1907. Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. IV *Marssonia juglandis* (Lib.) Sacc. Z. f. Pflanzenkr. *17:* 223–237.
— 1908. Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. VI *Asteroma padi* DC. VII *Leptothyrium alneum* (Lév.) Sacc. Z. f. Pflanzenkr. *18:* 129–154.
— 1918. Haupt- und Nebenfruchtformen der Askomyzeten I. Teil. Gebrüder Bornträger, Leipzig: 1–395.
Kraft J.M. et D.C. Erwin. 1967. Effects of nitrogen sources on growth of *Pythium aphanidermatum* and *Pythium ultimum*. Phytopathology *57* (4): 374–376.
Kulik M.M. et M.F. Combs. 1967. Carbon and nitrogen nutrition of some seedborne fungi in vitro. Proc. Int. Seed Test. Ass. *32* (3): 591–602.
Laibach F. 1908. Einige bemerkenswerte Erdbeerpilze. 3. *Zythia fragariae* Laibach nov. spec. Arb. Kaiserl. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw. *6* (1): 79.
Leben C. et G.W. Keitt. 1948. *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. V. The influence of carbone and nitrogen sources and vitamines on growth in vitro. Amer. J. Bot. *35* (6): 337–343.
Lilly V.G. et H.L. Barnett. 1951. Physiology of the fungi. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. New York: 1–464.
Lind J. 1931. Danske Micromyceter. Botanisk Tidsskrift *41* (3): 217.
Linder A. 1951. Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure. 2e édition. Verlag Birkhäuser, Bâle: 1–238.
Luttrel E.S. 1951. The system of the Pyrenomycetes. Univ. Missouri Studies *24* (3): 1-120.
Malca I. et A.J. Ullstrup. 1962. Effects of carbon and nitrogen nutrition on growth and sporulation of two species of *Helminthosporium*. Bull. Torrey Bot. Club *89* (4): 240–249.
McOnie K.C. 1964. Inoculum concentration and production of Perithecia by *Gnomonia fructicola* in culture. Phytopathology *54:* 490–491.
— et W.C. Snyder. 1966a. Production of perithecia by *Gnomonia fructicola* in culture. Phytopathology *56* (2): 197–202.
— et W.C. Snyder. 1966b. Nutrient depletion and the production of perithecia by *Gnomonia fructicola*. Can. J. Bot. *44:* 149–154.
Moore W.C. 1949. New and interesting plant diseases 33. Leaf blotch of *Geum* (*Zythia fragariae* Laibach). Trans. Brit. mycol. Soc. *32* (1): 95.
Müller E. 1966. Fruchtkörperbildung und Variabilität morphologischer Merkmale bei *Leptosphaerulina australis* McAlpine (Fungi). Ber. Schweiz. Bot. Ges. *76:* 185–229.
— et J.A. von Arx. 1962. Die Gattungen der didymosporen Pyrenomyceten. Beitr. Krypt. Fl. Schweiz *11* (2): 1–922.
— et W. Loeffler. 1968. Mykologie, Grundriss für Naturwissenschaftler und Mediziner. Verlag G. Thieme, Stuttgart: 1–302.
Munk A. 1957. Danish Pyrenomycetes. Dansk Bot. Arkiv *17* (1): 1–421.
Nagaraj Rao H.S. et A. Apparao. 1965. Carbon and nitrogen nutrition by two isolates of *Alternaria solani*. Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B *61:* 222–236.
Nannfeld J. A. 1932. Studien über die Morphologie und Systematik der nicht lichenisierten, inoperculaten Dicomyceten. Nova Acta Reg. Soc. Scient. Upps., Série IV, *8* (2): 1–368.
Neely D. et E.B. Himelick. 1967. Characteristics and nomenclature of the oak anthracnose fungus. Phytopathology *57* (11): 1230–1236.
Nicholas D.J.D. 1965. Utilization of inorganic nitrogen compounds. In The Fungi I: 349–376. G.C. Ainsworth & A.S. Sussman Academic Press New York.
Patouillard N. 1886. Description et analyses microscopiques des champignons nouveaux, rares ou critiques. Tab. An. Fung. Paris fasc. *5:* 214.
Petrak F. 1920. Der mykologische Nachlass Joseph Jahn's. Ein Beitrag zur Pilzflora des Egerlandes. Ann. Mycol. *18:* 109.

— 1931. Fungi Adeani. Ein Beitrag zur Pilzflora Bayerns und der angrenzenden Länder. Kryptogamische Forschungen *2* (2): 162.
— 1941. Mykologische Notizen XIV. N° 931–1000. Ann. Mycol. *39:* 288–289.
— 1956. Ein kleiner Beitrag zur Pilzflora Griechenlands. Sydowia *10:* 307–308.
Pelletier R.L. et G.W.Keitt. 1954. *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. VI. Amino acids as sources of nitrogen. Amer. J. Bot., *41* (4): 362–371.
Potebnia A. 1910. Beiträge zur Micromycetenflora Mittelrusslands. Ann. Mycol. *8:* 42–93.
Ranojevic N. 1910. Zweiter Beitrag zur Pilzflora Serbiens. Ann. Mycol. *8:* 362.
Rehm H. 1905. Ascomycetes exsiccati, fas. 34. Ann. Mycol. *3:* 229.
Riess H. 1854. Neue Kernpilze. Hedwigia, *1* (6): 25–26.
Ross R.G. 1968. Amino acids as nitrogen sources for conidial production of *Venturia inaequalis*. Can. J. Botany *46* (12): 1555–1560.
Saccardo P.A. 1881. Michelia *2:* 312.
— 1882. Sylloge fungorum, vol. I: 413–419 et 561–569.
— 1889. Sylloge fungorum *14:* 613.
— 1905. Sylloge fungorum *17:* 664.
Satchuthananthavale V. et R.C.Cooke. 1967. Nitrogen nutrition of some nematode-trapping fungi. Trans. Br. mycol. Soc. *50* (3): 423–428.
Schneider R., M.Paetzholdt et K.-H.Willer. 1969. *Gnomonia rubi* als Krankheitserreger an Kühlhausrosen und Brombeeren. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) *21* (2) 17–21.
Seaver F.J. et J.M.Waterston. 1940. Contribution to the mycoflora of Bermuda I. Mycologia *32:* 402.
Seemüller E. 1969. Über das Auftreten von *Gnomonia fructicola* (Arnaud) Fall als Erreger einer Fruchtfäule der Erdbeere. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) *21* (3): 35–37.
Shipton P.J. 1967. A fruit rot of strawberries caused by *Zythia fragariae*. Pl. Path. *16* (3): 123–125.
Smith A.L. 1910. New or rare microfungi. Trans. Brit. Mycol. Soc. *3:* 221.
Sorenson W.G. et C.W.Hesseltine. 1966. Carbon and nitrogen utilization by *Rhizopus oligosporus*. Mycologia *58* (5): 681–689.
Starbäck K. 1889. Ascomyceten fran Öland och Östergötland. Bihang till K. svenska Vet.-Akad. Handlingar *15* Afd. 3 (3): 10.
Sung Huang S. 1949. Morphological and cytological studies in *Gnomonia fragariae* Klebahn. M.S. Thesis, Michigan State College: 1–39.
Sutton B.C. 1967. *Libertinia*, a Synonyme of *Phomopsis*. Trans. Br. Mycol. Soc. *50* (3): 355–358.
Tandon R.N. et S.Chaudra. 1962. The nutrition of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Mycopathol. Mycol. appl. *18:* 213–224.
Tandon R.N. 1962. Physiological studies on some pathogenic fungi. Uttar Pradesh Sci. Res. Committee Monographs. Allahabad, India. Asia Publishing House, London: 1–80.
Towther Ruth L. 1964. Further studies on the physiology of *Cladosporum fulvum* Cke. and resistance on tomato. Can. J. Botany *42:* 1365–1386.
Truszkowska W. 1963. Report on some fungi isolated from the strawberry. Monographiae Botanicae (Pologne) *15:* 405–411.
Turian G. 1954. Effet d'épargne de l'asparagine vis-à-vis de la biotine chez *Coniella diplodiella*. Phytopath. Z. *22* (2): 211–214.
— 1966. Morphogenesis in Ascomycetes in Ainsworth, G.C. et Sussmann, A.S. The Fungi, vol. II (11): 339–385. Academic Press New York & London.
Viennot-Bourgin G. et al. 1967. Atlas des maladies des plantes cultivées. II. Les champignons parasites des arbres fruitiers à noyau. M.Ponsot, Paris: 160–163.
Wehmeyer L.E. 1942. Contribution to a study of the flora of Nova Scotia VI. Pyrenomycetes Can. J. Research *20* Sec. C (12): 585.
Winter G. 1883. Hedwigia *22:* 2.
— 1887. Die Pilze in Dr. L.Rabenhorsts Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, Vol. II: 570–592. Verlag E.Kummer, Leipzig.
Wormald H. 1944. Strawberry leaf blotch fungus. Gardener's Chronicle *116* (3018): 160.
— 1955. Diseases of fruits and hops. Crosby Lockwood & Son Ltd. IIe édition: 252.
— et H.B.S.Montgomery. 1941. Leaf blotch of strawberries. Gardener's Chronicle *110* (2864): 180.

Yu Sun Clare C.C. 1964. Nutritional studies of *Ascobolus immersus*. Amer. J. Botany *51* (3): 231–237.

Yusef H.M. et M.E. Allam. 1967. The carbon and nitrogen nutrition of certain fungi. Can. J. Microbiology, *13:* 1097–1106.

Adrien Bolay
Station fédérale de recherches agronomiques
Château de Changins
CH 1260 Nyon