

L'antracnose des Cucurbitacées

II. L'hétérocaryose chez le *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Hals.

Yacouba SERE*

avec la collaboration technique
de Françoise GRISOLLET

Résumé

Pour apprécier le rôle de l'hétérocaryose dans la variabilité du *Colletotrichum lagenarium*, 6 lignées mutantes obtenues par mutagenèse artificielle ont été confrontées entre elles et avec une souche de *Glomerella cingulata*. L'observation cytologique montre que les cellules végétatives sont en très grande majorité uninucléées. Une minorité contient cependant plus d'un noyau : ce sont le plus souvent des cellules nées d'une anastomose soit entre deux cellules de même génotype soit entre deux cellules de génotypes différents. L'auto-anastomose est toujours possible. L'association interspécifique — *C. lagenarium*-*G. cingulata* n'a pas été constatée. L'hétérocaryose, toujours limitée à quelques cellules, n'est réalisée qu'entre des lignées du *C. lagenarium* bien déterminées. Les conséquences des restrictions à la fusion cellulaire intraspécifique et de l'état uninucléé des conidies sont discutées dans le cadre de la structure des populations de champignons parasites.

Mots-clés : *Colletotrichum lagenarium* — Hétérocaryoses — Mutagenèse — *Glomerella cingulata*.

Summary

ANTHRACNOSE OF *Cucurbitaceae*. II. HETEROCARYOSIS IN *Colletotrichum lagenarium* (PASS.) ELL. ET HALS. In the view of estimating the heterocaryosis part in variability of *Colletotrichum lagenarium*, pairing of six induced mutants was made between them and with a strain of *Glomerella cingulata*. Cytological observations indicate that vegetative cells are predominantly uninucleate. Only few of them have more than one nucleus: generally they are issued from anastomosis between two cells, of the same or of different genotypes. Autoanastomosis is always possible. Interspecific association between *C. lagenarium* and *G. cingulata* has not been found. Heterocaryosis, always restricted to a few cells, is carried out only between some strains of *C. lagenarium*. Consequences of limitations in intraspecific cells fusion and of the uninucleate state of conidia are debated in the scope of the populations structure of pathogenic fungi.

Key words : *Colletotrichum lagenarium* — Heterocaryoses — Mutagenesis — *Glomerella cingulata*.

Introduction

L'effet des travaux entrepris pour lutter contre les maladies parasitaires des plantes, que ce soit en améliorant la résistance variétale ou en

appliquant de nouveaux traitements, est limité par la variabilité des parasites. A l'intérieur des espèces parasites, il existe des individus génétiquement différents et il peut toujours en apparaître de nouveaux. Aussi l'élaboration d'une nouvelle

* Laboratoire de Cryptogamie, Associé au C.N.R.S. (L.A. 115), Université de Paris-sud, 91 405 Orsay.

stratégie de lutte passe-t-elle par une description préalable de la population parasite, des caractéristiques de ses constituants, de leur répartition géographique et de leur importance relative dans la population. Pour que l'efficacité de cette stratégie soit durable, cette description ne suffit pas et il ne suffit pas non plus d'identifier les éléments de cette population qui ont le plus de chance d'attaquer la culture à l'instant donné par ce qu'ils sont alors les plus fréquents. Il faut, en plus, prévoir l'évolution de cette population et l'apparition de nouveaux génotypes parasites, en particulier sous l'effet des changements que l'amélioration de la résistance de la plante cultivée introduira dans la structure de la population hôte ou sous l'effet des changements induits dans le milieu de vie offert au parasite par la mise en œuvre de nouveaux traitements chimiques. Cela ne peut être déduit que d'une étude de la variabilité de l'espèce parasite, de ses modalités et de leurs conséquences, notamment pour le pouvoir pathogène.

Chez les parasites privés de reproduction sexuelle, ou qui n'y ont recours qu'exceptionnellement, l'hétérocaryose, définie comme l'association au sein d'une même unité fonctionnelle protoplasmique de deux ou de plusieurs noyaux génétiquement différents (PUHALLA et MAYFIELD, 1974) est une source importante de variations, par elle-même et en tant que phase initiale d'un cycle de recombinaison mitotique (PONTECORVO, 1953) susceptible de se substituer à la méiose.

Le *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Hals. est précisément, représentatif d'un genre, nombreux et polyphage, dont les espèces se propagent le plus souvent sous des formes asexuées. La démonstration de l'intervention de l'hétérocaryose et de la parasexualité donnerait accès aux méthodes génétiques d'analyse de son pouvoir pathogène. Elle ouvrirait une nouvelle voie d'étude des échanges génétiques interspécifiques et apporterait ainsi des informations sur les rapports qui lient les espèces au sein du genre *Colletotrichum* Cda et pourrait conduire à en réviser la taxinomie.

La première étape de cette démonstration est de savoir si des génomes différents peuvent, ou non, cohabiter dans un même mycélium. Pour ce faire, nous avons entrepris de créer des mutants physiologiquement déficients puis tenter d'associer, par le biais des anastomoses spontanées, les noyaux de deux lignées marquées par des auxotrophies et susceptibles de se compléter mutuellement.

Matériel et méthodes

1 ORIGINE DE SOUCHES

A partir de la souche sauvage (*C-l.*) et des mutants C_467 et C_88 de *C. lagenarium* déjà décrits

(SERE, 1981), nous avons induit des mutants auxotrophes en adoptant le protocole suivi par LEGRAND-PERNOT et GERLINGER (1974) pour *Colletotrichum musae*; l'agent mutagène est la N-méthyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine. L'identification des déficiences a été faite selon la méthode de HOLLIDAY (1956).

Nous avons également fait usage d'un mutant de *Glomerella cingulata* (Ston.) Sp. et Schr. (T_4171) obtenu par Martine TROCME à partir d'une souche sauvage isolée du Bananier et caractérisée par un besoin en acides aminés non déterminés.

2 MILIEUX ET MODE DE CULTURE

En plus des milieux usuels : bouillon de malt (maltea « Moser » : 20 g; agar : 20 g; eau : 1 l), bouillon d'avoine (crème d'avoine : 20 g; agar : 20 g; eau : 1 l), nous avons défini un milieu synthétique couvrant le besoin minimum des souches prototrophes. Sa composition est la suivante : KH_2PO_4 : 1 g; $MgSO_4 \cdot 7OH_2$: 0,5 g; KCl : 0,5 g; $FeSO_4 \cdot 7OH_2$: 0,01 g; $ZnSO_4 \cdot 7OH_2$: 0,0008 g; $MnSO_4 \cdot 4OH_2$: 0,0004 g; $CuSO_4 \cdot 5OH_2$: 0,0002 g; $NaNO_3$: 2 g; glucose : 20 g; agar Noble « Difco » : 25 g; eau bidistillée : 1 l.

Un inhibiteur a été parfois incorporé au bouillon de malt gélosé : thiouracile (1 g.l⁻¹), isoniazide (1 g.l⁻¹), dinitrophénol (0,5 g et 1 g.l⁻¹), déhydroacétate de sodium (0,1 à 0,5 g.l⁻¹), dichloro (2,6), nitro (4), aniline (0,3 à 0,5 g.l⁻¹).

Sauf mention particulière, les cultures sont conduites à l'obscurité, à 26 °C, et sous 60 % d'humidité relative et les observations sont effectuées 7 jours après l'ensemencement.

3 CRÉATION ET ENTRETIEN DES CLONES

Des conidies, à raison d'une centaine au plus par boîte de Petri sont dispersées sur bouillon de malt gélosé. Après 12 à 15 h de culture à 26 °C, les microthalles bien individualisés sont prélevés sous la loupe et repiqués individuellement.

4 OBSERVATIONS CARYOLOGIQUES

Les noyaux des conidies ont été colorés par la méthode de Giemsa selon BAKERSPIEGEL (1960), après fixation dans le Carnoy et hydrolyse dans une solution d'HCl N à 60 °C. Pour les cellules végétatives, le même procédé a été appliqué à du mycélium développé sur des lamelles de verre appliquées en bordure de thalles en croissance.

5 OBSERVATION DES ANASTOMOSES

Une bouture prélevée dans une culture en croissance est déposée sur un film de cellulose (Cellophane) placé à la surface d'une boîte de Petri contenant un milieu nutritif : l'un des milieux naturels ou le milieu minimum pour les lignées prototrophes, le milieu minimum convenablement supplémenté pour les lignées auxotrophes.

Pour suivre la progression des hyphes, la feuille de cellulose est transférée sur une lamelle de verre. L'ensemble est retourné et fixé par une graisse aux silicones sur un anneau de verre, rendu lui-même solidaire d'une lame porte-objet par la même graisse. L'anneau emprisonne une goutte d'eau destinée à entretenir une humidité élevée. Ce dispositif permet d'observer sous les plus forts grossissements du microscope optique les figures d'anastomose entre rameaux mycéliens d'un même microthalle.

Pout obtenir, favoriser et observer les fusions entre filaments de génotypes différents, le même

protocole est suivi : les deux boutures sont semées face à face sur la feuille de cellulose, le milieu de culture est le milieu minimum non supplémenté quand les lignées ainsi confrontées sont auxotrophes et susceptibles de se compléter mutuellement.

Résultats

1 ÉTUDE DES LIGNÉES MUTANTES

A partir des trois souches prototrophes originelles (*C.-l.*, *C₄67* et *C₈8*) de *C. lagenarium*, une quarantaine de lignées incapables de croître sur milieu minimum ont été obtenues. Au cours de leur entretien *in vitro*, beaucoup ont restauré leur prototrophie primitive et, après plusieurs mois de culture, 11 mutants auxotrophes stables ont été reconnus; 5 d'entre eux ne formaient aucune conidie sur aucun des milieux offerts et ont été écartés. Les caractères phénotypiques susceptibles d'aider à distinguer les 6 autres ont été recherchés; ils sont résumés dans le tableau I.

TABLEAU I

Caractères distinctifs des mutants
Distinctive characters of mutant strains

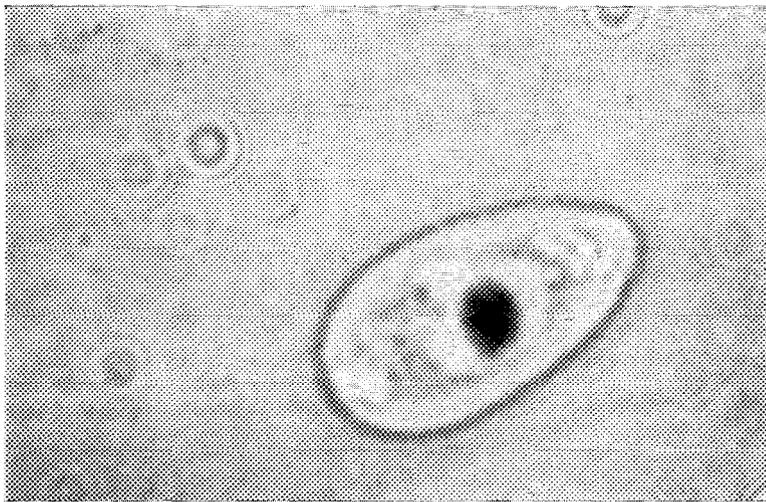
Souches prototrophes traitées	Mutants auxotrophes obtenus	Déficiência	Morphologie du thalle		Résistance aux inhibiteurs					
			malt	avoine	DHA en ppm			DCNA en ppm		
					100	300	500	300	500	1000
<i>C₄67</i>	67-123 67-528	méthionine uracile	V a ⁻	R a ⁺	+	-	-	+	+	-
			VS a ⁺	V a ⁺	+	+	-	+	+	-
<i>C₈8</i>	8-68	leucine	VG a ⁻	R a ⁺	-	-	-	-	-	-
	0-6	arginine	V a ⁻	V a ⁺	+	-	-	+	-	-
<i>C.-l.</i>	<i>C₄309</i> <i>C₈14</i>	uracile adénine	VS a ⁺	VS a ⁺	+	-	-	-	-	-
			VS a ⁺	VS a ⁺	+	-	-	-	-	-

LÉGENDE. — Aspects culturaux : V : vert ; VS : vert sombre ; VG : vert grisâtre ; R : rosâtre ; a⁺ : présence d'acervules ; a⁻ : absence d'acervules. Les mutants 67-123 et 8-68 exigent respectivement de la méthionine et de la leucine pour croître sur bouillon d'avoine. Résistance aux inhibiteurs : DHA : déhydroacétate de sodium ; DCNA : dichloro 2,6-nitro 4-aniline ; + : croissance continue ; - : pas de croissance ou croissance limitée au semis.

En premier lieu, leurs besoins nutritionnels ont été déterminés. Un passage sur milieu minimum enrichi de peptone (2 g/l) a permis de reconnaître trois mutants déficients pour la biosynthèse d'acides aminés. Leurs exigences ont été précisées par la méthode de HOLLIDAY (1956) : elles sont satisfaites

respectivement par la méthionine (mutant 67-123), la leucine (mutant 8-68) et l'arginine (mutant 0-6).

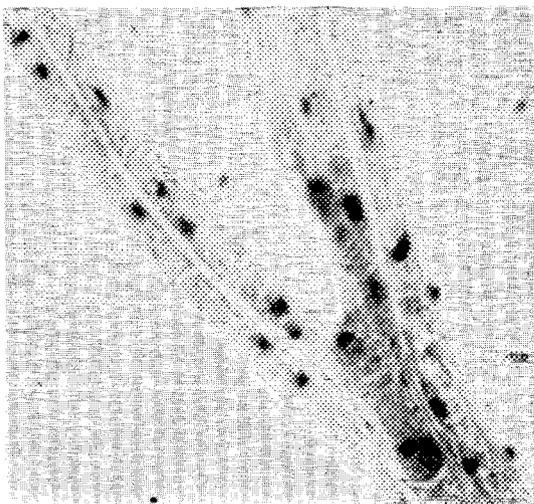
La croissance des trois autres lignées déficientes n'est restaurée ni par l'addition de peptone au milieu minimum ni par l'apport d'un mélange de facteurs de croissance comprenant : acide folique



a



b



c



d

FIG. 2. — Observations caryologiques. *Nuclear status of conidia and mycelium.* **a** : conidie, **b** : apex d'un filament, **c** : cellules mycéliennes binucléées, **d** : migration nucléaire après une anastomose.

(20 mg.l⁻¹), acide nicotinique (20 mg.l⁻¹), thiamine (20 mg.l⁻¹), riboflavine (20 mg.l⁻¹), biotine (10 mg.l⁻¹), inositol (10 mg.l⁻¹), choline (10 mg.l⁻¹). En revanche, ces trois lignées croissent normalement et fructifient lorsqu'on ajoute au milieu minimum 50 mg.l⁻¹ de chacune des quatre bases puriques et pyrimidiques suivantes : adénine, guanine, cytosine et thymine. Ajoutée seule, l'adénine permet le développement du mutant *C₈14*; l'uracile a le même effet pour les mutants *67-528* et *C₄309*.

L'effet positif de ces substances sur la croissance et le développement des mutants ne permet pas de préjuger des fonctions précises qui ont été altérées par les mutations. Ainsi, la lignée *67-528* restaure sa croissance en présence d'autres métabolites que l'uracile. Le remplacement de cette molécule (fig. 1) par d'autres de la même chaîne montre que la perturbation engendrée dans la chaîne de biosynthèse des bases pyrimidiques par la mutation se situe au tout début de cette chaîne, au niveau de l'aspartate-transcarbamylase.

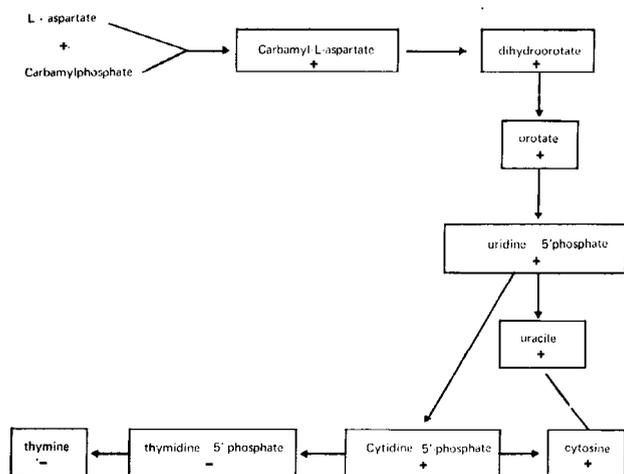


FIG. 1. — Voies de biosynthèse des bases pyrimidiques (simplifiées, d'après COHEN, 1967) et correction de la déficience de *C. lagenarium* mutant *67-528*. *Metabolic pathways leading to pyrimidines synthetics* (adapted from COHEN, 1967) and counteracting effect of precursors on *C. lagenarium* deficient strain *67-528*.

+ : croissance ; — : absence de croissance

Ces six mutants auxotrophes présentent d'autre part des caractères morphologiques et des vitesses de croissance sur extrait de malt et sur bouillon d'avoine qui permettent de les distinguer partiellement. Leur distinction peut être améliorée par l'observation de leurs réactions vis-à-vis d'inhi-

biteurs. Parmi les 5 inhibiteurs mis à l'épreuve, 2 sont particulièrement utiles à cet égard : le déhydroacétate de sodium à 100 et 300 ppm et le 2,6-dichloro-4 nitro-aniline à 300 et 500 ppm (tabl. I).

2 ÉTAT NUCLÉAIRE

Les conidies non germées des souches sauvages et mutantes sont unicellulaires et régulièrement uninucléées (fig. 2a). En conséquence, les lignées décrites ici, qui proviennent toutes d'isolements monospores répétés, peuvent être considérées comme autant de clones homocaryotes.

Les cellules végétatives sont en majorité uninucléées. C'est en particulier le cas de toutes les cellules apicales observées (fig. 2b). Il existe cependant de rares cellules pourvues de plus d'un noyau. Les cellules plurinucléées ne se rencontrent qu'assez loin en arrière de ces apex, dans les régions âgées des filaments (fig. 2c). Le plus souvent, ce sont des cellules de fusion ou des cellules proches des points d'anastomose (fig. 2d).

3 ANASTOMOSES ENTRE MUTANTS AUXOTROPHES

Les six mutants déficients de *G. lagenarium* et la lignée auxotrophe *T₄171* de *G. cingulata* ont été confrontés deux à deux et avec eux-mêmes. Les résultats, rassemblés dans le tableau II, appellent trois remarques.

TABLEAU II

Anastomoses entre lignées auxotrophes de *C. lagenarium*
Anastomosis between auxotrophie strains of C. lagenarium

	T ₄ 171	0-6	C ₄ 309	C ₈ 14	67-123	67-528	8-68
8-68	—	—			+	+	+
67-528	—	—			+	+	
67-123	—	+			+		
C ₈ 14	—		+	+			
C ₄ 309	—		+				
0-6	—	+					
T ₄ 171	+						

+ : anastomoses ; — : pas d'anastomose ; blanc : non confrontés.

Chaque lignée s'anastomose avec elle-même et est donc auto-compatible. La technique utilisée pour réaliser et observer les fusions d'hyphes ne peut être responsable de l'absence d'anastomoses entre lignées.

Le mutant T_4171 de *G. cingulata* ne s'unit avec aucun des six mutants de *C. lagenarium* auxquels il a été confronté.

Les divers mutants auxotrophes issus d'une même souche prototrophe de *C. lagenarium* sont intercompatibles dans toutes les combinaisons effectuées. En revanche, la présence aussi bien que l'absence d'anastomoses peuvent être constatées entre lignées provenant de souches-mères différentes. Elles sont cependant toutes issues du même isolat sauvage entretenu en culture *in vitro* depuis 1965 (ESQUERRE-TUGAYE, 1977). Leur filiation est retracée dans la fig. 3.

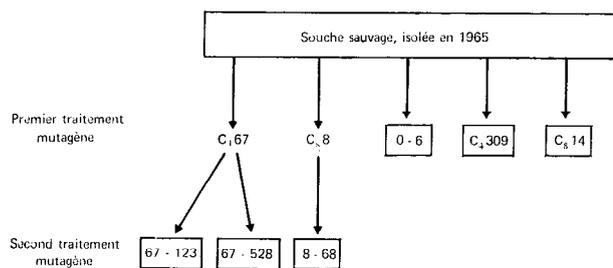


FIG. 3. — Filiation des lignées mutantes auxotrophes de *C. lagenarium*. Origin of auxotrophic mutant strains of *C. lagenarium*.

Conclusion et discussion

Dans les limites étroites de la présente expérimentation, conduite avec six lignées seulement, toutes d'une même origine, le *Colletoletrichum lagenarium* semble être une espèce chez laquelle l'état unicellé des cellules végétatives est l'état prédominant. Les cellules apicales où se localise la croissance en longueur des axes et de leurs rameaux, sont toujours apparues pourvues d'un seul noyau. Cela implique que la division du noyau de ces cellules soit toujours très tôt suivie de la formation d'une cloison transversale. De même, l'immense majorité des cellules intercalaires sont uninucléées. Lorsqu'un thalle est hétérocaryotique, cet état doit, en conséquence, résulter beaucoup plus fréquemment de l'association récente de cellules porteuses de génomes différents que d'une coordination des mitoses et des cloisonnements transversaux qui conduirait à l'édification de files durables de cellules mixtes. DUTTA et GARBER (1962), en cultivant ensemble deux mutants de *C. lagenarium*, résistants l'un à

l'acriflavine, l'autre à la filipine, ont obtenu sur un milieu contenant les deux inhibiteurs à la fois, un mycélium qui serait hétérocaryote; toutefois, leurs expériences n'excluent pas définitivement que sa double résistance résulte de mutations ou de phénomènes d'adaptation (PARMENTIER *et al.*, 1963).

Cependant, les conditions de réalisation de systèmes hétérocaryotiques, au moins temporaires existent. Deux ou plusieurs noyaux ont été observés dans quelques cellules situées sur le trajet des filaments. C'est notamment le cas des cellules mixtes nées d'une anastomose et quelques-unes de leurs voisines.

La formation d'anastomoses entre files cellulaires d'un même thalle, donc de même génotype, est fréquente et constante. Les mêmes possibilités subsistent entre lignées mutantes séparées depuis quelques mois seulement d'une même souche originelle : les deux mutants C_4309 et C_814 obtenus directement par un traitement mutagène de la souche sauvage *C.-I.* sont pleinement intercompatibles, il en est de même pour les deux mutants $67-123$ et $67-528$ séparés après deux mutagenèses successives appliquées au même matériel de départ. En revanche, les anastomoses peuvent être sinon impossibles ou non viables mais au moins rendues excessivement rares puisqu'elles n'ont pas été observées entre des lignées dont la filiation est moins directe comme $0-6$ et $8-68$ ou $67-528$ (tabl. II et fig. 3). Le déterminisme de ces restrictions opposées aux anastomoses est probablement complexe : le mutant $0-6$, confronté avec trois autres partenaires n'est compatible qu'avec un seul ($67-123$) d'entre eux tandis que le mutant $67-123$ est compatible avec tous.

Enfin, aucun mutant de *C. lagenarium* n'a formé d'anastomose visible avec le mutant auxotrophe T_4171 de *Glomerella cingulata*. Cela contredit apparemment l'observation (TROCME, 1973) de figures de fusion entre tubes germinatifs émis par des conidies des souches sauvages de ces deux espèces. Mais dans les expériences rapportées ici, les tentatives d'anastomose ont été conduites avec des mycéliums végétatifs bien établis sur leur substrat et âgés de plusieurs jours. Il est possible que les anastomoses se contractent plus aisément entre des filaments jeunes qu'entre des hyphes plus différenciées. Une telle situation a été décrite chez le *Pestalozzia annulata* (CHEVAUGEON et NGUYEN VAN, 1961) : une réaction d'incompatibilité fait échouer les fusions entre cellules homocaryotiques âgées alors que les mêmes mycéliums jeunes fusionnent sans restriction.

Quelle qu'en soit l'explication, cette limitation de l'aptitude du *C. lagenarium* à constituer des cellules plurinucléées hétérocaryotiques fait prévoir

des conséquences importantes pour la structure des populations de cette espèce et pour leurs relations avec les espèces apparentées. En effet, le *C. lagenarium* comme beaucoup d'autres champignons parasites vit et se propage essentiellement, dans les conditions naturelles, sous une forme asexuée. L'absence ou, au moins, l'extrême rareté des fructifications de la reproduction sexuelle annule ou réduit très fortement les possibilités d'apparition de nouvelles combinaisons génétiques par la voie de la méiose. L'hétérocaryose et la parasexualité, jointes aux mutations, sont alors les seuls substituts susceptibles de maintenir la variabilité intraspécifique nécessaire pour faire face aux changements du milieu, notamment à ceux qui résultent des traitements antifongiques et de la mise en culture de nouvelles variétés de l'hôte. Or la parasexualité exige que des noyaux génétiquement différents puissent coexister et fusionner.

Le caractère constamment uninucléé des apex des filaments et des conidies lors de leur séparation du sporophore s'oppose à la généralisation d'un état hétérocaryotique aussi bien au cours de la croissance du mycélium qu'à travers la reproduction asexuelle. Les associations hétérocaryotiques, toujours rares et limitées au mycélium âgé, s'en trouvent automatiquement rompus.

Si, comme cela est bien connu chez d'autres champignons parasites, comme *Rhizoctonia solani* (*inter alia* : PARMETER *et al.*, 1969; STRENTTON et FLENTJE, 1972), la fusion des hyphes est gouvernée par des facteurs génétiques et si, comme les présentes expériences le montrent, des incompatibilités intraspécifiques peuvent être induites par mutagenèse, on peut concevoir que dans les conditions naturelles, la mutation spontanée isole des individus du reste de la population de *C. lagenarium* et amorce ainsi des phénomènes de spéciation. De son côté, la production d'un très grand nombre de spores asexuelles uninucléées peut assurer efficacement la dissémination des nouvelles lignées. Dans la mesure où elles sont aptes à supporter favorablement la compétition que leur imposent les populations plus anciennement établies, cela peut être une explication de la rapidité avec laquelle s'installe des souches résistantes à certaines fongicides. Cela peut également rendre compte du nombre particulièrement élevé d'« espèces » décrites dans le genre *Colletotrichum* Gda, de leur polyphagie et parfois de leur coexistence sur des gammes d'hôtes en partie communes.

Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M.
le 23 février 1981.

BIBLIOGRAPHIE

- BAKERSPIGELS (A.), 1960. — Nuclear structure and division in the vegetative mycelium of the Saprolegniaceae. *Amer. J. Bot.*, 47 : 94-100.
- CHEVAUGEON (J.) et NGUYEN VAN (H.), 1961. — L'auto-incompatibilité, conséquence régulière de la différenciation chez le *Pestalozzia annulata*. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 252 : 4183-4185.
- COHEN (G.), 1967. — Le métabolisme cellulaire et sa régulation. Hermann ed., Paris, 250 pages.
- DUTTA (S. K.) et GARBER (E. D.), 1960. — Genetics of phytopathogenic fungi. III. An attempt to demonstrate the parasexual cycle in *Colletotrichum lagenarium*. *Bot. Gaz.*, 122 : 118-121.
- ESQUERRE-TUGAYE (M.-Th.), 1977. — Les glycoprotéines des surfaces cellulaires végétales : étude particulière d'une glycoprotéine à hydroxyproline dans les plantules de Melon au cours d'une maladie parasitaire. Thèse Doctorat État, Toulouse, 144 pages.
- HOLLIDAY (R.), 1956. — A New Method for Identification of Biochemical Mutants of Micro-organisms. *Nature*, 178 : 987.
- LEGRAND-PERNOT (F.) et GERLINGER (C.), 1974. — Création expérimentale de lignées pathogènes et sexuées à partir d'un *Colletotrichum musae* et d'un *Glomerella cingulata*. *Fruits*, 29 : 181-189.
- PARMETER (Jr.), SNYDER (W. C.) et REICHEL (R. E.), 1963. — Heterokaryosis and variability in plants pathogenic fungi. *Ann. Rev. Phytopath.*, 1 : 51-78.
- PARMETER (Jr.), SHERWOOD (R. T.) et PLATT (W. D.), 1969. — Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopath.*, 59 : 1270-1278.
- PONTECORVO (G.), 1956. — The parasexual cycle in fungi. *Ann. Rev. Microbiol.*, 50 : 393-400.
- PUHALLA (J. E.) et MAYFIELD (J. E.), 1974. — The mechanism of heterokaryotic growth in *Verticillium dahliae*. *Genetics*, 76 : 411-422.
- SERE (Y.), 1981. — L'antracnose des cucurbitacées. I. Pouvoir pathogène du *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Hals. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Biol.*, n° 44 : 49-53.
- STRENTTON (H. M.) et FLENTJE (N. T.), 1972. — Inter-isolate heterokaryosis in *Thanatephorus cucumeris*. I. Between isolates of similar pathogenicity. *Aust. J. Biol. Sci.*, 25 : 293-303.
- TROCME (M.), 1973. — Étude des bases génétiques du pouvoir pathogène de l'agent de l'antracnose du Melon, *Colletotrichum lagenarium*. Rapport D.E.A., Faculté des Sciences, Orsay, 36 pages.