



HAL
open science

Relations entre la croissance et le pouvoir pathogène chez *Corynebacterium fascians* (Tilford) Dowson

Jean-Gérard Rivain, Jean Roussaux

► **To cite this version:**

Jean-Gérard Rivain, Jean Roussaux. Relations entre la croissance et le pouvoir pathogène chez *Corynebacterium fascians* (Tilford) Dowson. *Agronomie*, 1982, 2 (5), pp.479-486. <hal-00884407>

HAL Id: hal-00884407

<https://hal.science/hal-00884407v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Relations entre la croissance et le pouvoir pathogène chez *Corynebacterium fascians* (Tilford) Dowson

Jean-Gérard RIVAIN & Jean ROUSSAUX

Université Pierre et Marie Curie, Laboratoire de Biologie végétale IV, 12, rue Cuvier, F 75005 Paris.

RÉSUMÉ

Corynebactérie,
Croissance,
Nutrition,
Pois,
Epiphytisme,
Pathogénèse.

La croissance, en culture *in vitro* ou à la surface de l'hôte, de souches de *Corynebacterium fascians*, pathogènes ou non pour le pois, est d'abord étudiée. *In vitro*, les exigences trophiques des diverses souches sont modérées et identiques. Quelques caractéristiques (cycle morphologique, excrétion de caroténoïdes) différencient toutefois les souches pathogènes des non pathogènes. Sur des stipules de pois, la croissance bactérienne est caractérisée par une vitesse réduite et une longue phase de latence dont la durée est écourtée par l'addition de milieu synthétique au moment de l'inoculation. L'existence d'une densité bactérienne limite est également mise en évidence. Une trame vraisemblablement d'origine bactérienne permettrait l'adhérence des parasites à la surface de l'hôte. Enfin il n'existe pas de corrélation entre le pouvoir pathogène des souches et la croissance sur les tissus des stipules.

Les variations de l'intensité des symptômes pathologiques en fonction de l'état physiologique des bactéries ou de leur environnement trophique sont ensuite décrites. Le pouvoir pathogène, dont l'expression est stimulée par l'addition d'asparagine ou de thiamine, est le plus fort lorsque les bactéries inoculées proviennent de cultures en phase de ralentissement de la croissance. Certains aspects du développement de *C. fascians* sur l'hôte sont discutés et la position écologique de ce microorganisme reconsidérée.

SUMMARY

Corynebacteria,
Growth,
Nutrition,
Pea,
Epiphytism,
Pathogenesis.

Relationships between growth and pathogenicity of Corynebacterium fascians (Tilford) Dowson

The growth of different strains of *Corynebacterium fascians*, pathogenic or non pathogenic for the garden pea, has been studied. *In vitro*, all strains have simple and identical nutritional requirements. However, pathogenic and non-pathogenic strains showed some differences in their morphological cycle and the excretion of carotenoid substances. Bacterial growth on isolated stipules was characterised by a slow rate and a long phase of adaptation which could be reduced by the addition of synthetic medium at the moment of inoculation. Evidence is given for a maximal bacterial density on the leaf cuticle. Observation of the plant surface by electron microscopy suggests that the microorganisms are retained on the host surface by some kind of bacterial glycocalyx. There was no correlation between bacterial growth on the plant and pathogenicity of the strain.

Modification of pathogenicity with respect to the physiological state of the bacteria and to their nutritional environment has also been investigated. Maximal pathogenicity was obtained after addition of asparagine or thiamine to the inoculum. Bacteria in the decline phase of growth appeared to be the most pathogenic. Some features of the growth of *C. fascians* on the host are discussed, together with their ecological significance.

I. INTRODUCTION

Corynebacterium fascians (Tilford) Dowson est une bactérie phytopathogène qui provoque la formation de balais de sorcière caractérisés par une inhibition de croissance de la tige et de la racine, le développement des bourgeons axillaires et l'inhibition de la rhizogenèse secondaire (ROUSSAUX, 1965). Ces anomalies de croissance seraient liées à la production de cytokinines par le parasite : il est en effet possible de reproduire l'ensemble des symptômes de la maladie par des applications de ces substances (ROUSSAUX, 1966b) ; en outre, plusieurs d'entre elles ont été caractérisées dans les milieux de culture ou dans les t-RNA bactériens (MURAI *et al.*, 1980).

Si les causes de la maladie sont donc relativement bien

connues, les besoins nutritifs de *C. fascians* et les modalités de sa croissance sur la plante n'ont, par contre, été que peu étudiés. Les premières recherches sur la nutrition *in vitro* de ce micro-organisme, uniquement qualitatives, ont montré qu'il utilise de nombreux substrats et que la thiamine est le seul facteur de croissance indispensable (MOHANTY, 1951). Sur l'hôte, il paraît confiné à la surface des organes aériens (LACEY, 1955) ; or, il ne semble pas que la quantité de nutriments disponibles au niveau de la phyllosphère soit importante : c'est ainsi que des mutants biochimiques de *C. fascians*, incapables de synthétiser une substance donnée (acides aminés, bases), ne se développent pas sur l'hôte et ne sont pas pathogènes, à moins que le nutriment spécifique ne leur soit fourni (JACOBS *et al.*, 1965).

Le présent travail précise l'influence de divers nutriments

sur la croissance *in vitro* de souches de *C. fascians* pathogènes ou non, étudie les modalités de leur développement *in vivo* et permet de relier les exigences trophiques et le pouvoir pathogène.

II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

A. Culture et infection des plantes

Des plants de pois (*Pisum sativum*, cv. « Kalife ») sont cultivés stérilement sur un milieu nutritif gélosé (ROUSSAUX, 1965), à 22 °C, sous une photopériode de 15 h. L'infection est réalisée, 24 h après la mise en germination des graines, par dépôt sur la plantule de 0,1 ml d'une suspension bactérienne de concentration connue.

B. Etude de la nutrition bactérienne *in vitro*

La souche étudiée (*C. fascians*, n° 30) est entretenue sur un milieu synthétique liquide (Ms): Saccharose: 10 g; asparagine: 2 g; K₂HPO₄: 7 g; KH₂PO₄: 3 g; MgSO₄·7H₂O: 0,1 g; thiamine, HCl: 0,01 g; H₂O: qspf 1 l (ROUSSAUX, 1965). Les cultures sont placées sur un agitateur rotatif (124 tours/mn), à 22 °C. La composition des autres milieux de culture sera exposée avec les résultats. La croissance est estimée par photométrie (absorbance mesurée à 546 nm). La morphologie des bactéries est observée en microscopie à contraste de phase.

C. Etude de la croissance bactérienne à la surface de tissus foliaires

La croissance des microorganismes est étudiée à la surface de stipules de pois. Des fragments de tige portant un nœud sont prélevés aseptiquement sur des plants âgés de 2 semaines puis repiqués dans des tubes contenant du milieu nutritif gélosé. Le pétiole est éliminé et les ébauches gemmaires détruites par cautérisation. L'inoculation est faite par dépôt, sur la face supérieure de chaque stipule, de 2 µl d'une suspension bactérienne dans l'eau ou le milieu Ms additionné d'alcool (20 °GL), ce qui permet le maintien de la micro-goutte d'inoculum à la surface cuticulaire. La surface inoculée est estimée à l'aide d'un micromètre oculaire. Les stipules infectées sont conservées dans les conditions d'éclairage et de températures définies antérieurement et l'évaluation de la croissance faite par numération des colonies apparues sur milieu nutritif gélosé, après broyage d'une douzaine de stipules dans de l'eau stérile, dilutions adéquates et étalements.

D. Observation en microscopie électronique

Les échantillons sont fixés par le glutaraldéhyde et l'acide osmique, puis déshydratés. En vue d'observations en microscopie électronique à transmission, ils sont inclus dans de l'araldite, coupés et contrastés au citrate de plomb et à l'acétate d'uranyle. Pour les observations en microscopie électronique à balayage, ils sont transférés dans de l'acétate d'isoamyle puis séchés sous vide à 30 °C. Il n'a pas été fait de point critique, cette technique relativement drastique risquant de décoller les bactéries de la surface foliaire.

III. RÉSULTATS

A. Etude de la croissance *in vitro*

La souche n° 30, conservée sur milieu synthétique depuis 1960, est hétérogène. Par ailleurs, il a été possible à plusieurs reprises d'isoler des colonies bactériennes morphologiquement différentes dont les caractères se sont révélés stables. Plusieurs de ces isolats ne sont pas pathogènes pour le pois et l'on ne note aucune corrélation entre le pouvoir pathogène et la morphologie des colonies (tabl. 1).

Les caractéristiques de ces souches sont étudiées afin de déceler d'éventuelles différences en ce qui concerne leurs exigences trophiques. C'est pourquoi l'influence sur la croissance de diverses concentrations des constituants du milieu Ms est d'abord déterminée.

1. Croissance et morphologie dans le milieu Ms

Dans le milieu Ms, les paramètres de la croissance des diverses souches, pathogènes ou non, sont identiques: la durée des phases de latence, de croissance exponentielle et de ralentissement sont respectivement de 10, 30 et 60 h; la croissance maximale est égale à 3,9 unités de D.O. et le temps de doublement pendant la phase de croissance exponentielle est de 4 h.

Deux caractères permettent toutefois de différencier les souches pathogènes des non pathogènes. En effet, les bactéries présentent un cycle morphologique caractérisé par des variations de leur longueur moyenne (fig. 1); or, pour les souches non pathogènes, la longueur maximale correspond approximativement au double de la longueur minimale observée, tandis que pour les souches pathogènes, elle atteint le triple de cette longueur minimale.

En outre, les bactéries rejettent des substances caroténoïdiques au cours de la phase de ralentissement de la croissance. Ce rejet est surtout important pour les souches non pathogènes (fig. 2).

TABLEAU 1

Classification des isolats obtenus à partir de la souche n° 30 de *Corynebacterium fascians*.
Designation of strains derived from *C. fascians* strain 30.

	Colonies lisses		Colonies ridées	
	Brillantes	Mates	Brillantes	Mates
Souches pathogènes	LB + 1, LB + 2, LB + 3	LM + 1, LM + 2	RB + 1	RM + 1, RM + 2, RM + 3
Souches non pathogènes	LB - 1	—	RB - 1	RM - 1, RM - 2, RM - 3

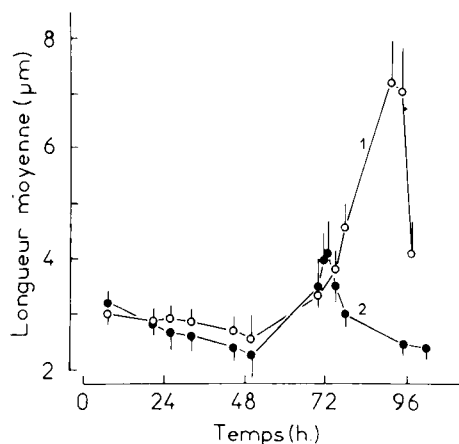


Figure 1
Evolution de la longueur des cellules de souches de *C. fascians* en culture in vitro.
1 (○) : souche LB + 1 ; 2 (●) : souche LB - 1. Longueur déterminée sur 200 individus ; intervalle de confiance au seuil 0,05.
Changes in cell length in strains of *C. fascians* grown in vitro.
1 (○) : strain LB + 1 ; 2 (●) : strain LB - 1. Cell length measured on 200 bacteria ; standard error of the mean at 5 % level.

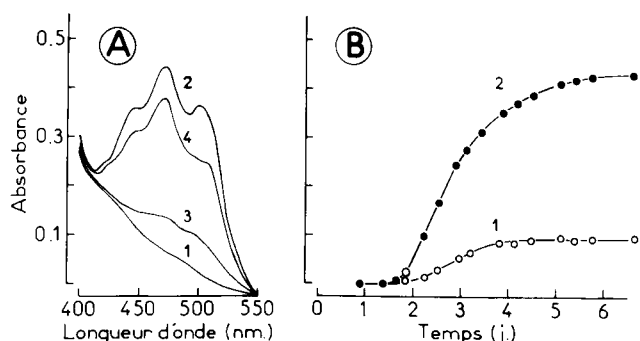


Figure 2
Spectre de carotènes et évolution de leur teneur dans les milieux de culture de *C. fascians*.
A : Spectres d'absorption de surnageants de cultures âgées de 96 h. 1 : souche LB + 1 ; 2 : souche LB - 1 ; 3 : souche RM + 1 ; 4 : souche RM - 1.
B : Evolution de l'absorbance à 472 nm de surnageants de cultures au cours de la croissance dans le milieu Ms. 1 : souche LB + 1 ; 2 : souche LB - 1.

Presence of carotenoids and changes in amounts of carotenoids in growth media with *C. fascians*.

A : Absorption spectra of the supernatant of growth medium after 96 h.
1 : strain LB + 1 ; 2 : strain LB - 1 ; 3 : strain RM + 1 ; 4 : strain RM - 1.

B : Changes of absorbance at 472 nm during growth in Ms medium.
1 : strain LB + 1 ; 2 : strain LB - 1.

2. Influence des constituants du milieu Ms sur la croissance bactérienne

Quels que soient les milieux étudiés, le temps de doublement et la croissance maximale caractéristiques des diverses souches se sont révélés identiques.

Saccharose : L'influence sur la croissance bactérienne de concentrations en saccharose variant de 0 à 100 g/l est étudiée, les autres constituants étant aux mêmes concentrations que dans le milieu Ms (fig. 3, courbe 1). Les variations de la concentration en saccharose n'affectent que la croissance maximale, les temps de latence et le doublement étant inchangés.

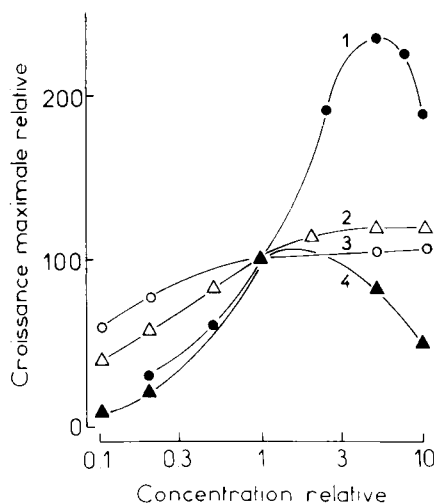


Figure 3
Variations de la croissance maximale relative en fonction de la concentration relative des différents constituants du milieu Ms.
1 (●) saccharose ; 2 (Δ) thiamine ; 3 (○) sels minéraux ; 4 (▲) asparagine. Souche LB + 1. Croissance maximale relative = absorbance maximale dans le milieu étudié/absorbance maximale dans le milieu Ms (× 100).

Change in growth in relation to the composition of Ms medium.
1 (●) sucrose ; 2 (Δ) thiamine ; 3 (○) salts ; 4 (▲) asparagine. Strain LB + 1. Relative maximum growth = maximum absorbance in experimental medium/maximum absorbance in Ms medium (× 100).

Azote : Trois sources d'azote sont testées : l'asparagine, les ions ammonium et nitrate. Comme dans le cas du saccharose, les variations de la concentration en asparagine n'affectent que la croissance maximale (fig. 3, courbe 4). Par contre, l'utilisation des ions ammonium ou nitrate détermine une augmentation du temps de doublement qui est égal à 7,1 h en présence de NH_4Cl et à 10,4 h en présence de NaNO_3 (fig. 4). En outre, à teneur en azote équivalente, la croissance maximale est toujours plus faible lorsque cet élément est apporté sous forme de sels que d'asparagine.

Thiamine : Les concentrations testées varient de 0,001 à 0,1 g/l (fig. 3, courbe 2). Le temps de doublement diminue pour des valeurs supérieures à 0,05 g/l, tandis que la croissance maximale augmente avec la concentration ;

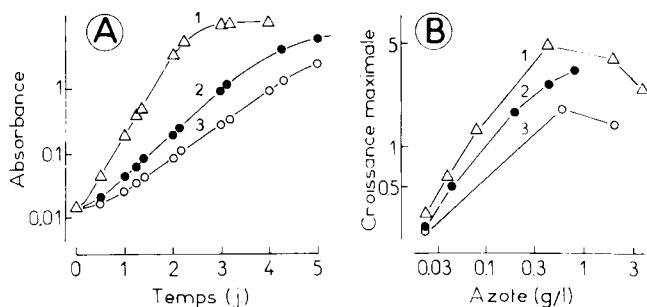


Figure 4
Influence de la nature de la source d'azote sur la croissance de *C. fascians*.
A : courbes de croissance. B : Influence de la teneur en azote sur l'absorbance maximale. 1 (Δ) asparagine ; 2 (●) NH_4Cl ; 3 (○) NO_3Na . Souche LB + 1.
Effect of nitrogen source on the growth of *C. fascians*.
A : Growth curves. B : Effect of nitrogen content on maximal absorbance. 1 (Δ) asparagine ; 2 (●) NH_4Cl ; 3 (○) NaNO_3 . Strain LB + 1.

aucun effet toxique n'est observé dans la gamme des concentrations étudiées.

Sels minéraux : La croissance maximale augmente lorsque le rapport des concentrations étudiées à celle du milieu Ms passe de 0,1 à 1 ; elle demeure constante pour des valeurs supérieures, de 1 à 10 (fig. 3, courbe 3). Ces dernières provoquent par contre un allongement de la phase de latence et du temps de doublement.

3. Influence des constituants du milieu Ms sur la longueur des bactéries

Au cours du cycle de croissance, la taille des bactéries varie, passant par un maximum au cours de la phase de ralentissement. Cette longueur est affectée par les variations de composition du milieu de culture, une diminution de la longueur moyenne des bactéries étant associée à une diminution de la croissance maximale mesurée pendant la phase stationnaire. Toutefois, de faibles concentrations en thiamine provoquent une très forte augmentation de cette longueur (12 μm pour une concentration de 0,01 g/l) alors qu'on observe une diminution de la croissance maximale.

B. Etude de la croissance *in vivo*

Deux souches sont étudiées : l'une pathogène (LB + 1), l'autre non (RM - 1). Des stipules de pois sont inoculées avec des quantités différentes de bactéries, faible (10^2 à 10^3 bactéries) ou forte (10^5 à 10^6 bactéries). Deux milieux sont employés pour apporter l'inoculum bactérien : eau et milieu standard. Les résultats consignés dans le tableau 2 et la figure 5 permettent d'indiquer que les souches non pathogènes peuvent croître à la surface des stipules et que l'utilisation du milieu standard (Ms) à la place de l'eau, comme vecteur de l'inoculum, provoque une diminution marquée de la durée de la phase de latence sans affecter le temps de doublement. Enfin, on constate que la croissance s'annule lorsque le nombre de bactéries par stipule atteint 10^8 ; ce qui correspond à une densité approximative de 30 bactéries par $100 \mu\text{m}^2$. Ces résultats ont été confirmés par 2 expériences successives.

Pour préciser la répartition des bactéries et leur morphologie, *in situ*, des observations sont réalisées en microscopie, dans le cas de la souche pathogène LB + 1 (fig. 6). Cette répartition à la surface de la plante est très variable : alors que leur densité est très faible sur la tige et les feuilles, elle est maximale au niveau de l'isthme cotylédonaire et des territoires avoisinants qui correspondent à la zone d'inocu-

TABLEAU 2

Paramètres de la croissance bactérienne à la surface de stipules isolées.
Parameters of bacterial growth on the surface of isolated pea leaf stipules.

		Inoculum : 10^2 - 10^3		Inoculum : 10^5 - 10^6	
		Eau	Ms	Eau	Ms
Phase de latence (jours)	LB + 1	6	2	2	< 2
	RB - 1	6	2	2	< 2
Temps de doublement (heures)	LB + 1	16	14	20	19
	RB - 1	21	19	21	22

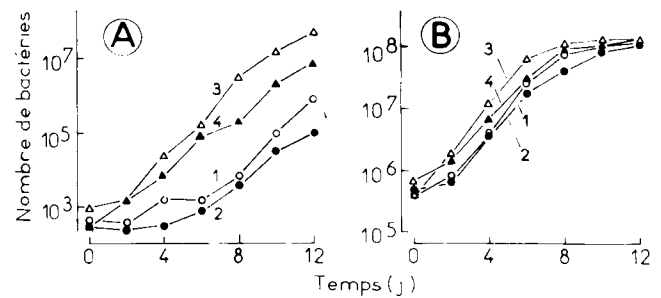


Figure 5

Croissance de *C. fascians* sur des stipules isolées de pois.
A : Inoculum faible (10^2 à 10^3 bactéries) ; B : Inoculum fort (10^5 à 10^6 bactéries). Souche LB + 1 inoculée dans de l'eau (1, \circ) ou du milieu Ms (3, Δ) ; souche RM - 1 inoculée dans de l'eau (2, \bullet) ou du milieu Ms (4, \blacktriangle).

Growth of *C. fascians* on isolated stipules of pea leaves.
A : light inoculum (10^2 to 10^3 bacteria) ; B : heavy inoculum (10^5 to 10^6 bacteria). Strain LB + 1 in water (1, \circ) or in Ms medium (3, Δ) ; strain RM - 1 in water (2, \bullet) or in Ms medium (4, \blacktriangle).

TABLEAU 3

Densité bactérienne à la surface de plantules de Pois.
Bacterial density on the surface of pea seedlings.

	Densité (bactéries/ $100 \mu\text{m}^2$)
Isthme cotylédonaire	150
Rejet cotylédonaire (base)	50
Premier entre-nœud (base)	90
Second entre-nœud (base)	10
Feuille (F1 ; nœud n° 3)	22

lation (tabl. 3). De plus, *C. fascians* adhérerait à la cuticule de l'hôte grâce à une matrice fibrillaire qui serait d'origine bactérienne (fig. 6).

C. Etude du pouvoir pathogène

1. Influence de la taille de l'inoculum

L'influence de la taille de l'inoculum bactérien sur l'intensité de certains symptômes de la maladie est étudiée, le milieu d'inoculation étant constitué par de l'eau (fig. 7). Les résultats obtenus confirment des travaux antérieurs (ROUSSAUX, 1966a). Ces observations fournissent une méthode permettant d'évaluer les variations du pouvoir pathogène d'une souche en fonction de modifications de l'environnement ou de l'état physiologique des bactéries.

2. Influence de la nature du milieu d'inoculation

Bien que l'analyse quantitative des divers symptômes ait été faite, seule l'évaluation du nombre de bourgeons axillaires, symptôme dont la reproductibilité s'est avérée la meilleure, sera exposée.

Le tableau 4 illustre la variation du nombre de bourgeons axillaires apparus en fonction de la nature du milieu d'inoculation. Si celui-ci contient du saccharose ou des sels minéraux aux mêmes concentrations que dans le milieu Ms, les résultats obtenus sont proches de ceux observés dans le

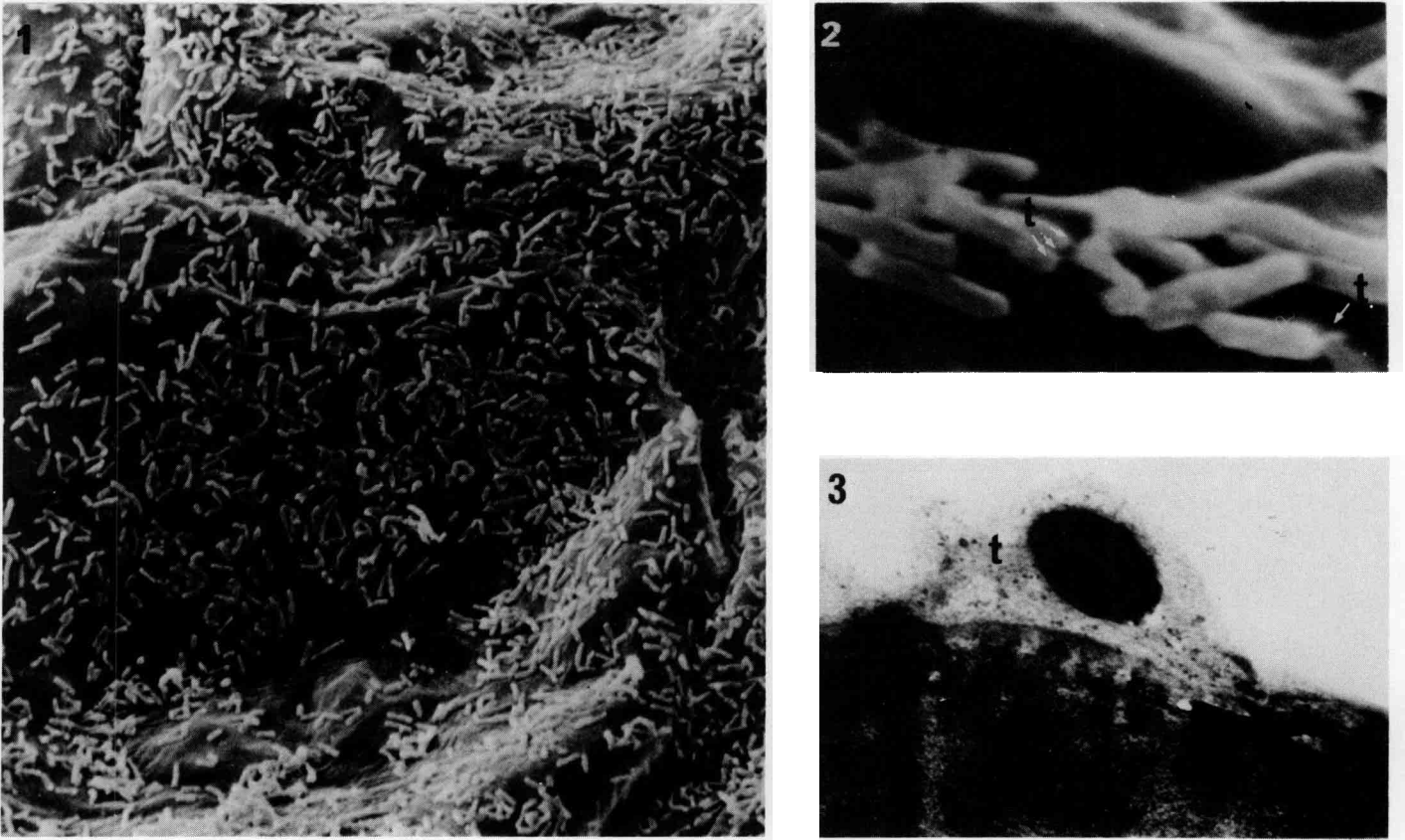


Figure 6
 Observation de *C. fascians* sur la cuticule des tissus de l'isthme cotylédonaire.
 1 et 2 : microscopie électronique à balayage ; 3 : microscopie électronique à transmission. 1 (× 3 000) ; 2 (× 19 800) ; 3 (× 30 000). t : trame bactérienne.
C. fascians on the cuticle of cotyledonary shoots. 1 and 2 : scanning electron microscopy ; 3 : transmission electron microscopy. 1 (× 3 000) ; 2 (× 19 800) ; 3 (× 30 000).

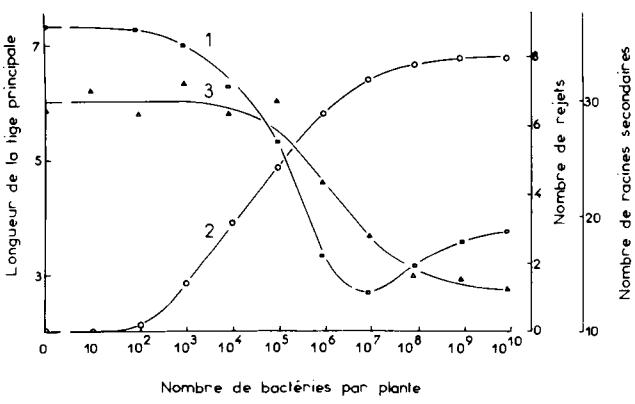


Figure 7
 Influence de la taille de l'inoculum bactérien sur l'intensité des symptômes induits par *C. fascians*.
 1 (—) longueur de la tige principale ; 2 (---) nombre de rejets cotylédonaires ; 3 (·) nombre de racines secondaires. Souche LB + 1 ; plantes âgées de 14 j.
 Relationship between inoculum size and the intensity of response to *C. fascians*.
 1 (—) length of main stem ; 2 (---) number of cotyledonary outgrowths ; 3 (·) number of secondary roots. Strain LB + 1 ; 14-day-old pea seedlings.

cas de l'eau. Par contre, lorsque le milieu d'inoculation contient de l'asparagine ou de la thiamine, on observe une stimulation de la pathogénie ; dans le cas de la thiamine,

cette stimulation n'est toutefois importante qu'aux fortes concentrations bactériennes.

3. Influence de l'âge physiologique des bactéries

Afin de déterminer si l'âge physiologique des bactéries cultivées *in vitro* a une influence sur leur pouvoir pathogène, des bactéries (souche LB + 1) provenant de cultures âgées de 48 h (l = 2,63 µm) ou de 96 h (l = 7,52 µm) sont inoculées au pois. La figure 8 qui illustre les résultats obtenus permet d'indiquer que les bactéries « longues » sont plus pathogènes que les « courtes », les différences observées, bien que non significatives au seuil 0,05, étant cependant reproductibles.

IV. CONCLUSION

Les résultats exposés permettent de dégager plusieurs conclusions.

En culture *in vitro*, *C. fascians* présente des exigences trophiques modérées, qualitativement (autotrophie à l'azote, un seul facteur vitaminique indispensable) et quantitativement. En particulier, une analyse du rôle des éléments du milieu Ms montre qu'une carence en asparagine a les plus fortes répercussions sur la croissance maximale ; celle-ci n'est par contre pas affectée par les fortes pressions osmotiques.

TABLEAU 4

Evolution du nombre moyen de bourgeons apparus en fonction de la nature du milieu d'inoculation et de la taille de l'inoculum.

Change in the number of buds formed in relation to type of medium and size of bacterial inoculum.

Taille de l'inoculum	Milieu d'inoculation				
	Eau	Saccharose	Asparagine	Thiamine	Sels minéraux
10 ⁴	2,1 ± 0,9	2,3 ± 0,2	2,8 ± 0,2	2,3 ± 0,2	2,3 ± 0,2
10 ⁵	3,7 ± 0,2	3,6 ± 0,3	5,0 ± 0,3	4,3 ± 0,3	4,0 ± 0,3
10 ⁶	6,0 ± 0,4	5,8 ± 0,2	7,0 ± 0,3	6,5 ± 0,4	6,2 ± 0,4
10 ⁷	6,6 ± 0,4	6,4 ± 0,3	7,5 ± 0,4	7,4 ± 0,3	6,6 ± 0,4

Bourgeons apparus après 14 j de croissance ; souche LB + 1. Intervalles de confiance au seuil 0,05.

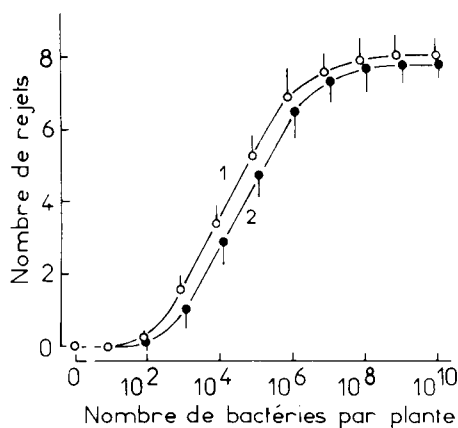


Figure 8

Influence de l'âge de la culture bactérienne inoculée sur le nombre de rejets cotylédonaux.

1 (○) cultures âgées de 96 h ; 2 (●) cultures âgées de 48 h. Plantes âgées de 14 j ; souche LB + 1 ; intervalles de confiance au seuil 0,05.

Relationship between age of the inoculated bacteria and number of cotyledonary outgrowths.

1 (○) 96-hour-old culture ; 2 (●) 48 hour-old-cultures. 14-day-old pea seedlings ; standard error of the mean at 5 % level.

L'analyse de la croissance bactérienne à la surface de stipules de pois parvenues à maturité ne permet de déceler aucune corrélation entre le pouvoir pathogène d'une souche et son développement ; par contre, la taille de l'inoculum et la nature du milieu d'inoculation modifient la durée de la phase de latence sans affecter le taux de croissance des microorganismes. De plus, la croissance s'annule lorsque la densité bactérienne atteint une valeur déterminée. En outre, des observations en microscopie électronique indiquent que la surface cuticulaire infectée est intacte, que la répartition des bactéries à la surface de la plante est très inégale et que les microorganismes y adhèrent par une trame fibrillaire qui serait d'origine bactérienne.

L'étude des variations du pouvoir pathogène en fonction des modifications apportées initialement à l'environnement trophique des bactéries démontre que les concentrations en asparagine et, à un degré moindre, en thiamine (si l'inoculum est massif) affectent l'expression de la virulence. En outre, les bactéries prélevées pendant la phase de ralentissement de croissance sont plus pathogènes que celles qui sont en voie de croissance exponentielle.

Cet ensemble de données permet de préciser certains

aspects du développement bactérien sur l'hôte et d'abord la phase d'installation des parasites. Cette étape, caractérisée par une longue latence, est éventuellement accompagnée d'une diminution transitoire du nombre des bactéries, ce qui a déjà été observé dans d'autres matériels (SPIESS *et al.*, 1977). Deux explications sont communément avancées pour expliquer le temps de latence des cultures bactériennes *in vitro* : la nécessité d'une réduction de la toxicité initiale des milieux et, consécutivement à la croissance elle-même, l'altération de la souche (MONOD, 1942). Dans le cas de l'inoculation sur la plante, la première explication est seule plausible puisque la latence est écourtée si l'inoculum est massif ou véhiculé dans un milieu auquel les parasites sont adaptés, enfin parce que les bactéries prélevées pendant la phase exponentielle n'ont pas le plus fort pouvoir pathogène. Ainsi, l'adaptation de *C. fascians* à la surface de la plante semble relativement difficile, pouvant même se traduire par la lyse d'une partie de l'inoculum. L'une des modifications conditionnant la reprise d'une croissance active serait le développement d'une trame d'origine bactérienne permettant l'adhérence à la surface de l'hôte ; cette trame qui évoque un glycocalix bactérien, structure largement répandue dans les conditions naturelles (LEBEN & WHITMOYER, 1979), permettrait l'établissement d'un microclimat favorable aux échanges entre la plante et le parasite.

Le faible taux de croissance de *C. fascians* observé *in vivo*, analogue à celui de *Pseudomonas glycinea* en phase épiphyte sur le soja (MEW & KENNEDY, 1971), peut être en relation avec les conditions précaires offertes à la surface de la plante ; l'eau est en effet le principal facteur limitant (RUINEN, 1961) et les exsudats cuticulaires sont pauvres en substances azotées et facteurs de croissance (TUKEY, 1970). La mise en évidence d'une action stimulante de la thiamine ou de l'asparagine sur l'expression du pouvoir pathogène, l'existence d'une densité maximale de bactéries se développant sur une surface foliaire donnée, sont en accord avec ces observations.

Les diverses caractéristiques de *C. fascians* (exigences trophiques modérées, insensibilité aux fortes pressions osmotiques, confinement à la surface de la plante), l'identité des vitesses de croissance des souches pathogènes ou non sur les tissus foliaires conduisent à s'interroger sur la nature des relations entre cette bactérie et ses hôtes. Contrairement à l'opinion courante qui le considère comme un parasite, *C. fascians* ne serait qu'un « saprophyte pathogène non parasite » (WOLTZ, 1978) dont la pathogénie résulterait de son intervention dans la régulation hormonale de la plante. Des travaux taxonomiques récents (COLLINS *et*

al., 1979) qui séparent les corynébactéries phytopathogènes des formes saprophytes, nombreuses dans le groupe des corynéformes (VELDKAMP, 1970), rangent *C. fascians* parmi ces dernières. Pourtant, puisqu'il semble acquis, dans le cas de *C. fascians*, que le pouvoir pathogène est lié à la production de cytokinines (MURAI *et al.*, 1980 ; ROUSSAUX, 1966b), il pourrait exister une relation entre ce dernier et la nutrition du microorganisme, ce qui lui conférerait un caractère de parasite. En effet, les cytokinines provoquent un appel de substances trophiques lorsqu'elles sont appliquées à des organes foliaires (MOTHES, 1961). On sait aussi que le développement des bourgeons induits par *C. fascians* sur des tissus ayant conservé des aptitudes méristématiques détermine un détournement d'éléments trophiques (ROUSSAUX & HOFFELT, 1975). Enfin, on peut supposer qu'au niveau des tissus infectés, dont les cellules sont hypertrophiées (ROUSSAUX, 1965, 1975), une exsudation importante favoriserait la prolifération bactérienne, expli-

quant les fortes densités de microorganismes observées au niveau de l'isthme cotylédonaire et des rejets. Toutefois, puisque ce pouvoir de détournement ne s'exerce que par l'intermédiaire de tissus juvéniles, on conçoit que l'on ne décèle pas de différence dans la croissance des souches pathogènes ou non lorsqu'elles infestent le tissu stipulaire adulte. Au terme de cette analyse, il est permis de suggérer que *C. fascians* ait une position intermédiaire entre parasitisme et épiphytisme ; la sécrétion de cytokinines conférerait aux formes pathogènes un avantage sélectif sur les autres organismes épiphytes dans la mesure où l'expression de leur pouvoir pathogène sur un tissu juvénile favoriserait leur nutrition. *C. fascians*, dont la survie dans le sol est en outre prouvée (BAKER, 1950), apparaît donc comme une forme saprophyte, occasionnellement pathogène et parasite pendant sa phase épiphyte.

Reçu le 22 juillet 1981.
Accepté le 28 janvier 1982.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Baker K. F.**, 1950. Bacterial fasciation of ornamental plants in California. *Plant Dis. Rep.*, **34**, 121-125.
- Collins M. D., Goodfellow M., Minnikin D. E.**, 1979. Isoprenoid quinones in the classification of coryneform and related bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, **110**, 127-136.
- Jacobs S. E., Habish H. A., Dadd A. H.**, 1965. Studies on induced mutants of *Corynebacterium fascians* and their pathogenicity in comparison with that of « natural » strain. *Ann. appl. Biol.*, **56**, 161-170.
- Lacey M. S.**, 1955. The cytology and relationships of *Corynebacterium fascians*. *Trans. br. mycol. Soc.*, **38**, 49-58.
- Leben C., Whitmoyer R. E.**, 1979. Adherence of bacteria to leaves. *Can. J. Microbiol.*, **25**, 896-901.
- Mew T. W., Kennedy B. W.**, 1971. Growth of *Pseudomonas glycinea* on the surface of soybean leaves. *Phytopathology*, **61**, 715-716.
- Mohanty U.**, 1951. *Corynebacterium fascians* (Tilford), Dowson, its morphology, physiology, nutrition and taxonomic position. *Trans. br. mycol. Soc.*, **34**, 23-34.
- Monod J.**, 1942. *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes*. Thèse 1942. Hermann Ed. Seconde édition, 1958, 210 p.
- Mothes K.**, 1961. Kinetin induces directed transport of substances in excised leaves in the dark. *Phytochemistry*, **1**, 58-62.
- Murai N., Skoog F., Doyle M. E., Hanson R. S.**, 1980. Relationships between cytokinin production, presence of plasmids and fasciation caused by strains of *Corynebacterium fascians*. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **77**, 619-623.
- Roussaux J.**, 1965. Etude préliminaire des modifications induites chez le pois « Express-Alaska » par le *Corynebacterium fascians* (Tilford), Dowson. *Rev. gen. Bot.*, **72**, 21-53.
- Roussaux J.**, 1966a. Variation d'intensité de quelques symptômes pathologiques induits sur le pois « Express-Alaska » par le *Corynebacterium fascians* en fonction de l'importance de l'inoculum. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **262**, 111-113.
- Roussaux J.**, 1966b. Sur la « fasciation » du pois en présence de kinétine. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **263**, 1077-1080.
- Roussaux J.**, 1975. Stimulation and inhibition reactions in plants infected by *Corynebacterium fascians* (Tilford), Dowson. *Marcellia*, **38**, 305-310.
- Roussaux J., Hoffelt M.**, 1975. Relations entre bourgeons dans les plantes inoculées avec *Corynebacterium fascians* (Tilford), Dowson. *Can. J. Bot.*, **53**, 1934-1941.
- Ruinen J.**, 1961. The phyllosphere. I. An ecologically neglected milieu. *Plant & Soil*, **15**, 81-109.
- Spiess L. D., Turner J. C., Mahlberg P. G., Lippincott B. B., Lippincott J. A.**, 1977. Adherence of Agrobacteria to moss protonema and gametophores viewed by scanning electron microscopy. *Am. J. Bot.*, **64**, 1200-1208.
- Tukey H. B.**, 1970. The leaching of substances from plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **21**, 305-324.
- Veldkamp H.**, 1970. Saprophytic coryneform bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.*, **24**, 209-240.
- Woltz S. S.**, 1978. Non parasitic plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* **16**, 403-430.