

215  
Mars 1957

Nouvelle Série - Tome XVI

Numéro 2

**BULLETIN**  
DE LA  
**SOCIÉTÉ DES SCIENCES**  
DE  
**NANCY**  
(FONDÉE EN 1828)

TRIMESTRIEL

Abonnement annuel : 500 fr.



NANCY

IMPRIMERIE GEORGES THOMAS

Angle des rues de Solignac et Henri-Lepage

1957



---

**BULLETIN**  
DE LA  
**SOCIÉTÉ DES SCIENCES**  
DE  
**NANCY**  
(Fondée en 1828)

SIÈGE SOCIAL :  
Institut de Zoologie, 30, Rue Sainte-Catherine - NANCY

---

**SOMMAIRE**

---

Etienne HUBAULT: Etude des pollutions d'eaux libres: Méthode chimique, Méthode biologique. Test poisson .....	22
Ph. DUCHAUFOUR: Pédologie, science de l'évolution du sol .....	43
J. PAYEN: <i>Phoma betae</i> (Oud.) Frank et les maladies de la Betterave .....	50
J. TAVERNIER et S. BESSON: De la chromatographie du cuivre sur papier. Bibliographie .....	75 83

---

**ÉTUDE DES POLLUTIONS D'EAUX LIBRES:  
MÉTHODE CHIMIQUE, MÉTHODE BIOLOGIQUE,  
TEST POISSON\***

PAR

Etienne HUBAULT

---

I. — AVANT-PROPOS

Reportons-nous à un siècle en arrière: 1856. Les grandes percées de Paris, commencent seulement. L'alimentation en eau de la capitale est loin d'être complète; dans bien des immeubles, il faut avoir recours au porteur d'eau qui chaque matin monte dans des seaux, la ration destinée aux usages domestiques. Dans le cabinet de toilette de l'appartement, pièce plus ou moins petite, plus ou moins claire, une cuvette, un pot-à-eau, un broc suffisent en général aux ablutions.

Quand on veut se baigner, on descend en hiver à l'établissement de bains voisin; il dispense l'eau chaude et l'eau froide. En été, on va se rafraîchir à l'intérieur des rectangles de bois qui flottent sur la Seine, au-dessus du Pont de la Concorde ou un peu plus en amont: les bains Deligny ou Garnier.

La grande industrie se développe. Les usines prennent l'eau dans la rivière voisine mais personne ne pense qu'un jour les besoins de la « fabrique » pourront atteindre et dépasser le débit du cours d'eau.

1956. L'eau est dans tous les immeubles, dans tous les appartements: sur l'évier, dans la cuisine; des lavabos, des postes d'eau, les chauffages centraux l'exigent. Le logement qui n'a ni salle de bains, ni à la rigueur, une salle d'eau, est dévalué. Dans les grandes agglomérations, les municipalités installent des piscines d'eau tiède en hiver, fraîche en été.

\* Conférence faite le 20 décembre 1956.

Sur les bords des grandes rivières et des lacs, des plages artificielles sont créées.

Une industrie énorme, sans cesse grandissante recherche maintenant l'eau qui lui est indispensable; souvent la rivière tout entière fait le crochet au travers de l'usine et ressort rarement dans l'état où elle est entrée. Souvent aussi le débit des eaux en été, limite la production.

Il y a donc dès maintenant une *question de l'eau* qui se posera sans cesse plus aiguë à mesure de l'augmentation du nombre des hommes. Cette utilisation constamment accrue rend nécessaire une *économie de l'eau* et l'examen de toutes les causes de pollution.

Nous essaierons dans les lignes suivantes de donner un aperçu d'étude de la pollution d'eaux libres courantes ou stagnantes, par des effluents d'industries traitant des substances minérales ou organiques. Force nous est de nous borner.

Le sujet est déjà suffisamment vaste et compliqué.

Trois méthodes sont indispensables, qui se complètent et s'étaient les unes les autres :

1. La méthode chimique;
2. La méthode biologique;
3. Le test poisson.

## II. — LA MÉTHODE CHIMIQUE

Il est relativement aisé de doser les substances contenues dans une eau pure ou à peu près pure, en prenant toutefois des précautions, en maintenant surtout la température de la prise qu'on laissera le moins possible en contact avec l'air.

Mais le travail se complique singulièrement dès que l'on opère sur des eaux plus ou moins sales. Voici les obstacles que le technicien devra surmonter.

Les échantillons viennent d'être pris, et correctement pris dans le cours d'eau, en amont et en aval de la source de pollution. Dès cet instant, les difficultés commencent *car ces eaux changent, quelles qu'elles soient*. Leur température s'élève ou s'abaisse, le pH fait de même; leurs teneurs en gaz dissous, oxygène et gaz carbonique se modifient du tout

au tout; phénols et cyanures, s'il y en a, s'altèrent, les matières organiques aussi, etc... etc...

Voici les délais d'analyses recommandés par l'*American Public Health Association* (1):

— Eaux pures:	72 heures au plus tard après la prise		
— Eaux légèrement polluées:	48	—	—
— Eaux polluées:	12	—	—

Après avoir fait sur place et avec certaines précautions, la mesure complète de l'oxygène dissous, celle d'un pH colorimétrique ou mieux électrométrique, il faut ramener au plus vite les échantillons au laboratoire et les placer sans tarder au frigidaire, à une température comprise entre 0° C et + 5°, pour éviter toute fermentation, toute altération.

#### *Difficultés et obstacles de la méthode chimique*

Malgré ces précautions absolument générales et nécessaires, la tâche de l'opérateur est toujours compliquée. Nous allons essayer de montrer certaines des difficultés qu'il rencontre au moyen de quelques exemples concrets:

##### *A) Les substances et les ions gênants.*

Le dosage de l'oxygène dissous dans les eaux par la méthode de Winkler donne de très bons résultats quand on traite des eaux pures.

Ce procédé est basé, comme chacun sait, sur la formation d'un précipité colloïdal d'hydrate manganoux dans le volume d'eau à analyser.

En présence de l'oxygène dissous, une partie de ce précipité se transforme en hydrate manganique. On ajoute de l'iodure de potassium et l'on acidifie, l'*hydrate manganique* oxyde alors l'iodure et une quantité d'iode apparaît, proportionnelle à celle d'hydrate manganique, donc à celle d'oxygène dissous. L'iode est dosé par une solution titrée d'hypo-sulfite de soude en présence d'empois d'amidon.

Si l'eau contient des nitrites, des quantités relativement importantes de sels ferreux ou ferriques, du chlore libre, des matières organiques, bref, des matières oxydantes ou réduc-

(1) *Standard methods for the examination of water sewage and industrial wastes*. 10<sup>e</sup> édition, New-York, 1955.

trices, les résultats deviennent inexacts ou incertains, à moins de précautions :

— addition d'une solution d'azothydrate de sodium, en cas de présence de nitrites ;

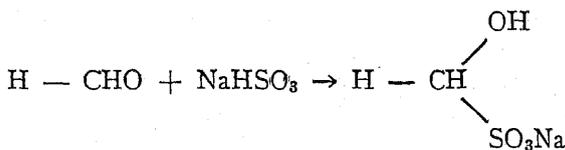
— oxydation préalable des sels ferreux au moyen d'une solution de permanganate de potassium ;

— mesure de l'influence des matières oxydantes ou réductrices en incorporant une quantité connue d'iode à un volume d'eau à analyser égal à celui sur lequel on a dosé l'oxygène et en mesurant ensuite l'iode présent. Si l'on trouve un volume de solution d'hyposulfite supérieur au volume équivalent à l'iode primitivement ajouté, il y a des oxydants ; si le volume est inférieur, des réducteurs ont agi sur l'iode ajouté.

Autre exemple :

Les sulfites dissous dans une eau se dosent facilement avec un excès d'une solution titrée d'iode, excès évalué au moyen de l'hyposulfite correspondant.

Mais s'il y a d'autres substances réductrices, ce qui est constant dans une eau résiduaire, il faudra tout d'abord doser la totalité des matières réductrices agissant sur l'iode puis dans une seconde analyse, séparer les sulfites en ajoutant du formol avec lequel ils donnent un complexe inattaquable par l'iode :



### B) Coloration des eaux résiduaires.

Bien souvent enfin la coloration des effluents vient compliquer sinon empêcher les dosages colorimétriques, que ce soit celui de l'azote ammoniacal par la méthode de Nessler ou celui du chlore libre au moyen de l'orthotolidine.

Malgré ces complications, l'analyse chimique demeurera la base de l'étude des eaux polluées. Elle devra néanmoins être contrôlée et vérifiée par la méthode biologique.

### III. — LA MÉTHODE BIOLOGIQUE

Elle prit naissance au début du xx<sup>e</sup> siècle, de 1903 à 1909.

Deux biologistes allemands, KOLKWITZ et MARSSON (1) eurent l'idée de tirer parti des modifications de la flore et de la faune d'un cours d'eau, en aval d'une cause de pollution pour apprécier qualitativement, sinon quantitativement, son importance. Leurs recherches d'abord uniquement botaniques, englobèrent bientôt tous les organismes vivant dans le ruisseau ou la rivière, depuis les bactéries et les champignons dits imparfaits jusqu'aux poissons. On se rendra facilement compte de l'importance prise maintenant par ces méthodes en mesurant la place qu'elles occupent dans les récents traités d'études des eaux.

De même KOLKWITZ et MARSSON s'occupèrent tout d'abord des eaux salies par les égouts des villes et par des matières organiques, mais le procédé s'applique également aux pollutions provoquées par des substances minérales.

En aval de toute cause de pollution, le cours d'eau se guérit peu à peu, s'il n'est pas atteint de nouveau.

La lumière tue beaucoup d'organismes et intervient d'autre part sur la réoxygénation du milieu, au moyen de la fonction chlorophyllienne des algues, des mousses, des plantes supérieures. Cette réoxygénation, critérium de l'épuration, est aussi fonction de la vitesse du courant, du débit, des remous et de la température.

En fait, dans la plupart des cas, une pollution est une réduction. Une épuration est une oxydation.

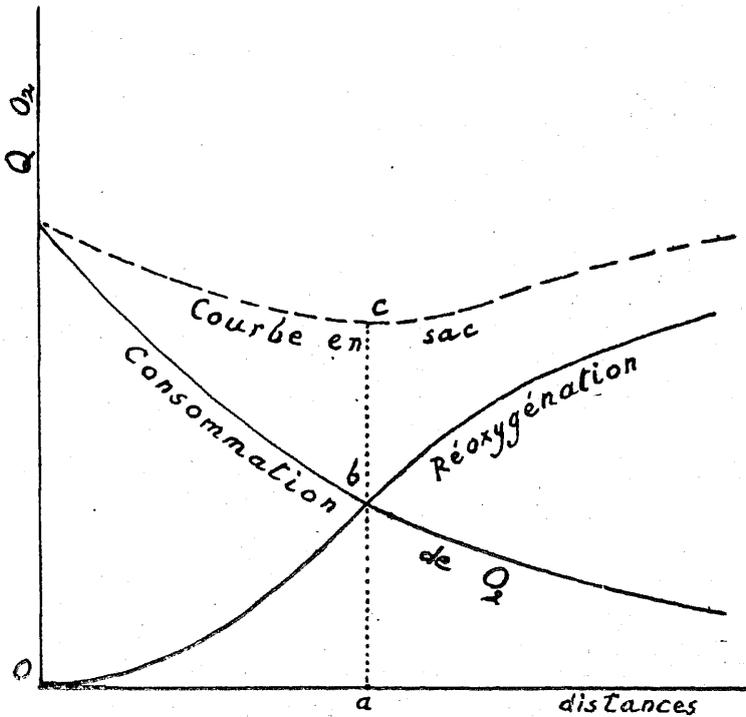
C'est ce qu'expriment les courbes ci-contre représentant les quantités d'oxygène dissoutes dans l'eau d'une rivière en aval d'une pollution

O<sub>2</sub> en ordonnées marque la quantité d'oxygène; les abscisses sont les distances le long du cours d'eau en aval de l'effluent. La courbe résultant de la consommation d'oxygène et de la réoxygénation, courbe seule mesurable, est marquée

(1) L'étude suivante de KOLKWITZ et MARSSON donne un exposé de leur théorie, ainsi que des documents techniques et bibliographiques sur la question: *Ökologie der tierischen Saprobien*. — *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, II, 1 et 2, pp. 126-152, 1909.

par un minimum correspondant au point d'intersection des deux autres, d'où le nom de courbe en sac (sag curve), de cette résultante (2).

On a donné des noms aux divers biefs qui s'échelonnent successivement au-dessous du déversoir de l'élément nocif: polysaprobe,  $\alpha$  mésosaprobe,  $\beta$  mésosaprobe, oligosaprobe.



D'après les températures, la richesse des eaux en oxygène et leur pureté, on a pu caractériser par la présence d'une espèce de poisson, les zones d'un cours d'eau s'étageant depuis sa source: zone à truite, zone à ombre commun, zone à barbeau et à hotu, zone à brème. Ces différenciations s'appliquent

(2) LECLERC (E.), BEAUJEAN (P.), HEUSE (R.). — L'étude de la pollution d'une rivière et de son auto-épuration. Application d'une méthode de recherche au cas du Geer. *Bull. Centre belge d'étude et docum. eaux*, 33, 1956/III, pp. 142-153.

surtout aux rivières de l'Europe Centrale et de l'Est de la France dans lesquelles l'ombre commun et le hotu vivent fréquemment.

Un cours d'eau pur doit présenter une flore et une faune abondantes et variées. C'est un équilibre. Dès qu'il est détruit, certaines formes d'organismes vivants sont éliminées et celles qui ont résisté prennent toute la place.

KOLKWITZ et MARSSON se sont attachés à classer dans chacune ou dans plusieurs des zones de saprobies, chaque forme végétale ou animale et à lui assigner une place. On voit, dès lors, la complexité d'une analyse biologique complète, ce qu'elle comporte de récoltes minutieuses et de déterminations poussées aussi loin que possible.

Le lecteur trouvera dans le tableau annexé à cette étude, les principales formes macroscopiques vivant dans les eaux douces de l'Europe Occidentales et Centrale et leur répartition aussi exacte que possible dans les zones de KOLKWITZ et de MARSSON. Ils ajoutèrent ultérieurement une cinquième zone, au nom barbare, réservée aux organismes vivant dans des eaux absolument pures: la zone dite de *catharobie*. Nous donnerons simplement quelques indications sur les formes les plus communes ou celles que l'on peut situer aux deux extrêmes de saprobie.

#### A) Flore.

Peuvent être regardés comme caractéristiques de la zone de polysaprobie la Bactériacée filamenteuse *Sphaerotilus natans* et sa forme de famine *Cladothrix dichotoma* ainsi que le champignon *Leptomitus lacteus* dont la reproduction par spores est seule connue.

Les deux Cryptogames se rencontrent en grandes masses dans des eaux très polluées par des matières organiques; elles constituent ces masses blanchâtres, allongées, fixées aux rives et aux fonds des cours d'eau, agitées par le courant et connues sous le nom de « queues de moutons ».

Par contre, on pourra considérer les Algues du genre *Lemanea* comme caractéristiques des eaux pures ou très pures.

B) Faune.

Nous ne passerons en revue que les Invertébrés.

Parmi les Turbellariés Triclades, *Crenobia alpina* partout où on la rencontrera, pourra être regardée comme un critère de pureté. *Euplanaria gonocephala* ne dépassera pas la zone d'oligosaprobie, ainsi que viennent de le montrer les récentes expériences d'A. SEIBOLD (3).

Par contre, les Tubificides ne se rencontrent que sur les fonds pollués.

Les Mollusques Gastropodes fournissent peu d'exemples de préférence ou d'aversion absolument tranchées. *Ancylus fluviatilis* généralement considéré comme une forme d'eaux pures, s'avance dans la zone de mésosaprobie et *Bithynia tentaculata* remonte aisément jusqu'aux limites de polysaprobie.

Mais le Lamellibranche *Dreysensia polymorpha* supporte difficilement les pollutions.

Si l'Isopode *Asellus aquaticus* se rencontre exclusivement ou presque, en eaux sales, on ne peut dire que les *Gammarus* caractérisent les eaux pures. *G. pulex*, le plus commun, remonte presque dans la zone de mésosaprobie; de même, la forme voisine commune dans l'Est de la France et l'Europe Centrale, *Carinogammarus roselii*, ainsi que *Echinogammarus berilloni* qui pullule dans le Sud-Ouest de notre pays.

Dans la classe des Insectes, on trouve parmi les larves d'Ephémères et de Perlides, des formes caractéristiques d'eaux très pures: *Epeorus*, *Rhithrogena*, *Perlodes*, *Chloroperla*; mais les Perlides de petite taille supportent une légère pollution, de même *Ecdyurus*, parmi les Ephémères.

Les larves de Phryganes, pour la plus grande part, ne se développent que dans des eaux pures, surtout les représentants des familles des Odontocérides, des Leptocérides et des Séricostomatides. Pourtant parmi ces derniers, *Goera* et les genres voisins vivent dans des milieux moins nets.

Il y a des Diptères à tous les degrés de Saprobie, depuis

(3) SEIBOLD (A.). — Die Einwirkung von organischen Fäulnisstoffen auf tierischen Leitformen des Saprobiensystems. — *Vom Wasser*, XXII, pp. 90-166, Weinheim, 1955.

les Blépharocérides et les Simuliides dans les eaux les plus pures, les plus courantes, jusqu'aux larves d'Eristale dans les fosses d'aisance. Nous réserverons une place spéciale à la grande famille des Chironomes. Partout on rencontre leurs larves : à la langue des glaciers des Alpes, dans les ruisseaux froids qui descendent de l'inlandsis, au Groenland, aux fonds des lacs, dans les eaux les plus sales, dans les courants les plus purs, en symbiose sur d'autres larves d'insectes, etc... Des recherches suivies, difficiles certes, sur la détermination, la systématique, la biologie des premiers états de cette importante famille, rendraient à l'analyse biologique, les plus grands services pratiques.

Tels sont dans leurs principaux traits, rapidement esquissés, quelques-uns des organismes dont l'observation et la répartition constituent les méthodes d'analyse biologique des eaux.

*On réalisera son importance quand on saura que ce furent tout d'abord la disparition des écrevisses du lac de Nantua, les échecs de l'introduction de l'Omble chevalier dans cette petite nappe d'eau qui éveillèrent l'attention sur sa pollution par la ville dont elle porte le nom. L'analyse chimique vint ensuite confirmer les premières remarques biologiques.*

#### IV. — LE TEST POISSON

L'ensemble de recherches appelé Test poisson (4) n'est pas uniquement destiné au contentement des pêcheurs à la ligne. Les sensibilités très différentes des diverses espèces constituent un second critère d'action des toxiques sur la faune des eaux. Cette branche de l'analyse biologique peut fournir des résultats tels qu'elle mérite une attention toute particulière. Conduite avec soin, elle donne des détails, des renseignements sur la constitution moléculaire des toxiques essayés.

En choisissant judicieusement les variables, température, concentration, pH, espèce de poisson, on arrive au tracé de

(4) HUBAULT (Et.). — Les seuils de nocivité de divers composés chimiques vis-à-vis du poisson. *Communic. du XXVII<sup>e</sup> Congrès de chimie industrielle*, vol. I, section 4, pp. 351-356, Bruxelles, 1954.

courbes qui permettent la classification des substances toxiques minérales ou organiques. On nomme ces courbes « isothermes » ou « isochrones », suivant que les essais ont été faits à température constante, ou pendant un temps d'exposition constant.

On a pu dire que le test poisson présentait de l'intérêt dans tous les cas, aussi bien pour la rivière fortement polluée qui ne contenait plus d'organismes vivants, que pour la rivière relativement peu salie où la vie se maintenait encore. Il peut en effet, dans le premier cas, donner des indications précieuses sur le degré d'épuration qu'il est raisonnable de chercher à obtenir.

Mais si l'action des diverses substances néfastes aux poissons dans les eaux, dépend des espèces qui y vivent, elle est également fonction de bien d'autres facteurs, parmi lesquelles la nature des produits eux-mêmes, leur concentration, et la température à laquelle on opère.

On s'est efforcé de discriminer le *seuil de nocivité*, dose qui amène au bout d'un temps donné, les premières manifestations de malaise, par exemple le premier retournement, de la *dose minima mortelle*. Dans certains cas — et nous en avons rencontrés — une telle distinction est difficile, car pour les toxiques très pénétrants, le premier retournement est inéluctablement suivi de mort (alcool allylique).

Au cours des essais dont nous allons donner les résultats, nous nous sommes attachés à ne conserver que quelques variables, deux en général, trois au plus, prises parmi les plus typiques. Ainsi pour chaque substance, avons-nous pris sa concentration, la température de l'eau d'expérience et parfois son pH, alcalinité ou acidité du milieu qui peuvent provoquer chez divers composés, des modifications qui en changent la toxicité. Enfin, nous nous sommes restreints à quelques espèces de poissons seulement, les gardons rouges et les gardons blancs, formes de sensibilité moyenne, faciles à se procurer et communes dans la plupart des eaux européennes.

Nous rappellerons très brièvement tout d'abord quelques notions déjà publiées (5).

(5) DESAVELLE, HUBAULT. — *Bull. Centre belge étude et doc. des eaux*, 14, 1951/IV, p. 197.

### A) *Les isochrones.*

On cherche, pour chaque corps essayé, les températures et les concentrations qui amènent la manifestation de premier malaise (seuil de nocivité) en un temps arbitrairement fixé, mais toujours le même. *L'essai sera naturellement d'autant plus sûr que le temps choisi sera plus long.* Nous l'avons pris égal à 4 h 15' - 4 h 30'.

Puis nous avons fait les expériences par tâtonnements, en employant des lots de sujets peu nombreux (trois ou quatre) aussi semblables que possible, provenant tous, par exemple, de la pêche d'un même étang. Il faudra qu'au bout du temps fixé, la moitié des sujets, deux par exemple, si on a choisi quatre poissons, ait basculé tandis que l'autre moitié soit encore d'aplomb.

Nous avons porté alors en abscisses, les températures et en ordonnées les concentrations (mg/litre) et nous avons joint par un trait continu les points représentant pour chaque concentration et chaque température, les retournements d'une partie des sujets de chaque lot au bout du temps fixé. Les temps de premiers retournements seront d'autant plus groupés, d'autant plus serrés que les lots de poissons auront été plus homogènes. Nous avons ainsi obtenu des courbes que nous avons appelées *isochrones* et dont on retrouvera l'allure générale sur l'abaque jointe au présent travail. Elles sont tangentes sur la ligne des abscisses, à la parallèle aux ordonnées menée par la température limite à laquelle peut vivre dans l'eau pure, l'espèce de poisson envisagée. Les courbes partagent le plan en deux parties, l'aire inférieure dans laquelle pour chaque température et pour chaque concentration le toxique est inopérant au bout du temps fixé, — l'aire supérieure qui rassemble tous les points représentatifs des essais pendant lesquels tous les sujets des lots se sont retournés au cours du temps fixé.

*Nous avons rassemblé sur une abaque à ordonnées logarithmiques* permettant une vue synoptique des phénomènes, les isochrones de neuf substances ou composés chimiques pour un temps de 4 h 15' - 4 h 30'. Au cours de nos essais,

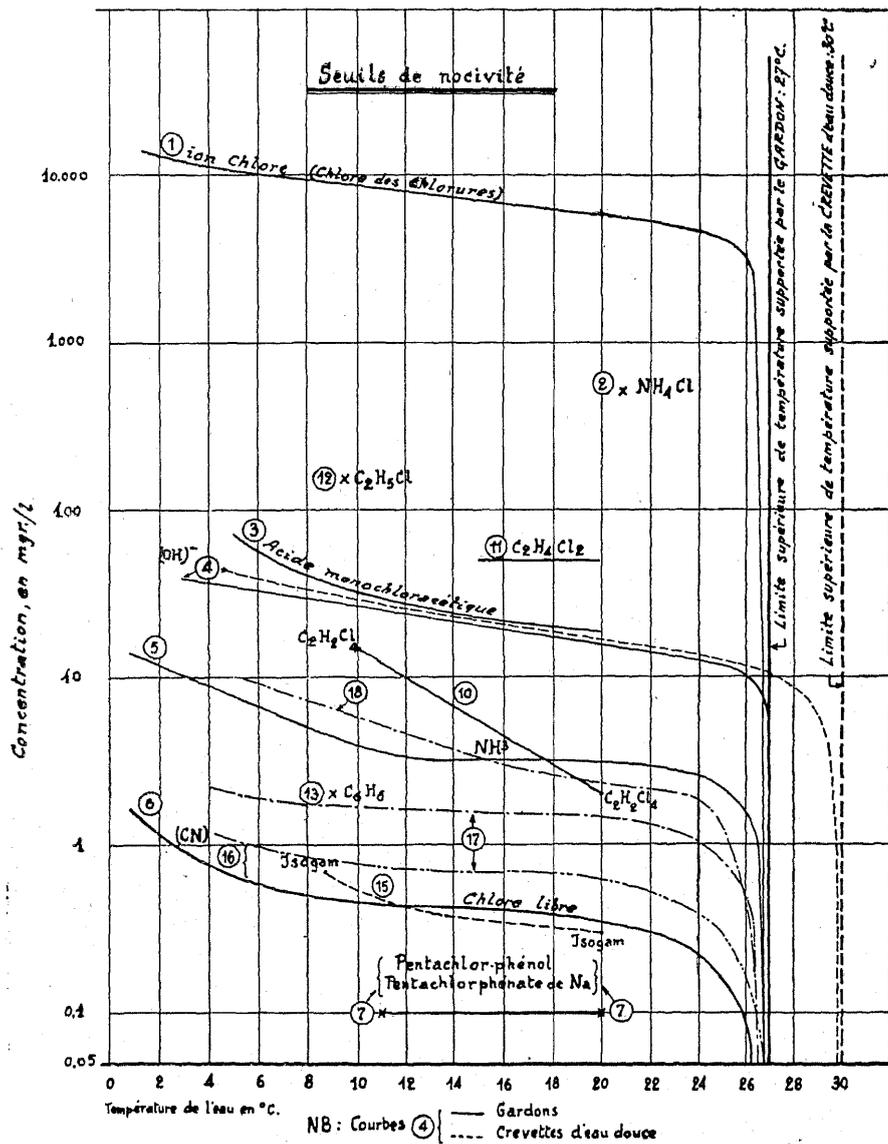


FIG. I

nous avons constamment employé des gardons (*Gardonus rutilus* Lin. et *Scardinius erythrophthalmus* Lin.).

L'eau dont nous nous sommes toujours servis comme eau de dilution est celle de la Meurthe, rivière de l'Est de la France dont voici la composition, le 4 octobre 1949, à 17 h 30', entre Lunéville et Nancy.

Température	pH	Titre alcalimétrique ° franç.	Titre hydrotimétrique ° franç.	SiO <sub>2</sub> mgr/l	O <sub>2</sub> dissous mgr/l	En mm val/litre					
						Cl'	SO <sub>3</sub>	CO <sub>2</sub> total	Ca <sup>..</sup>	Mg <sup>..</sup>	Na <sup>·</sup>
16°8	7,8	9	15	7	9,8 102 % de la saturation)	0,76	2,03	3,4	2,45	0,94	1,02

### B) Principales substances étudiées.

#### 1. Chlore:

La différence de toxicité entre l'anion Cl' et le chlore libre dépourvu de charge est de l'ordre d'un à vingt mille, c'est-à-dire qu'il faut un poids de Cl' vingt mille fois plus fort qu'un poids de chlore libre pour provoquer dans le même temps et aux mêmes températures, les mêmes effets toxiques.

L'isomère  $\gamma$  de l'hexachlorocyclohexane (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub>) est soluble dans l'eau d'une façon appréciable (0,061 g par litre à 12° C - 0,093 g par litre à 21°). C'est un toxique dangereux pour le poisson de rivière: du même ordre que le chlore libre. Nous attribuons cette action au défaut de charge des six atomes de chlore présents dans la molécule.

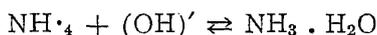
#### 2. Hydroxyle.

L'anion hydroxyle OH' introduit dans l'eau sous forme de soude ou de chaux, est d'une nocivité moyenne.

Le groupement OH l'est, par contre, davantage quand il apparaît dans les composés organiques: alcools et phénols. L'alcool allylique CH<sub>2</sub> = CH - CH<sub>2</sub>OH s'est révélé dangereux à l'expérience.

### 3. Ammoniaque:

La dissociation des sels d'ammonium en solution dans l'eau fait apparaître un cation  $\text{NH}_4^+$  acide, mais qui en solutions très étendues se transforme, partiellement tout au moins, en une molécule non dissociée dépourvue de charge (6):

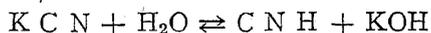


WOKER (7) et ses collaborateurs ont montré que la nocivité des molécules sans charge était prépondérante. Par conséquent, plus il y aura d'anions hydroxyle, c'est-à-dire plus le pH sera élevé, plus la solution deviendra toxique.

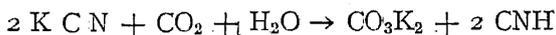
Aux pH moyens 7,75 - 7,8 auxquels nous avons opéré, l'isochrone de l'ammoniaque s'étend de 2 à 9 mg/l pour des températures variant de 26° à 4° C.

### 4. Cyanures:

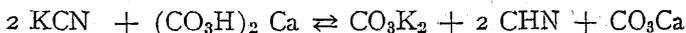
En solutions très étendues, les cyanures s'hydrolysent:



L'addition d'une base, c'est-à-dire l'augmentation de pH, ralentit le phénomène (8). Celle d'un acide, même faible, abaisse le pH, et provoque la formation d'acide cyanhydrique:



Il se peut même, que les bicarbonates alcalino-terreux provoquent une réaction analogue:



Tous les cyanures sont nocifs, mais le cyanure d'hydrogène l'est davantage. Un abaissement de pH dans une eau contenant des cyanures augmentera donc leur nocivité. Mais aux pH compatibles avec la vie, c'est-à-dire entre 5 et 9, la

(6) Beaucoup d'empoisonnements d'eaux libres ont pour bases des phénomènes de dissociations et d'hydrolyses.

(7) WOKER. — *Verhandl. intern. Verein. theor. angew. Limn.*, 10, 1949, p. 575.

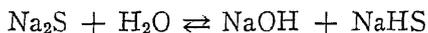
WUHRMANN, ZEHENDER, WOKER. — *Vierteljahrsschr. Naturforsch. Ges. Zurich*, 92, 1947.

(8) JELLINEK, CZERWINSKI. — *Z. phys. Ch.*, 102, 1922, p. 460.

totalité ou la plus grande partie des solutions de cyanures sont hydrolysées.

### 5. Sulfures:

Il en est de même pour les sulfures qui s'hydrolysent aussi en solutions très étendues:

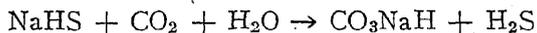
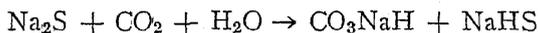


Plus la solution de sulfure de sodium est étendue, plus la dissociation de NaHS elle-même, est forte (9):



Si le nombre des cations  $\text{H}^+$  augmente dans la solution, c'est-à-dire si son pH baisse, la quantité d'hydrogène sulfuré augmentera.

Par contre, l'addition d'une base ralentit fortement le phénomène d'hydrolyse. Celle d'un acide amène la formation d'hydrogène sulfuré. Mais ici la réaction est plus complexe qu'avec les cyanures et se produit en deux temps (10):



Les réactions avec les bicarbonates alcalino-terreux seraient analogues.

En définitive, le corps dangereux est ici l'hydrogène sulfuré. Plus le pH monte, moins il y en a et moins la solution de sulfures est nocive. Mais contrairement à ce qui se passe pour les cyanures et l'acide cyanhydrique, entre les limites de pH compatibles avec la vie, une plus ou moins grande quantité de sulfures se maintient ici à l'état de sulfhydrates,  $\text{HS}^-$  -  $\text{M}^+$ , qui peuvent à peine être considérés comme des poisons pour la faune dulçaquicole.

C'est pour cela qu'en 1937, ELLIS (11) avait pu faire vivre un poisson rouge pendant 72 heures dans une eau « dure » à 100 p.p.m. de sulfure d'ammonium et qu'au bout

(9) JELLINEK, CZERWINSKI. — *Zeitschr. physik. chem.*, **102**, 1922, p. 460.

(10) BERL, RITTENER. — *Zeitschr. angew. Chem.*, **20**, 1907, p. 1637.

(11) ELLIS. — Bureau of Fisheries, U. S. Depart. Commerce, bull. 22, 1937.

de 100 heures, un poisson de la même espèce vivait encore dans une eau « dure », à 10 p.p.m. du même sel.

Plus récemment, SOUTHGATE (12) signalait des expériences de WEIGELT ainsi que des mesures de STROEDE et concluait que la toxicité des solutions de sulfure de sodium croissait avec leur acidité. Nous savons maintenant pourquoi.

Ceci pourra intéresser les industries qui emploient les sulfures, les teintureries et les tanneries, notamment.

### C) *L'appareil d'observation* (fig. 2).

Des essais portant sur une durée de 4 à 5 heures ne peuvent être valables qu'en eau courante comme à une température constante et bien connue. Nous nous sommes servis du dispositif simple et commode imaginé par DESAVELLE, dont la description et le fonctionnement ont déjà été publiés (13). Il nous suffira d'en rappeler brièvement le principe.

La solution du toxique à examiner, est contenue dans un grand bac A et se déverse dans un mélangeur M par un tube terminé par une canule C de débit mesuré. Sur la conduite d'amenée est interposé un jaugeur J qui permet de modifier ce débit entre certaines limites. D'autre part, dans le mélangeur M arrive l'eau de rivière par une autre canule C' de débit connu également, et sur le tube d'amenée de laquelle a été interposé un second jaugeur J' semblable au premier. Dans le mélangeur, un agitateur assure l'homogénéité de la solution à essayer. Celle-ci est conduite par un siphon dans le bac d'expérience B.

Toute l'échelle des températures compatibles avec la vie des sujets en expérience peut être obtenue, soit en chauffant le mélangeur avec un bec Bunsen, soit en refroidissant l'eau de rivière en la faisant passer dans un serpentin métallique plongé dans une saumure à  $-10^{\circ}$  C.

L'abaque annexée au présent travail (fig. 1) donne les isochrones de 4 h 15' - 4 h 30' pour neuf substances essayées

(12) SOUTHGATE. — Treatment and disposal of industrial waste water, Londres, 1948.

(13) *Loc. cit.*

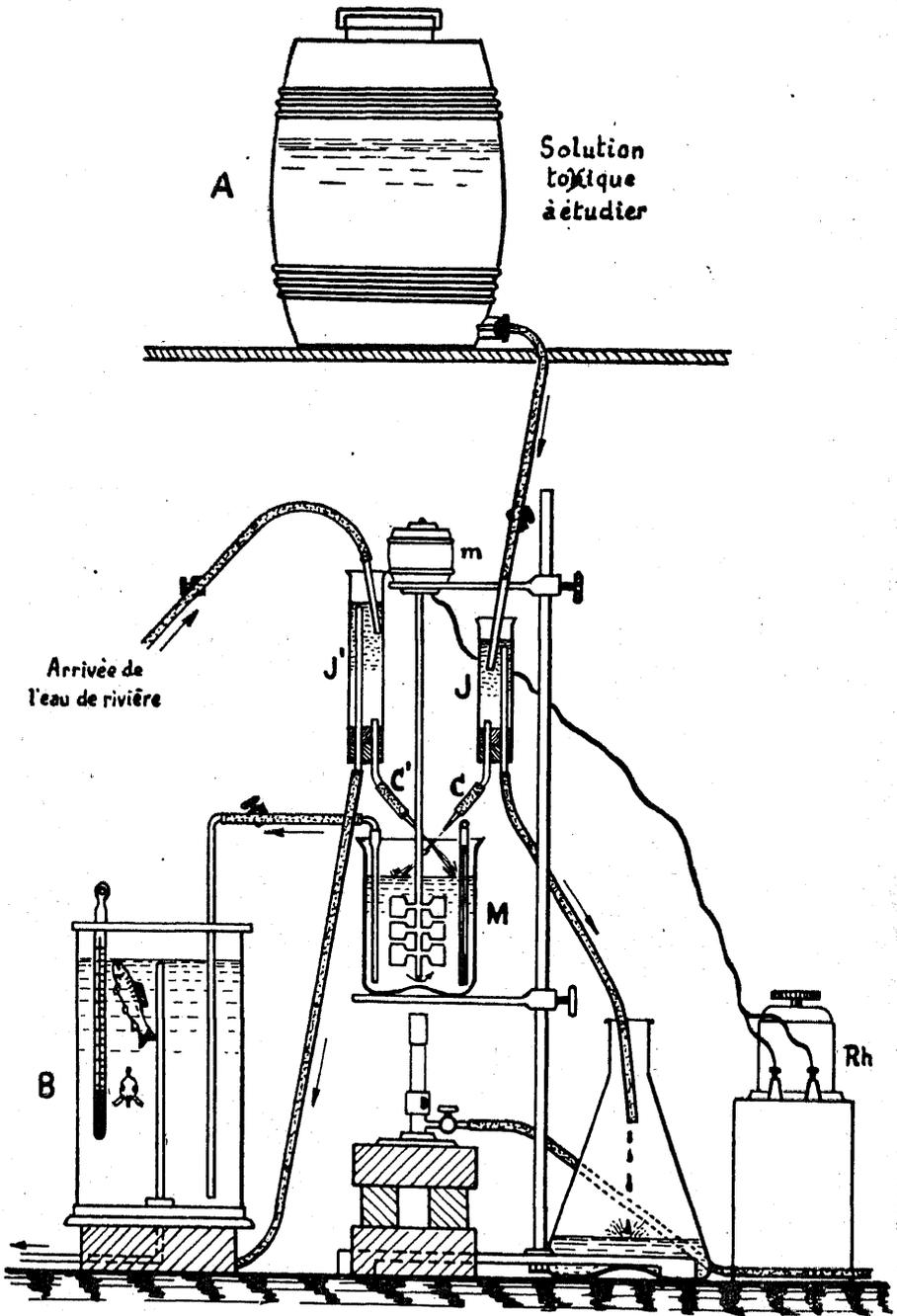


FIG. 2

sur des gardons jusqu'au premier mouvement de bascule. Pour l'alcool allylique, poison extrêmement pénétrant, chez lequel le premier retournement est inéluctablement suivi de mort, nous étudiâmes la dose capable de la provoquer durant la nuit suivante pour une partie des sujets immergés dans la solution pendant 4 h 15' - 4 h 30', sans autre manifestation que des montées en surface plus ou moins fréquentes.

#### V. — CONCLUSIONS

Comme l'eau de mer, l'eau douce est un milieu vivant peuplé d'êtres vivants.

Toute pollution altère ses qualités et diminue les usages que l'homme peut en faire: usages domestiques, usages industriels, agricoles, piscicoles.

Si l'homme n'y prend garde, les altérations qu'il cause à l'eau, dans la plupart des cas sans le moindre souci d'y porter remède, deviendront pour lui la source de graves dangers et de situations inextricables.

La préface de toute épuration, est la connaissance aussi exacte que possible de la pollution qu'elle devra corriger. Connaissance difficile, comme toutes celles qui touchent à la vie et aux milieux dans lesquels elle se développe. Voilà pourquoi ces études nécessitent l'emploi simultané de diverses méthodes dont seul le faisceau peut donner une idée complète de la vérité.

---

TABLEAU DE LA REPARTITION  
D'ORGANISMES MACROSCOPIQUES  
DANS LES DIFFERENTES ZONES DE SAPROBIE

Désignation des organismes	Poly-saprobie	Mésosaprobie		Oligo-saprobie	Catharobie
		$\alpha$	$\beta$		
A) FLORE.-					
-----					
1- Cryptogames:					
a) Bactériacées: <u>Sphaerotilus natans</u> (= <u>Cladotrix dichotoma</u> )	_____				
b) Champignons : <u>Leptomitus lacteus</u>	_____				
c) Algues : <u>Lemanea</u> <u>Hydrurus foetidus</u> <u>Cladophoracées</u>				_____	
d) Mousses : <u>Fontinalis</u> <u>Cinclidotus</u> <u>Rhynchostegium</u>					
2- Phanérogames:					
<u>Potamogeton</u>					
<u>Ranunculus</u>					
B) FAUNE (Métazoaires).-					
-----					
1- Vers:					
a) Turbellariés: <u>Crenobia alpina</u> <u>Euplanaria gonocepala</u> <u>Polycelis felina et nigra</u> <u>Dendrocoelum lacteum</u>					

Désignation des organismes	Poly-saprobie	Mésosaprobie		Oligo-saprobie	Catharobie
		$\alpha$	$\beta$		
b) Oligochètes: <u>Tubificides</u>					
c) Achètes : <u>Glossosiphonia complanata</u>					
<u>Herpobdella</u>					
<u>Naucopis sanguisuga</u>					
<b>2- Mollusques:</b>					
a) Lamellibranches:					
<u>Dreysensia polymorpha</u>					
b) Gastropodes: <u>Ancylus fluviatilis</u>					
<u>Physa fontinalis</u>					
<u>Theodoxus fluviatilis</u>					
<u>Limnaea ovata</u>					
<u>Limnaea stagnalis</u>					
<u>Potamopyrgus jenkinsi</u>					
<u>Bithynia tentaculata</u>					
<b>3- Arthropodés:</b>					
a) Crustacés: Isopodes: <u>Asellus aquaticus</u>					
Amphipodes: <u>Gammarus, pulex</u>					
et autres					
b) Insectes : Hémiimétaboles,					
Ephémères: <u>Epeorus</u> }					
<u>Rhithrogena</u> }					
<u>Ecdyurus</u>					
<u>Baetis</u>					
<u>Ephemera, vulgata</u>					
et autres					
<b>perles</b> : <u>Perla</u> }					
<u>Perlodes</u> }					
<u>Chloroperla</u> }					
<u>Nemura</u>					

	Poly-saprobie	Mésosaprobie		Oligo-saprobie	Catharobie
		$\alpha$	$\beta$		
Odonates: <u>Gomphus</u> ) <u>Calopteryx</u> ) <u>Agrion</u> )					
Hémiptères: <u>Aphelocheirus</u> <u>aestivalis</u> <u>Velia currens</u>					
Holométaboles: Phryganes-Rhyacophilides ) Polycentropides ) Hydropsychides ) Odonto-cérides ) Leptocérides ) Sericostomatides (sauf <u>Goerinae</u> ) Limnophilides <u>Drusus</u> ) <u>Stenophylax</u> ) <u>rotundipennis</u> )					
Deptères- Simuliides Eplepharocerides Chironomides <u>Eristalis tenax</u>					
Coléoptères- Parnides Gyrinides					

**PÉDOLOGIE**  
**SCIENCE DE L'ÉVOLUTION DU SOL\***

PAR

Ph. DUCHAUFOUR

---

I. — OBJET DE LA PÉDOLOGIE

Dans l'ancienne conception de la science du sol, le sol n'était pas distingué du substratum géologique. Pour l'agronome, le sol était un milieu stable, inerte: on ne considérait que la couche superficielle, dont on étudiait les propriétés physiques et chimiques. *La Pédologie — science récente — a apporté une méthode nouvelle.* Le sol n'est plus considéré comme un milieu stable et inerte; il « naît », il *évolue*, il arrive à un état d'équilibre et il peut se dégrader; il y a des sols morts, des sols fossiles.

Le sol est donc distinct de la *roche-mère*, qui fournit seulement la *matière* du sol, façonnée par les *facteurs actifs*, le climat et la végétation; le sol résulte donc de l'interaction de ces trois facteurs: sur une roche-mère analogue, le sol formé peut être très différent, suivant le climat. Par exemple, un granite donne naissance à un « podzol » dans le Nord et à une « latérite » en région tropicale. Ces deux types de sols ont des propriétés entièrement différentes.

On suit aisément les étapes de l'évolution du sol lorsqu'une roche mise à nu est nouvellement colonisée par la végétation: on observe alors une évolution parallèle du sol et de la végétation. qu'on peut schématiser de la façon suivante:

Ex. : Climat tempéré	}	Lithosol → Sol jeune → Sol en équilibre avec
		la végétation normale
		Espèces pionnières → Arbustes → Forêt

\* Extrait de la conférence du 10 janvier 1957.

Lorsque l'évolution est terminée, on se trouve en présence d'un sol normal, stable, en équilibre avec la végétation qui caractérise le climat: c'est ce qu'on peut appeler le *climax* du sol, en équilibre avec le *climax* de la végétation; dans nos régions, le *climax* est, le plus souvent, une forêt.

L'évolution qui conduit au « climax » est dite progressive. Au contraire, si la végétation est détruite par l'homme, une végétation secondaire s'installe: il s'agit alors d'une *évolution régressive*, qui s'éloigne du climax; on parle aussi souvent de *dégradation* de la végétation et du sol.

L'évolution du sol est caractérisée par un triple processus:

1° Altération bio-climatique de la roche-mère, qui donne naissance à des argiles microcristallines, mais de propriétés colloïdales.

2° Incorporation au sol d'une matière organique (humus) déterminée, qui est fonction du type de végétation.

3° Déplacement des éléments solubles ou colloïdaux dans le sol: ceux-ci peuvent, en effet, subir des « migrations », par exemple un entraînement ou un lessivage, sous l'influence des eaux d'infiltration: il se différencie ainsi des « couches » successives, de composition différente, appelées « horizons »: l'ensemble s'appelle le profil; la partie supérieure du profil est alors caractérisée par des horizons appauvris ou lessivés (A) et la partie profonde par des horizons enrichis, dits d'accumulation (B).

Finalement, au terme de son évolution, le sol peut devenir très différent de la roche-mère initiale, si le climat présente des caractères très tranchés; on se trouve en présence d'un sol bio-climatique, lié au climat et au type de végétation.

Au début du xx<sup>e</sup> siècle, la pédologie a pris naissance en Russie, où existaient, en raison des contrastes climatiques accentués du nord au sud, des « zones » successives de végétation et de sols très distincts: d'où la notion de sols « zonaux », tout à fait indépendants de la roche-mère. En Russie, on note, par exemple, du nord au sud: les podzols, les sols bruns, les terres noires (chernozems) et enfin les sols châtaîns de steppe.

Notons que cette notion de sol climatique, de sol zonal, est

plus difficile à saisir en France, d'une part à cause de l'action humaine, qui a joué pendant des siècles, d'autre part en raison de la multiplicité des facteurs locaux, des grandes variations de roche-mère et des faibles variations de climat général.

## II. — COMMENT SE RÉALISE L'ÉQUILIBRE SOL-VÉGÉTATION ?

Une association végétale donnée impose au sol un équilibre hydrologique et biologique déterminé; elle établit un « cycle » d'azote, de bases et d'eau, par le jeu des phénomènes d'entraînement, d'absorption par les racines, de remontée par brassage biologique (rôle des lombrics) et enfin par la matière organique spécifique qu'elle abandonne au sol; dans une certaine mesure, on peut dire que la végétation « fabrique » son sol, en tout cas maintient sa stabilité.

Prenons quelques exemples:

1° La forêt résineuse, la lande à Bruyères, en climat humide et froid, fabriquent un humus très acide, à décomposition très lente: un feutrage noir, épais, de matière organique incomplètement décomposée recouvre le sol (humus brut ou terre de Bruyères); la microflore est pauvre et peu active. Cette matière organique donne naissance à des composés résiduels très acides et solubles, qui migrent en profondeur, en dégradant les argiles et en entraînant la totalité du fer: l'horizon lessivé, qui prend naissance, offre un aspect *cendreau* caractéristique; en profondeur, un horizon d'accumulation très dur, enrichi en fer et en humus, se forme et constitue « l'alios ». Ce type de sol est un « podzol » (du russe « zola », qui signifie cendre).

2° La forêt feuillue se comporte bien différemment: elle donne un humus bien incorporé au sol et à décomposition très rapide (Mull); la structure est grumeleuse; les processus d'entraînement du fer et de l'argile sont réduits et le sol garde une teinte brune: on se trouve en présence d'un sol brun forestier.

3° Sous la steppe à Graminées du sud de la Russie, l'évolution du sol est encore différente; la matière organique, très riche en bases, se décompose vite; mais elle donne naissance

— en raison de la grande activité biologique — à une synthèse très active de composés humiques noirs, qui donnent au sol une structure en gros grumeaux, de la grosseur d'un grain de blé. Cette matière organique est mélangée au sol par l'activité animale intense, sur une profondeur de près de 60 cm : le sol est une terre noire ou un chernozem.

### III. — LA DÉGRADATION DES SOLS

Nous avons déjà signalé que l'homme, en détruisant la végétation naturelle, pouvait causer le remplacement de la végétation climacique par une association végétale « secondaire » et provoquer le départ d'une évolution régressive ou « dégradation » du sol : nous donnerons trois exemples, particulièrement significatifs, de ces phénomènes de dégradation.

#### *1<sup>er</sup> exemple: destruction de la forêt feuillue en climat atlantique.*

Sous l'influence des dénudations répétées, causées par les incendies ou les coupes abusives, la forêt se clairière, l'humus s'acidifie peu à peu et l'activité biologique diminue. Sous l'influence des composés organiques dispersés qui prennent naissance, le lessivage du fer et de l'argile augmente : les horizons supérieurs deviennent progressivement plus clairs, alors que les horizons inférieurs deviennent plus compacts et plus foncés (sols lessivés). Les espèces acidiphiles sociales font alors leur apparition (Fougère aigle, puis Bruyères) : une lande à Bruyères remplace peu à peu la forêt, une couche d'humus brut s'édifie en surface, un « alios » durci se forme en profondeur et le sol prend l'aspect du sol cendreau ou podzol, décrit plus haut : un nouvel équilibre s'est établi et la forêt feuillue primitive ne peut plus — dans les cas extrêmes — se réinstaller naturellement sur ces sols.

#### *2<sup>e</sup> exemple: dégradation des sols forestiers en climat méditerranéen semi-aride.*

Le climax de la végétation, dans les régions semi-arides d'Afrique du Nord, est une forêt de Chêne vert de faible

densité, suffisante toutefois pour freiner toute érosion du sol : celui-ci est une « rendzine » meuble, reposant sur une sorte de tuf calcaire — formation hydrogéologique ancienne — ou encroûtement. Lorsque la forêt de Chêne vert est détruite, l'érosion élimine progressivement les horizons meubles — surtout si le sol offre une pente légère — et met à nu l'encroûtement. Lors des pluies violentes, l'eau qui ruisselle sur la surface de cet encroûtement dissout du carbonate de chaux ; mais comme elle s'évapore très vite, elle le dépose sous forme d'une pellicule dure ; une nouvelle pellicule se forme ainsi à chaque période pluvieuse : une « croûte zonaire », de structure feuilletée, s'édifie ainsi progressivement : lorsque son épaisseur atteint une dizaine de centimètres, cette croûte s'imperméabilise et le phénomène s'arrête : comme dans le cas précédent, le sol ainsi dégradé n'est plus récupérable pour la forêt.

*3<sup>e</sup> exemple : phénomène de cuirassement  
en zone tropicale.*

La forêt vierge des régions chaudes offre une très grande stabilité, dans les zones à climat constamment humide (forêt dense ombrophile) : elle résiste alors aux actions destructrices de l'homme. Mais sa stabilité diminue dans les zones à saisons humides et sèches très tranchées (zone guinéenne), où précisément le climat est particulièrement favorable aux phénomènes de dégradation du sol : dans cette zone l'action destructrice de l'homme, qui s'exerce par la pratique des « jachères forestières » et des « feux de brousse », a abouti à la destruction progressive de la forêt et à son remplacement par une *savane*, clairière, caractérisée par de vastes étendues couvertes de Graminées.

Le sol forestier primitif — qu'on peut observer dans quelques rares forêts reliques de ces régions — est un sol contenant de l'alumine et du fer, mais aussi, en quantité appréciable, de l'argile de type kaolinite : c'est un sol meuble et profond (sol ferrallitique), caractérisé en profondeur par une nappe phréatique temporaire, qui disparaît en saison sèche. Lorsqu'il est dénudé, il se dégrade peu à peu par les proces-

sus suivants: 1. érosion des horizons « humifères » de surface, les horizons « vivants » les plus riches; 2. remontée, au début de la période sèche, de fer ferreux soluble, provenant de la nappe phréatique et précipitant en surface sous forme ferrugineuse, sous l'effet de l'évaporation intense: cet oxyde de fer cristallise, se transforme en un ciment très dur, qui incruste peu à peu le sol en surface: celui-ci durcit et devient ainsi une « cuirasse » infertile...

On voit par ces trois exemples, qui ont trait à des processus climatiques et physico-chimiques tout à fait différents, que la dégradation des sols par changement de végétation aboutit fréquemment à des phénomènes de durcissement, qui ont pour effet de diminuer la pénétrabilité du sol et d'empêcher plus ou moins complètement le retour de la végétation initiale primitive, en l'espèce: la forêt. Ces horizons durcis ont d'ailleurs une composition très différente dans les exemples choisis: l'aliès est formé par un ciment d'oxydes de fer et d'humus, la croûte méditerranéenne est calcaire, enfin la cuirasse ferrallitique est constituée par un mélange de fer et d'alumine. Mais, dans les trois cas, les propriétés physiques très comparables agissent dans le même sens défavorable.

#### CONCLUSION PRATIQUE

L'intérêt pratique de la pédologie se dégage nettement des considérations précédentes: en matière forestière, il est évident qu'il est nécessaire de connaître les conditions de l'équilibre biologique sol-forêt, de façon à empêcher toute évolution pédologique défavorable, toute dégradation du sol: le problème ne consiste pas seulement à produire le maximum de mètres cubes, mais encore à conserver la valeur productrice du sol forestier: ainsi, il est maintenant avéré que le reboisement à l'aide du Pin sylvestre à l'état pur, sur sol siliceux, dans l'ouest de la France, rompt cet équilibre sol-forêt et provoque, par acidification de l'humus, une podzolisation plus rapide encore et plus nocive que celle qui est causée par la Bruyère; le remède consiste à introduire dans le reboisement un *sous-étage feuillu* à rôle cultural, destiné

à maintenir l'activité biologique du sol et à empêcher la détérioration de l'humus.

En matière agricole, la pédologie permet d'adapter les cultures au type de sol, d'améliorer un sol à propriétés défavorables et aussi de prévenir les évolutions nuisibles du sol, qui peuvent provenir de certaines pratiques culturales. Nous n'en donnerons qu'un exemple, pris parmi beaucoup d'autres: dans le sud-est des U. S. A., on a pu noter, dans certaines terres à coton, une diminution progressive de rendement, sous l'influence des façons culturales: le sol se tasse et s'imperméabilise juste en dessous de la partie travaillée par les instruments aratoires; une sorte de carapace plus ou moins durcie se forme, qui limite la profondeur du sol, et empêche la pénétration des racines et celle des pluies d'été, dont la majeure partie est alors perdue par l'évaporation: le remède consiste à briser cette couche dure par un sous-solage profond et le rendement s'accroît de nouveau.

L'utilité pratique de la pédologie n'est donc plus à démontrer, malgré l'affirmation de certains journalistes, qui, parlant de ce qu'il ne connaissaient pas, ont osé affirmer, à l'occasion du dernier congrès de pédologie tenu à Paris en 1956, que la pédologie était une science « délicieusement inutile »!...

---

**PHOMA BETAE (OUD.) FRANK  
ET LES MALADIES DE LA BETTERAVE\***

PAR

J. PAYEN

---

Au cours de la séance du 4 novembre 1863 de la Société Impériale et Centrale d'Agriculture de France « Monsieur le Marquis de Vogüé appelle l'attention de la société sur une maladie de la Betterave qu'il a eu l'occasion d'observer, cette année, dans ses cultures, et qui attaque, tout d'abord, le collet de la plante; les feuilles noircissent ensuite, la végétation s'arrête et la Betterave ne pourrit pas, mais elle cesse de grossir. » C'était la première description d'une maladie grave de la Betterave: la pourriture noire du cœur.

A la séance du 9 décembre 1863 de la même société, des Betteraves malades sont présentées, ainsi que le note PAYEN (100): « celles-ci semblent attaquées par des végétations parasites venant de l'extérieur, comme cela est maintenant généralement admis pour l'affection spéciale des Pommes de terre »: [Il s'agissait de *Phytophthora infestans* (Mont) de By. étudié à cette époque en Allemagne.] Dès l'origine, à cette maladie, la plus anciennement connue de la Betterave, on associait des « végétations parasites », c'est-à-dire des Moisissures. L'attention devait être bientôt attirée par l'une de ces Moisissures, *Phoma betae* (Oud.) Frank, identifiée récemment comme étant la forme imparfaite d'un Ascomycète, *Pleospora betae* Björling, et en laquelle on reconnut la cause du mal.

C'était poser un grave problème, celui de la pathogénicité de ce champignon vis-à-vis de la Betterave, il fallait la prouver avant d'attribuer au *Phoma* un rôle effectif. Il s'ensuivit un grand nombre de travaux car la question n'était pas

\* Note présentée à la séance du 14 février 1957.

aussi simple que le pensaient les premiers observateurs. Le bénéfique en fut une connaissance assez étendue du champignon, qui, ainsi que nous allons le voir, accompagne la Betterave à tous les stades de son développement.

Le rappel de ces observations anciennes et du problème soulevé, nous servira d'introduction à ce travail, que nous avons entrepris en vue de réunir les informations fort nombreuses, parfois incomplètes, parfois contradictoires, sur le rôle joué par *Phoma betae* dans l'étiologie de diverses maladies de la Betterave.

Après une description rapide du champignon, nous aborderons successivement l'étude des publications portant sur les relations entre *Phoma betae* et les maladies des plantules, du feuillage, des racines, aux champs et en silos, puis nous résumerons les problèmes de conservation, dissémination et existence de souches diverses.

#### *Description du champignon:*

En culture pure, le mycélium cloisonné et incolore lorsqu'il est jeune, devient brun assez foncé en vieillissant, il produit des pycnides superficielles. Ce sont des conceptacles globuleux, mesurant  $200-300 \times 190-250 \mu$ , à parois minces, colorées en brun dans leur partie externe et formées d'un pseudoparenchyme dont les cellules internes produisent des pycnospores sessiles, sans conidiophore bien différencié. Les pycnospores sont unicellulaires, hyalines, ovales, biguttulées et de petite taille:  $5-7 \times 3-4 \mu$ .

Le stade parfait, *Pleospora betae*, appartient aux Ascomycètes, famille des Pléosporacées. Il est caractérisé par des périthèces hémisphériques mesurant  $230-430 \times 160-205 \mu$ , n'apparaissant que sur l'hôte. Ces périthèces contiennent des asques octospores à ascospores cloisonnées, faiblement colorées, de  $19,5 \times 8,5-10 \mu$ .

En culture pure BJÖRLING (7) a observé d'autres modes de reproduction végétative. Des chlamyospores hyalines, émergeant en bouquets denses sur des hyphes aériennes et qui se développent aussi sur l'hôte si on a soin de le maintenir en chambre humide. Des « segments oïdiaux » pro-

duits à partir du mycélium immergé sur des cultures se desséchant: des cellules isolées ou des files de cellules de ce mycélium se séparent et ces segments donnent naissance à de nouvelles colonies par transfert sur milieu frais.

*Phoma betae et la fonte des semis de Betterave:*

Les altérations parasitaires, d'origine fongique, des plantules de Betterave ont été rangées par KRÜGER (55) sous le nom de Wurzelbrand, et sont connues en Amérique sous les dénominations de black-leg ou damping-off.

Un examen plus attentif a permis la distinction de diverses formes: tout d'abord le « damping-off », ou fonte des semis, au sens strict (21), qui se traduit par une pourriture noire ou brune de l'hypocotyle, tuant les plantules dans les cas graves. Remarquons que lorsque l'attaque n'est que superficielle on parle de « strangle » ou « girdling » par suite de l'aspect étranglé de l'hypocotyle au point d'attaque (72).

Le « root-sickness » est une affection plus commune, mais moins familière, étant confinée au système racinaire elle passe facilement inaperçue. Extérieurement la plantule semble légèrement flétrie, d'un vert plus clair, sa croissance est arrêtée durant l'attaque. Des racines nouvelles se forment, et, si la plante survit, une de celles-ci remplace la racine principale.

Dans d'autres cas l'altération consiste en un noircissement des pétioles et de la base des feuilles cotylédonnaires; ailleurs encore l'attaque est très précoce, elle se produit avant l'émergence, les plantules sont détruites avant leur sortie de terre (50, 59).

L'examen des plantules dépérissantes a permis l'identification de nombreux champignons dont certains sont plus fréquents: *Phoma betae* (Oud.) Frank, *Pythium de baryanum* Hesse, *Aphanomyces* sp., *Rhizoctonia solani* Kühn, *Fusarium* sp.

Quel serait le rôle de *Phoma betae* dans ces altérations? Pour certains auteurs c'est un parasite très actif. En Ukraine il causerait la mort de nombreuses plantules avant la formation de la première paire de feuilles (50). Pour

CAMPBELL (12), c'est le véritable parasite, les champignons qui lui sont associés n'étant que des saprophytes. Les observations d'autres auteurs semblent confirmer ce point de vue: les isollements à partir de plantules malades leur fournissent surtout *Phoma betae*. Ces résultats sont consignés dans les travaux de Mac KAY (52), CANOVA (14), GATES et HULL (39).

Il faut cependant remarquer que d'autres champignons sont souvent associés au *Phoma*; si ce dernier est un parasite actif, il n'est certainement pas le seul agent possible de la fonte des semis.

Pour d'autres auteurs c'est un parasite secondaire. Ainsi BUCHHOLTZ (9) rapporte que dans les sols acides de l'Iowa (U.S.A.), de pH inférieur à 6,5, *Pythium de baryanum* est un parasite plus actif que *Phoma betae*, ce dernier ne causant que des nécroses superficielles dont les plantules ne souffrent pas. En Tchécoslovaquie, selon NEUWIRTH (67), il ne jouerait qu'un rôle très secondaire.

Quels sont les facteurs influençant les attaques de *Phoma betae*? Il semble que l'on puisse considérer en premier lieu la vitalité des plantules. EDSON (21) rapporte que des agriculteurs éminents, en Amérique, dénie toute pathogénicité au champignon à la suite de leur succès dans la prévention des maladies des plantules, par une culture appropriée et par fertilisation. L'auteur explique ce fait en disant que dans les sols bien préparés, les plantules dépassent rapidement un stade critique, celui où la troisième paire de feuilles apparaît, stade durant lequel les plantules sont très susceptibles.

Indépendamment de ce stade critique, de nombreux auteurs voient dans l'affaiblissement des plantules, la raison des dégâts, souvent considérables, dus au champignon. Ces causes peuvent être: une humidité basse, affaiblissant les plantules (97), un printemps défavorable (14), des sols froids (39), un engrais déséquilibré, par exemple un excès d'azote (1). Mac KAY (53) a résumé ces observations: pour lui, les facteurs provoquant une croissance rapide des plantules sont plus importants que le traitement des semences, dans la prévention de la fonte des semis. *Phoma betae* serait donc un parasite de faiblesse. Ce fait serait confirmé par des

essais d'infection expérimentale réalisés à l'aide de spores ou de mycélium introduits dans le sol (46) ou à l'aide de glomérules infectés (84); ces essais ont échoué, et pour ces deux expérimentateurs le champignon est incapable d'infecter les plantules saines.

Un autre facteur influençant les attaques est le pH du sol. J. de ROUBAIX (82) cultive des betteraves sur sable de Moll imbibé de solution nutritive et note que « tout pH acide favorisant le pied noir, nous avons pu nous rendre compte en effet de l'influence décisive du pH du sol sur l'apparition de *Phoma betae*, ce champignon provoquant des lésions connues sous le nom de pied noir. Sur sol non acide cette maladie est écartée, même lorsque les graines ne sont pas désinfectées, à condition de les soumettre au préalable à un lavage abondant à l'eau distillée. Nous avons d'ailleurs abandonné la désinfection sans aucun inconvénient. »

EDSON, en 1915, avait déjà observé que l'application de chaux, sur des sols acides, assurait un succès total dans la lutte contre le *Phoma*. Cependant, récemment ЗИУКОВА (97) a dénié toute action au pH, l'acidité ne jouerait pas un rôle essentiel.

D'autres auteurs ont mis l'accent sur l'influence du précédent cultural. Les champignons responsables de la fonte des semis seraient d'après LE CLERG (60) plus actif après Luzerne et Mélilot, moins après Maïs. MORRIS et AFANASIEV (64) observent 10 à 23 % de plantules malades derrière jachère et de 44,5 à 71,9 % après Betteraves.

A quelle origine attribuer l'infection des plantules? Pour la plupart des observateurs, celle-ci proviendrait des glomérules véhiculant le champignon. Cependant CAMPBELL (12) rapporte ne pas avoir observé *Phoma betae* sur des lots de graines ayant donné naissance à des plantules montrant 25 à 50 % de fonte à prédominance de *Phoma*; pour cet auteur, l'infection viendrait du sol. Une expérience d'EDSON (21) semble infirmer cette conclusion, ayant semé dans différents sols des graines stérilisées à la chaleur, il n'observe aucune atteinte du champignon, sinon quelques rares infections de printemps, sur des terres ayant porté des Betteraves l'année précédente.

*Phoma betae* et les maladies du feuillage:

Le champignon peut se comporter en maculicole, provoquant de petites taches nécrotiques dont le nombre conditionne l'importance des dégâts.

Historiquement, l'étude de ce mode d'attaque comporte deux étapes. Dans la première les systématiciens ont démontré l'identité de la forme rencontrée sur les racines avec celle attaquant le feuillage. On connaissait depuis longtemps un *Phoma* s'attaquant aux feuilles de la Betterave, ainsi TULASNE, en 1863, mentionne un très petit Pyrénomycète, le *Phoma uredinicola* Desm.

En 1877, OUDEMANS signale, en Hollande, sur des feuilles âgées de Betterave à sucre un *Phyllosticta betae* Oudem.

En France, PRILLIEUX (78) à la suite d'une observation identique en donne la diagnose sous la dénomination de *Phyllosticta tabifica* Pril.

En Allemagne, FRANK en 1893 (29), pense que *Phyllosticta tabifica* est identique au champignon qu'il isole à partir de racines malades et qu'il appelle *Phoma betae*.

Il faut ensuite attendre les travaux de HEDGCOCK (1904) pour que soit prouvée, à l'aide d'inoculations croisées, l'identité des formes *Phoma* (sur racines) et *Phyllosticta* (sur feuillage). Cette identité fut de nouveau confirmée par l'Allemand SCHMIDT en 1937, à l'aide de cultures pures de *Phyllosticta tabifica* et de *Phoma betae* (isolé à partir de Betterave).

La seconde étape intéresse les phytopathologistes en raison des dégâts que cause parfois le champignon au feuillage de la Betterave. Nous emprunterons la description des symptômes à ROLAND (80): « Chaque année, à la fin de l'été, on peut constater, en Belgique et dans plusieurs pays betteraviers (Allemagne, France, Hollande...), des attaques des maladies des taches noires de la Betterave. Ces maladies se caractérisent par l'apparition de taches brunes, plus ou moins foncées sur les feuilles extérieures du bouquet foliaire de la Betterave. Situées principalement entre les nervures secondaires de feuilles, ces taches sont à bords plus ou moins arrondis. Leurs dimensions sont variables et oscillent le plus

souvent entre 1 et 2 cm. Leur nombre augmente au cours de la période de végétation et, finalement, les taches, confluant les unes dans les autres, entraînent la mort des limbes, qui ont alors assez bien l'aspect de feuilles de Tabac séchées, comme les praticiens ont d'ailleurs l'habitude de les dénommer. »

En 1915 déjà, l'Américain EDSON avait isolé les organismes responsables de ces taches nécrotiques, il avait noté que les taches précoces en saison, contenaient plusieurs champignons (*Cercospora*, *Phoma*...) et qu'elles résultaient de piqûres d'Insectes. Les taches typiques n'apparaissent que fin juillet, début août, elles ne fournissent à l'isolement qu'un seul champignon, *Phoma betae*, et elles se produisent toujours sur les feuilles âgées.

Les essais d'infection de feuilles de Betteraves à l'aide de *Phoma betae* ont révélé un fait curieux: l'âge de la feuille est le seul facteur de susceptibilité, seules les feuilles âgées, c'est-à-dire celles situées à la périphérie du bouquet foliaire, sont susceptibles d'être contaminées. A notre connaissance ce fait n'a pas reçu d'explication valable. Notons que chez d'autres plantes parasitées par d'autres champignons, on peut observer des phénomènes identiques dont l'explication est soit de nature physique (nombre et fonctionnement variables des stomates suivant l'âge de la feuille) ou de nature chimique (composition de la feuille variant avec l'âge de celle-ci).

Les premiers essais d'infection sont dus à l'Allemand FRANK: celui-ci échoue en essayant d'infecter des feuilles saines, non blessées, mais obtient une contamination rapide de feuilles blessées ou légèrement fanées. Il en conclut que la plante, affaiblie par le manque d'eau, est dans un état de réceptivité manifeste vis-à-vis du champignon. L'importance de l'âge de la feuille est démontrée par les travaux d'EDSON (21) et ROLAND (80), le champignon peut parasiter assez facilement les feuilles âgées du bouquet foliaire de Betteraves saines, alors que les feuilles du cœur sont complètement résistantes. Cependant ROLAND réalise l'infection en pulvérisant une suspension de spores et de mycélium et ceci même sur des feuilles non blessées, tandis qu'EDSON n'avait obtenu

de contamination que sur blessures. En 1948, HEIBERG et RAMSEY (46) précisent ces notions, en infectant, à l'aide d'une suspension de spores, le feuillage de plantules de Betteraves rouges. Ils notent que les lésions ne se produisent que sur des individus âgés de deux mois et demi au moins et sur les feuilles âgées seulement (ayant 9 cm de longueur), ces lésions restent petites, de 2-3 mm de diamètre, et ne portent pas de pycnides, alors que chez la Betterave à sucre EDSON (22) obtenait des taches atteignant 1-2 cm, marquées de zones concentriques de croissance, soulignées par des pycnides, fait important si l'on veut bien le considérer du point de vue des contaminations secondaires possibles.

*Phoma betae et la maladie du cœur de la Betterave:*

La maladie du cœur de la Betterave sévit actuellement en Europe continentale et en Amérique du Nord. Dans les pays de langue allemande elle porte les noms de Herzkrankheit, Trockenfäule et Phyllonekrose, dans les pays de langue anglaise elle est connue sous l'appellation de heart-rot, c'est-à-dire pourriture du cœur.

Les premiers symptômes de cette maladie apparaissent sur les jeunes feuilles (bouquet central), celles-ci se flétrissent, noircissent et dépérissent (c'est l'éborgnement au sens strict). La plante peut compenser leur disparition par l'émission de nouvelles pousses périphériques. L'altération gagne ensuite le collet de la Betterave, à la base du bouquet foliaire, dont les tissus présentent un changement local de couleur, puis une nécrose accentuée (Trockenfäule ou pourriture sèche), celle-ci reste d'abord superficielle, mais peut ensuite s'étendre à toute la racine (pourriture brune).

En France cette maladie attire très tôt l'attention des agronomes, dès le milieu du 19<sup>e</sup> siècle. A cette époque l'Oïdium de la Vigne (vers 1852) ayant réduit considérablement notre production d'alcool, bien des sucreries se transformèrent en distilleries; il s'ensuivit une culture intensive de la Betterave à sucre. C'est alors que les premières atteintes graves se manifestèrent, posant des problèmes nouveaux aux producteurs qui voyaient sur certaines parcelles les rende-

ments baisser et aux industriels qui rencontraient des difficultés dans le traitement des jus obtenus de Betteraves altérées.

Les premières communications sur la maladie sont dues à des agronomes: de VOGÜÉ (93), PLUCHET (75); elles ont pour sujet les symptômes de la maladie, et mettent l'accent sur l'influence des facteurs externes dans l'évolution de celle-ci: nature du sol, sécheresse, chaulage, apport d'écumes de défécation. Ces communications suggèrent à certains, PAYEN (100), DUCHARTRE (19), l'idée d'une origine parasitaire de la maladie. L'idée de cette origine parasitaire allait être étayée par les observations de PRILLIEUX (78) en France, de FRANK (28, 29, 30, 31) en Allemagne, qui signalent la présence de *Phoma betae* dans les tissus des plantes malades.

Mais tous les essais d'inoculation de Betteraves saines à l'aide de *Phoma betae*, en vue de reproduire les symptômes de la maladie du cœur, échouèrent [BUSSE, PETERS et Von FABER (11), RUHLAND et ALBRECHT (83), EDSON (21)]. Ces auteurs montrèrent que les Betteraves saines possèdent une résistance certaine vis-à-vis du champignon, s'opposant à son installation et à sa pénétration dans leurs tissus.

Il faut noter que, depuis PLUCHET, de nombreux expérimentateurs, frappés par le rôle décisif dans l'évolution de la maladie des facteurs externes physiques et chimiques, soupçonnaient une origine physiologique.

C'est BRANDENBURG (8) qui, en 1931, montre que la véritable cause de la maladie du cœur était une carence en bore. Par culture de Betteraves sur milieu nutritif liquide carencé en bore, il reproduit les symptômes de la maladie: arrêt du développement, disparition du bourgeon central et noircissement des tissus. Il obtient les mêmes résultats en culture sur sable, et note que l'on obtient la guérison par addition de 5 mmg d'acide borique par kg de sable. Depuis, de nombreux chercheurs ont confirmé les résultats de BRANDENBURG. A la suite de ces travaux, HIRSCH (47) en 1937 reprend les expériences d'inoculation avec *Phoma betae*, il inocule d'une part des Betteraves saines, et d'autre part des Betteraves carencées en bore; chez les premières il n'obtient

pas d'infection, mais chez les secondes les dégâts de la maladie du cœur sont accentués par la présence du champignon.

Ainsi *Phoma betae* ne serait qu'un parasite de faiblesse, mettant à profit un déséquilibre interne de la Betterave résultant d'une carence en bore, pour s'installer dans les tissus et accentuer les dégâts dus à cette carence.

Le problème n'est peut-être pas définitivement résolu. Des acquisitions récentes nous montrent que les apports de bore modifient l'équilibre enzymatique des végétaux supérieurs (3, 96) et peuvent selon certaines indications réduire des maladies importantes comme les Charbons des Céréales (87). D'autre part, il est connu que les apports de bore ne suffisent pas, en pratique, à faire disparaître entièrement l'ébornement. Il est possible que le problème de la carence en bore et de *Phoma betae* ne soit pas encore complètement résolu.

#### *Phoma betae et les pourritures aux silos:*

On sait que les Betteraves sont, pour la plupart, stockées dans des silos entre la récolte et la date de leur utilisation. Or au cours de leur conservation ces racines sont susceptibles d'être attaquées par divers agents de pourriture. C'est ainsi que parmi les huit types majeurs de pourriture des racines de Betterave à sucre cités par MAXSON en 1938 (62) on relève un « brown-rot », ou pourriture brune, due à *Phoma betae* et qui apparaît en général pendant le stockage.

Les recherches effectuées en vue de réduire les pertes dues à la pourriture en silos sont nombreuses et concernent la Betterave à sucre, en raison des pertes importantes causées aux lots stockées pour un traitement tardif. A la suite de ces recherches, il est possible actuellement d'effectuer un recensement des champignons responsables de ces pourritures. En nous basant sur l'important travail de HODGES (48), dont les conclusions reposent sur l'examen de plus de 5 000 Betteraves malades, provenant de différentes régions des Etats-Unis, nous constatons que les parasites actifs appartiennent aux genres de champignons suivants: *Phoma*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Sphaeropsis*, *Penicillium*, *Rhizopus* et *Fusarium*. Les parasites sont donc nombreux, mais les espèces du genre

*Fusarium* dominant largement, *Phoma betae* ne causant que des dégâts légers suivant l'auteur. A quelques rares exceptions près, les espèces rencontrées par divers auteurs appartiennent aux genres cités par HODGES.

Au cours de l'hiver 1955-1956 nous avons pu apprécier l'importance de la pourriture brune citée par MAXSON, sur Betteraves fourragères, conservées en silos dans la région nancéienne. Plusieurs examens, échelonnés sur les mois de novembre, décembre et janvier, nous ont fourni des pourcentages d'attaque variant de 13 à 25 %; ces attaques se présentaient sous forme de taches brunes à noires, soit petites (de l'ordre de 1 cm), soit très étendues (jusqu'à 20 cm). De nombreux isollements nous ont fourni constamment *Phoma betae*, seul ou associé à des bactéries ou à des champignons divers. Les dégâts causés sont très importants et vont en s'accroissant à l'approche du printemps.

Mais quel est le rôle exact joué par *Phoma betae* dans ces pourritures? Actuellement il semble difficile de le préciser, car il est sous la dépendance de nombreux facteurs dont l'étude est assez délicate.

Le rôle des blessures aux racines lors de l'arrachage ou des manipulations de celles-ci semble être un facteur important de contamination. Ainsi GASKILL (34) note que les Betteraves blessées fournissent toujours un plus haut pourcentage de pourriture. TOMPKINS et NUCKOLS (88) ont montré que la pratique du décolletage des Betteraves à sucre à la récolte ouvre une porte d'entrée aux parasites. En 1930, ces mêmes auteurs, prouvent que les tissus de la partie supérieure du collet sont plus résistants à la pourriture que ceux situés sous l'attache des feuilles les plus externes. Notons que le rôle des blessures en tant que porte d'entrée est sous la dépendance du phénomène de cicatrisation des tissus blessés, cicatrisation qui oppose une barrière de tissus subérifiés à la pénétration du champignon (4).

La température à laquelle les racines sont conservées est un autre facteur très important. Les températures basses retardent la pénétration du champignon, des températures relativement élevées stimulent le métabolisme de celui-ci et par conséquent accélèrent la désorganisation des tissus.

Ainsi une élévation de 5° C. cause une différence significative dans le pourcentage de pourriture (90). GASKILL (35) note que des racines de Betterave rouge stockées à 18° C. montrent 7 à 15 fois plus de pourriture que celles conservées à 7° C.

L'état physiologique des Betteraves influe aussi sur la pénétration de *Phoma betae* dans les tissus. LARMER (57) étudiant l'influence des déséquilibres alimentaires sur la pourriture, montre que les racines provenant de parcelles manquant de phosphates sont plus sensibles à la pourriture, alors que celles provenant de parcelles ayant reçu des engrais azotés sont de bonne conservation. GASKILL (34) met en évidence l'influence des engrais azotés, l'absence de ceux-ci causant des pourritures plus profondes. Récemment, NELSON et OLDMEYER (65) ont montré que plus la teneur des racines en sucre est élevée, plus la résistance vis-à-vis de *Phoma* est élevée. Ce résultat aurait une conséquence logique: l'extrémité de la racine étant moins riche en sucre, celles-ci devrait être plus sensible au champignon, or pour SHEMAKIN (86) l'extrémité de la racine est aussi résistante que les autres régions.

L'humidité du silos joue aussi un rôle, pouvant favoriser le développement de certains agents de pourriture au détriment d'autres; ainsi une forte humidité diminue les dégâts de *Phoma betae*, mais favorise les dégâts causés par les champignons du genre *Pythium* (17).

Pour GASKILL (35) la dessiccation des racines avant ensilage a des effets désastreux sur les qualités de conservation. Si, après arrachage, on laisse séjourner dehors les racines de 1 à 4 jours, la pourriture en cours de stockage est accrue de 7 à 23 fois par rapport aux lots ensilés aussitôt après arrachage.

Un dernier facteur influant sur la pourriture est la résistance naturelle des Betteraves. Ainsi il serait possible de sélectionner des racines en vue de leur résistance à la pourriture. GASKILL (36, 37, 38) relève en effet, dans une même variété, des différences individuelles considérables. L'amélioration de la résistance par sélection devrait donc être réali-

sable. D'autre part, l'auteur note que les Betteraves rouges sont très résistantes.

Mais les conclusions de SHEMYAKIN (86) sont totalement différents, les racines fraîches et saines des différentes variétés et des différentes régions sont toutes hautement résistantes. L'idée que la Betterave à sucre serait sensible n'est pas fondée, sa résistance ne diminue que lorsque les conditions de stockage sont défectueuses (fanaison, gelée...).

*Le problème de la conservation  
et de la dissémination de *Phoma betae*:*

Nous réunirons ici les observations et hypothèses des divers auteurs concernant les procédés grâce auxquels *Phoma betae* assure sa conservation et sa dissémination.

Un fait important à notre sens doit être rapporté ici, c'est la vitalité prolongée du champignon. EDSON (21) a montré que des souches entièrement desséchées, âgées de plus d'un an, n'ont pas perdu leur vitalité: repiquées, elles se développent et fructifient abondamment. BJÖRLING (7) obtient 80 % de germination avec des ascospores, conservées au laboratoire, pendant 20 mois, tandis que les chlamydo-spores restent viables plus d'un an. Cette vitalité n'est pas exceptionnelle chez les champignons ainsi que l'ont montré des études récentes (98), cependant c'est un atout précieux que doit utiliser le champignon pour assurer sa conservation.

D'autre part l'étude morphologique montre quelles formes peuvent assurer la dispersion du parasite. Ce sont en premier lieu les pycnospores, se formant en abondance à l'intérieur des pycnides sur les feuilles et sur les racines de la Betterave. Rappelons que HEIBERG et RAMSEY (46) n'en ont pas rencontré sur la Betterave rouge. En deuxième lieu, les ascospores, qui apparaîtraient, selon BJÖRLING (7) durant l'hiver, sur les débris de Betterave, et seraient libérées l'été suivant. Enfin la conservation pourrait être assurée par des chlamydo-spores, qui pourraient se former dans certaines conditions, notamment si l'humidité est élevée, et par le mycélium ou peut-être des segments oïdiaux, mais ces derniers n'ont été observés qu'en culture pure.

— *Dissémination par l'air:*

L'étude de ce phénomène est réalisée par l'emploi de lames-pièges (lames enduites de milieu nutritif) ou à l'aide de boîtes de Pétri contenant le milieu nutritif, exposées à l'air pendant un certain temps, puis mises en incubation pour permettre la germination des spores recueillies. Les colonies obtenues sont isolées et identifiées.

Sur 44 boîtes exposées, EDSON (21) récolte 50 colonies de *Phoma*, ces colonies n'étant recueillies que sur des boîtes exposées le jour, les résultats sont négatifs la nuit; l'humidité plus élevée à ce moment déclencherait la sortie des spores hors des pycnides, et, le jour suivant, un début de dessiccation permettrait leur dispersion dans l'air.

D'autres auteurs (16, 20) signalent que les sortes d'espèces du genre *Phoma* sont nombreuses, surtout à certaines périodes de l'année, dans l'air aux Etats-Unis et au Canada.

Pour BJÖRLING (7) une preuve de la dissémination par le vent serait l'apparition soudaine du parasite, en juillet, sur un grand nombre de Betteraves à la fois. Mais suivant cet auteur, les ascospores en seraient la cause.

De telles observations sur le transport par le vent des spores du champignon n'ont rien d'étonnant, c'est un phénomène habituel à de nombreux champignons parasites. Mais quel rôle exact jouent ces spores dans les contaminations? Il est bien difficile de le préciser.

— *Dissémination par les Insectes:*

Ce sont des vecteurs passifs d'impuretés de petite taille et de toute nature et souvent des intermédiaires actifs dans les maladies des végétaux par les petites blessures qu'ils ouvrent dans les tissus.

Ainsi l'Atomaire linéaire (*Atomaria linearis*), par les blessures faites aux plantules de Betterave, ouvre la porte aux agents du pied noir (23); le Puceron noir des feuilles de Betterave (*Aphis fabae*) est un vecteur actif, surtout de Virus, mais ne transmettrait que rarement *Phoma betae* (7).

En silos, les tissus attaqués par le champignon hébergent

un grand nombre de saprophytes, surtout des Acariens (40), en lesquels on peut voir des agents de dispersion, d'autant mieux que l'on a déjà observé des associations entre champignon et Acarien (63).

— *Dissémination par les glomérules:*

La présence de *Phoma betae* sur la semence de Betterave est assez variable, c'est ainsi que les pourcentages d'infection suivants ont été donnés:

17 à 77 % sur des lots provenant de diverses contrées européennes (53);

0 à 25 % après désinfection superficielle (26, 27);

40 à 100 % en Allemagne (84);

0 à 12 % en Belgique (92);

20 à plus de 50 % sur Betteraves rouges (46);

12 % en Irlande (HUGHES, 49), et souvent plus de 90 % en Hollande en 1936 (54).

Le champignon est présent soit à l'état de mycélium, dans les tissus parenchymateux du glomérule, soit à l'état de pycnides situées dans les alvéoles ou de spores adhérant à la surface du glomérule.

Le pourcentage d'infection de la semence semble être sous la dépendance de plusieurs facteurs:

— il est directement proportionnel à l'humidité du pays d'origine des semences (58, 84);

— il dépend de la variété de Betterave (15, 26);

— il varie avec l'âge de la semence: NEWTON (68) conserve des lots de semences 5 années sans diminution du pouvoir germinatif, mais le pourcentage des plantules tuées diminue de 30 à 5 %.

Quelle est l'origine de l'infection des glomérules? Pour JIROMSKAYA (50) il existe une relation directe entre l'infection des racines et celle de la graine, ainsi, les glomérules provenant des pieds-mères infectés par *Phoma betae* fournissent des lots montrant deux fois plus de pourriture que les témoins sains. Pour BJÖRLING (7), le champignon est très abondant sur les Betteraves de semence, provoquant une prématurité des graines, dont la qualité et la quantité sont

réduites. Les pycnides se forment au centre des taches nécrotiques des tiges, les pycnospores étant libérées à la récolte et se répandant sur les glomérules, dont le pourcentage d'infection est élevé. PENDLETON, FINNEL et REIMER (70) signalent aussi de graves dommages causés aux tiges par le champignon dans l'Orégon.

Nous aborderons ici le problème de la désinfection des glomérules. L'utilisation de fongicides divers, surtout des produits mercuriels, a été reconnue efficace par de nombreux auteurs pour augmenter le taux d'émergence des plantules (5, 7, 13, 15, 39, 41, 58, 60, 66, 77, 81, 91, 97). Cependant, si après traitement, le pourcentage des plantules obtenu à partir d'un lot de semences fortement contaminé est plus élevé, il semble bien qu'il n'existe pas actuellement de moyen assurant la destruction totale de *Phoma*, ainsi qu'il ressort des publications récentes de Mac KAY (52) et Von PLOTHO (74). En effet, de par sa structure un glomérule est difficile à désinfecter, il est peu mouillable par les liquides et les poudres y adhèrent mal (51). De plus, ainsi que l'a montré FOURMONT (27), le mycélium peut pénétrer dans la profondeur des tissus du glomérule, cette situation expliquerait le succès des traitements par la chaleur. EDSON en 1915, recommandait déjà le traitement à l'eau chaude à 60° C, pendant 10 minutes, en deux fois à 24 heures d'intervalle. Cette méthode a été appliquée avec succès sur le plan commercial par MARTIN (61) qui recommande une immersion de 30 minutes dans l'eau à 55° C, et par Mac WHORTER (95) qui fait séjourner les lots de semences pendant 40 à 90 minutes dans la vapeur d'eau à 60-65,5° C.

— *Dissémination par le fumier:*

A notre connaissance elle n'a été envisagée que par EDSON aux Etats-Unis, en 1915, celui-ci ayant obtenu 36 colonies de *Phoma betae* à partir de 9 gouttes d'une macération de fumier. Quelle est l'origine de ces colonies? Si le fumier est un milieu favorable au développement du champignon, peut-on penser que le mycélium ou les spores subissent sans altération la traversée du tube digestif des Ruminants? Un fait

est certain, dans nos régions les Betteraves fourragères données au bétail en hiver, portent très souvent des lésions contenant *Phoma betae*.

— *Conservation dans le sol:*

C'est FRANCK en 1895 qui émit le premier l'idée d'une conservation possible du champignon dans le sol, idée soutenue ensuite par GRIFFON et MAUBLANC (42) qui se basaient sur le fait que la pourriture du cœur reste localisée à certaines terres.

Pour PETERS (71) *Phoma betae* se conserverait à l'état de mycélium dans le sol, sur des fragments de Betterave. EDSON (21) enterre des feuilles de Betteraves infectées, après 12 mois de séjour dans le sol celles-ci sont entièrement pourries et il n'est plus possible de réisoler le champignon. Il conclut qu'une période d'une année est suffisante pour éliminer ces feuilles infectées, mais fort justement il se refuse à généraliser ce résultat à tout fragment de Betterave. En effet, en 1934, SCHMIDT (84) montre que si le champignon ne peut subsister sur des substrats imprégnés de jus de Betterave, ou sur des glomérules broyés, il est encore vivant après 10 mois sur des fragments épais de tige fructifère enterrés dans le sol.

Cependant si le mycélium vivant est éliminé le plus souvent des débris dans le sol après un temps plus ou moins long, des expériences préliminaires nous ont montré que la germination des spores de *Phoma betae* est totalement inhibée dans divers sols. Nous pouvons voir, dans cette inhibition de germination, une protection possible des spores, celles-ci pouvant alors se conserver dans le sol pendant un certain temps.

Certains comptes rendus d'expérience sembleraient confirmer ce point de vue, ainsi EDSON (21) obtient des cultures de *Phoma betae* à partir d'un col consacré à la culture de la Betterave à sucre plusieurs années de suite: 5 cg de terre d'un échantillon de surface et 25 cg d'un échantillon prélevé à 30 cm de profondeur lui fournissent respectivement 4 et 8 colonies. D'autres auteurs ont isolé de terres con-

créés à la culture betteravière des espèces non spécifiées, du genre *Phoma* (44). Finalement nous voudrions rappeler les observations de WARCUP (94), qui, étudiant l'origine des champignons isolés du sol par la méthode des dilutions, a montré que sur 1 073 colonies isolées, 4 seulement proviennent de mycélium et restent d'ailleurs stériles en culture, prouvant ainsi que de nombreux champignons se conservent dans le sol par leurs spores.

— *Conservation dans les tissus de l'hôte:*

EDSON (21) étudiant des plantules ayant résisté à *Phoma betae*, montre que le champignon est toujours présent dans l'hôte, à l'intérieur de cellules avoisinant les vaisseaux, jamais dans ceux-ci (l'infection est confinée à une chaîne verticale de cellules et en aucun cas on n'observe plus d'une seule hyphes non ramifiée, écrit-il). Suivant lui, sous des conditions favorables de climat et de culture, 75 % de plantules attaquées ne sont pas tuées, elles poursuivent leur croissance mais portent le parasite à l'état latent (« dormant condition »). Mais l'affirmation la plus hardie et la plus originale est la suivante: certaines Betteraves hébergent le champignon durant toute leur existence (parasitisme atténué), si la vitalité de l'hôte est réduite pour des causes diverses, le parasite peut redevenir actif et causer les dégâts habituels.

Ainsi l'examen, au printemps, des Betteraves conservées en silos, révèle toujours la présence du champignon, ce serait la preuve, selon EDSON, que *Phoma betae* est capable de vivre sur son hôte pendant longtemps, sous une forme peu visible et en apparence inoffensive. Lorsque les conditions de stockage sont défavorables la pourriture peut prendre une forme épidémique et conduire à la destruction totale des racines. D'autre part, à l'appui de son affirmation, l'auteur signale que des racines en apparence saines, présentent des taches noires près des anneaux vasculaires, ces taches renfermeraient le champignon. Cette idée fut reprise par DELACROIX et MAUBLANC en 1926 (18).

Aucun fait nouveau n'a été apporté depuis pour étayer cette hypothèse, cependant nous pouvons rappeler que chez

d'autres espèces du genre *Phoma* on assiste à une symbiose du champignon avec les racines de la plante-hôte (*Phoma* des racines des Ericacées); ce qui pourrait être interprété comme l'indice, chez certaines espèces du genre *Phoma*, de la possibilité d'exploiter la plante-hôte sans la léser (parasitisme atténué).

*Virulence et existence de souches  
diverses chez Phoma betae:*

Nous terminerons en rappelant quelques faits ayant trait au problème de la virulence et de l'existence de souches différentes.

En 1932, TOMKINS et PACK (90), étudient 4 isollements de *Phoma betae*, isollements obtenus en prélevant des extrémités d'hyphes. Ils concluent que ces 4 souches sont des races différentes d'une même espèce pour les raisons suivantes:

- différences significatives, du point de vue statistique, dans la taille des spores;
- différences significatives, d'après l'observation des souches en culture pure;
- différences d'agressivité vis-à-vis des tissus de la Betterave.

Les auteurs pensent que les variations morphologiques observées sur vingt autres souches sont la preuve de l'existence d'un certain nombre de races différentes.

BJÖRLING en 1945 (7) étudie de même la variation morphologique et physiologique et constate qu'il apparaît de nombreux biotypes, différents par leur morphologie et leur pouvoir pathogène, ces biotypes pourraient se constituer par hybridation ou par mutation, plusieurs d'entre eux se rencontrent parfois sur une même plante.

HEIBERG et RAMSEY en 1948 (46), par inoculation de tranches de racine de Betterave rouge, montrent que sur 8 souches utilisées, 2 produisent une pourriture plus profonde, ce qui serait l'indice de l'existence de souches ne possédant pas la même pathogénicité.

Quelles indications nous sont apportées quant au maintien de la pathogénicité? EDSON (21) utilisant 24 souches diffé-

rentes dans des essais d'infection de plantules, a observé que la conservation des souches en culture pure pendant 14 mois, ne semble pas atténuer la virulence du champignon. Par contre AFANASIEV (2) observe que les souches isolées par lui dans le Montana sont plus virulentes que celles conservées à l'AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION.

Cette mise au point sur nos connaissances concernant *Phoma betae* nous permet de constater l'existence du parasite à tous les stades du développement de la Betterave. Nous l'avons rencontré sur la semence, puis nous l'avons vu détruire les plantules lors de la fonte des semis. Quand elle a poussé quelque trois feuilles, la Betterave semble devenir résistante et nous ne retrouvons plus *Phoma betae* que chez des plantes affaiblies (par une carence en bore notamment) ou exceptionnellement sur feuilles âgées. Par contre, sur les porte-graines, le parasite fructifie abondamment au niveau des tiges, des feuilles, des inflorescences, il infecte ainsi les glomérules, d'où il contaminera les jeunes Betteraves.

Il apparaît ainsi un cycle évolutif intéressant l'hôte depuis la germination jusqu'à la fructification; mais malheureusement ce cycle présente une lacune: on n'a pas encore montré avec certitude ce que devenait *Phoma betae* pendant la période de résistance de la Betterave, depuis le stade des trois feuilles jusqu'à la maturité. Il subsiste une autre point obscur: aux champs les racines semblent complètement indemnes, à partir de la récolte, des lésions apparaissent et s'intensifient peu à peu au cours de l'hiver; cette sensibilité accrue par le vieillissement n'a rien d'exceptionnel, on la retrouve chez bien des plantes, mais nous ne savons pas comment *Phoma betae*, invisible à la récolte, peut atteindre les racines au silos.

Enfin une autre question importante reste posée, *Phoma betae* n'est pas le seul agent de pourriture des Betteraves en hiver. Il est très souvent associé à des *Fusarium*, à *Botrytis cinerea*, et à d'autres espèces et peut-être pourrions-nous découvrir des phénomènes de synergie. En tout cas l'importance pratique de ces différents problèmes reste considérable étant donné la gravité des pertes subies par les producteurs.

(Travail du Laboratoire de Phytopathologie de l'EN.S.A. Nancy.)

BIBLIOGRAPHIE

1. AFANASIEV (M.-M.), MORRIS (H.-E.). — Control of seedling diseases of Sugar Beets in Montana. *Phytopathology*, (1942), **32**, n° 6, p. 477.
2. AFANASIEV (M.-M.). — The relation of six groups of Fungi to seedling diseases of Sugar Beets in Montana. *Phytopathology* (1948), **38**, n° 3, p. 205-212.
3. ALEXANDER TAYLOR (R.). — Anatomical and physiological responses of Squash to various levels of boron supply. *Bot. Gaz.* (1942), **103**, p. 475-491.
4. ARTSCHWAGER (E.), STARRETT (R.-L.). — Suberization and wound cork formation in the Sugar Beet, as affected by temperature and relative humidity. *Jour. Agr. Res.* (1933), **47**, p. 669-674.
5. BARATTE (J.), DARPOUX (H.), LEBRUN et DURGEAT. — Sur l'utilisation d'un ammonium quaternaire pour la désinfection des semences de betterave et la lutte contre divers parasites de la betterave. *C. R. Acad. Agri. Fr.* (1953), **39**, n° 17, p. 793-795.
6. BJÖRLING (K.). — Pleospora betae n. sp., die Schlauchfruchtform von *Phoma betae* (Oud.) Fr. *Bot. Notiser* (1944), **2**, p. 215-222.
7. BJÖRLING (K.). — Undersökningar rörande *Phoma betae* (Oud.) Fr., med särskild hänsyn till en av svampen orsakad stjälkkröta på bettröplantor. *Stat. Vaxtskyddsanstalt* (1945), **44** (R.A.M.), **25**, p. 54.
8. BRANDEBURG (E.). — Die Herz- und Trockenfäule der Rüben als Bormangel Erscheinung. *Phytopathol. Zeitschrift*. (1931), **3**.
9. BUCHHOLTZ (W.-F.). — Factors influencing the pathogenicity of *Pythium de Baryanum* on Sugar Beet seedlings. *Phytopathology* (1938), **28**, n° 7, p. 448-475.
10. BURGEVIN (H.), FOËX (E.). — La maladie du cœur de la Betterave en France. *C. R. Acad. Agric. Fr.* (1937), **23**, n° 6, p. 195-197.
11. BUSSE, PETERS, von FABER. — Die Herz- und Trockenfäule der Rüben. *Mitteil. d. Kais. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw.* (1906), **4**, p. 20-21.
12. CAMPBELL (L.). — Black-root of Sugar Beets in the Puget Sound Section of Washington. *Bull. Wash. St. Agric. Exp. Sta.* (1939), **379**, p. 5-14.
13. CAMPBELL (L.). — Fiftieth Annual Report for the fiscal year ended 30th. June 1940. *Bull. Wash. St. Agric. Exp. Sta.* (1940), **394**, 124 p.
14. CANOVA (A.). — Osservazioni sull' « mal del piede » della Barbabietola in Italia. *Ann. Sper. Agr.* (1953), **7**, n° 5, p. 1611-1619.
15. CANOVA (A.), BALDONI (R.). — Prove di disinfezione dei glomeruli di Barbabietola. *Ann. Sper. Agr.* (1953), **7**, n° 2, p. 385-393.
16. COHEN (V.-L.). — The content of fungus spores in the air in Buffalo, New-York. *J. Bact.* (1942), **43**, n° 1, p. 115-116.
17. CORMACK (M.-W.), HARPER (F.-R.). — Root diseases of Sugar Beets in Alberta. *Proc. Canad. Phytopath. Soc.* (1953), **20**, p. 15.
18. DELACROIX, MAUBLANC (A.). — Maladies parasitaires des plantes cultivées (1926), p. 242-245.
19. DUCHARTRE. — Bull. Séances Soc. Imp. et Cent. Agric. (séance du 23 nov. 1864).
20. DURHAM (O.-C.). — Incidence of air-borne fungus spores. II) *Hormodendrum*, *Alternaria* and Rust spores. *J. Allergy*. (1938), **10**, n° 1, p. 40-49.
21. EDSON (H.-A.). — Seedling diseases of Sugar Beets and their relation to root-rot and crown-rot. *Jour. Agr. Res.* (1915), **4**, p. 135-168.
22. EDSON (H.-A.). — Histological relations of Sugar Beet seedling and *Phoma betae*. *Jour. Agr. Res.* (1915), **5**, n° 1, p. 55-57.
23. ERNOULD (L.). — Les maladies et les ennemis de la betterave en Belgique en 1947. *Publ. Inst. Belge Amélior. Betterave* (1948), **16**, n° 2, p. 61-68.

24. FOËX (E.). — Maladie du cœur de la Betterave. *Journ. d'Agric. Prat.* (1934) **98**, n° 26, p. 518-520.
25. FOËX (E.), BURGEVIN (H.). — Observations sur la maladie du cœur de la Betterave. *C. R. Acad. Agric. Fr.* (1934), **20**, n° 29, p. 978-982.
26. FOURMONT (P.). — De l'utilisation du formol pour la désinfection des semences de Betteraves. *C. R. Acad. Agric. Fr.* (1937), **23**, n° 31, p. 981-984.
27. FOURMONT (P.). — Etude sur la désinfection des semences de Betteraves par le formol. *Ann. Epiphyt.* (1938), **4**, n° 1, p. 1-19.
28. FRANK (A.-B.). — Ueber *Phoma Betae*, einen neuen parasitischen Pilz, welcher die Zuckerrüben zerstört. *Ztschr. Ver. Rübenz. Indus. Deut. Reichs.* (1892), **42**, p. 904-916.
29. FRANK (A.-B.). — *Phoma Betae*, ein neuer Rübenpilz. *Zeitschrift. f. Pflanzenkrankh.* (1893), **3**, p. 90.
30. FRANK (A.-B.). — Zur Bekämpfung von *Phoma Betae*. *Ztschr. Ver. Rübenz. Indus. Deut. Reichs.* (1894), **44**, p. 158-169.
31. FRANK (A.-B.). — Neue Untersuchungen über *Phoma Betae*. *Ztschr. Ver. Rübenz. Indus. Deut. Reichs.* (1895), **45**, p. 157-188, 271-293.
32. FRANK (A.-B.). — Bericht über Versuche zur Bekämpfung der Heiz- und Trockenfäule der Zuckerrüben im Jahre 1896. *Ztschr. Ver. Rübenz. Indus. Deut. Reichs.* (1896), **46**, p. 901-928.
33. FRON (G.). — Observations sur l'influence de la pluviosité sur le développement de la maladie du cœur de la Betterave. *C. R. Acad. Agric. Fr.* (1934), **20**, n° 27, p. 883-888.
34. GASKILL (J.-O.). — Progress report on the effects of nutrition, bruising, and washing upon rotting of stored Sugar Beets. *Proc. Amer. Soc. Sug. Beet Technol.* (1950), p. 680-685. (*R.A.M.*, **30**, p. 596).
35. GASKILL (J.-O.). — Effects of wilting, drought, and temperature upon rotting of Sugar Beets during storage. *Ibid.*, p. 653-659. (*R.A.M.*, **30**, p. 596).
36. GASKILL (J.-O.). — Possibilities for improving storage-rot resistance of Sugar Beets through breeding. *Ibid.*, p. 665-669. (*R.A.M.*, **30**, p. 596).
37. GASKILL (J.-O.). — A study of two methods of testing individual Sugar Beets roots for resistance to storage pathogens. *Proc. Amer. Soc. Sug. Beet Technol.* (1952), p. 575-580.
38. GASKILL (J.-O.). — Progress report on breeding for storage-rot resistance in Sugar Beets. *Proc. Amer. Soc. Sug. Beet Technol.* (1952), p. 396-399.
39. GATES (L.-F.), HULL (R.). — Experiments on black-leg disease of Sugar-Beet seedlings. *Ann. Appl. Biol.* (1954), **41**, n° 4, p. 451-461.
40. GESCHWIND. — Le goître de la Betterave. *La Sucrerie Indigène et Coloniale* (1905), p. 207.
41. GRAM (E.). — Afsvampingsundergelser. V) Runkeløg Sukkerroefr. *Tidsskr. Planteavl.* (1937), **42**, n° 2, p. 250-284. (*R.A.M.*, **17**, p. 89).
42. GRIFFON (E.), MAUBLANC (A.). — Observations sur quelques maladies de la betterave. *Bull. Soc. Myc. Fr.* (1909), **25**, p. 98-107.
43. GRIFFON (E.), MAUBLANC (A.). — Nouvelles recherches sur la pourriture du cœur de la betterave. *Bull. Soc. Myc. Fr.* (1910), **26**, p. 126-131.
44. GUILLEMAT (J.), MONTEGUT (J.). — Contribution à l'étude de la microflore fongique des sols cultivés. *Annales des Epiphyties* (1956), n° 3, p. 471-540.
45. HENDOCK (G.-C.). — Proof of the identity of *Phoma* and *Phyllosticta* on the sugar-beet. *J. Mycol.* (1904), **10**, n° 69, p. 2-3.
46. HERBERG (B.-C.), RAUSEY (G.-B.). — *Phoma* rot of Garden Beets. *Phytopathology* (1948), **38**, p. 343-347.
47. HIRSCH (H.). — Enkele op merkingen over het hartrot van de Suikerbiet. *Tijdschr. Plziekt.* (1937), **43**, n° 5, p. 115-120. (*R.A.M.*, **16**, p. 790).
48. HODGES (F.-A.). — Fungi of Sugar Beets. *Phytopathology* (1936), **26**, p. 550-563.

49. HUGHES (W.). — Investigations on the control of seedling diseases of sugar beet. *The Sc. Proc. R. Dublin Soc.* (1935), **21**, n° 22.
50. JIROMSKAYA (E.-N.). — Indust. Sucr. Scient. Notes Kiev (1934), **37-38**, n° 11-12, p. 199-206. (*R.A.M.*, **14**, p. 281).
51. JORRITSMA (J.). — Enkele actuele vraagstukken in de Suikerbietenteelt Landbowk. *Tijdschr.* (Wageningen) (1951), **63**, n° 9, p. 594-602. (*R.A.M.*, **31**, p. 266).
52. KAY (R.-Mac). — Some observations on plant diseases in Ireland in 1947. *J. Dep. Agric. Eire* (1948), **45**, p. 45-50. (*R.A.M.*, **28**, p. 619).
53. KAY (R.-Mac). — Sugar Beet diseases in Ireland (1952). Dublin, 77 p. (*R.A.M.*, **32**, p. 54).
54. Kort Verslag van het Rijksproefstation voor Zaadconrôle te Wageningen. (tijdvak 1 juni 1935-1 juni 1936), 20 pp. (*R.A.M.*, **16**, p. 438).
55. KRÜGER (F.). — *Phoma Betae* (Frank), als einer der Erreger von Wurzelbrand der Rübenpflanze. *Ztschr. Ver. Rübens. Indus. Deut. Reichs.* (1893), **43**, p. 730-743.
56. KRÜGER (F.). — Weitere Untersuchungen über die neue Krankheit der Zuckerrübe verursacht durch *Phoma Betae* (Frank). *Ztschr. Ver. Rübens. Indus. Deut. Reichs.* (1893), **43**, p. 90-111.
57. LARMER (F.-G.). — Keeping quality of Sugar Beets as influenced by growth and nutritional factors. *Jour. Agr. Res.* (1937), **54**, n° 3, p. 185-198.
58. LEACH (L.-D.). — Seed-borne *Phoma* and its relation to the origine of Sugar Beet seed lots. *Proc. Amer. Soc. Sug. Beet Technol.* (1946), p. 381-388. (*R.A.M.*, **27**, p. 3).
59. LEACH (L.-D.). — Growth rates of host and pathogens as factors determining the severity of preemergence damping-off. *Jour. Agr. Res.* (1947), **75**, n° 5-6, p. 161-179.
60. LE CLERG (E.-L.). — Treatment of Sugar Beet seed increases stand and yield. *Circ. Minn. Coll. Agric. Ext.* (1937), **57**, 7 pp. (*R.A.M.*, **17**, p. 153).
61. MARTIN (W.-H.). — Plant pathology New Jersey Agric. Exper. Stat. for the 2-year period ending June 30. (1933), p. 57-66. (*R.A.M.*, **14**, p. 150).
62. MAXSON (A.-C.). — Root-rots of the Sugar Beet. *Proc. Amer. Soc. Sugar Beet Technol.* (1938), p. 60-66. (*R.A.M.*, **18**, p. 76).
63. MESSIAEN (M.). — Une curieuse association entre un champignon et un acarien. *Rev. de Zool. Agric. et Appl.* (1954), n° 10-12.
64. MORRIS (H.-E.), AFANASIEV (M.-M.). — The effects of preceding crops and nutrients on the growth and seedling diseases of Sugar Beets in Montana. *Proc. Amer. Soc. Sug. Beet Tech.* (1952), p. 568-570. (*R.A.M.*, **33**, p. 198).
65. NELSON (R.-T.), OLDEMEYER (R.-K.). — Preliminary studies applicable to selection for low respiration and resistance to storage rots of Sugar Beets. *Proc. Amer. Soc. Sug. Beet Tech.* (1952) p. 400-406. (*R.A.M.*, **33**, p. 198).
66. NEUWEILER (E.). — Pflanzenschutz. Bericht über die Tätigkeit der Eidg. Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon für die Jahre 1938 bis 1942. *Annu. Agric. Suisse* (1944), **45**, p. 404-414. (*R.A.M.*, **25**, p. 26).
67. NEUWIRTH (F.). — *Ochraza Rosilin* (1933), **13**, n° 3-4, p. 115-135 (*R.A.M.*, **13**, p. 417).
68. NEWTON (W.), BOSHER (J.-E.). — Longevity of *Phoma betae* in Garden Beet seed. *Sci. Agric. Canada* (1946), **26**, p. 305-306.
69. OUDEMANS (C.-A.-J.-A.). — Aanwinsten voor de flora mycologica van Nederland van juli 1875 to juli 1876. *Nederl. Kruidk. Arch.* (1877) S. 2, DEEL 2, stuk 3, p. 176-188. (VIENNOT-BOURGIN, Les Champignons parasites des plantes cultivées, p. 573).
70. PENDLETON (R.-A.), FINNELL (H.-E.), REIMER (F.-C.). — Sugar Beet seed production in Oregon. *Bull. Oreg. Agric. Exp. Sta* (1946), **437**, 23 pp. (*R.A.M.*, **26**, p. 434).

71. PETERS (L.). — Über die Erreger des Wurzelbrandes. *Arb. K. Biol. Ans. Land.-u. Forstw.* (1911), **8**, n° 2, p. 211-259.
72. PETHERBRIDGE (F.-R.), STIRRUP (H.-H.). — Pests and diseases of the Sugar Beet. *Bull. Minist. Agric. Londres* (1935), **93**, 58 pp.
73. Plant diseases and Insect pests. Notes by the Biological Branch. *J. Dep. Agric. Vict.* (1943), **41**, n° 8-9, p. 413-417 et 463-468. (*R.A.M.*, **23**, p. 55).
74. PLOTHO (O. von). — Die Pilzflora der Rübenknäule. *Zucker* (1953), **6**, n° 12, p. 291-297.
75. PLUCHET. — *Bull. Séances Soc. Imp. et Centr. Agric.* (23 nov. 1864), p. 348.
76. POOL (V.-W.), KAY (M.-B. Mac). — *Phoma betae* on the leaves of the Sugar Beet. *Jour. Agr. Res.* (1915), **4**, n° 2, p. 169-177.
77. PORTER (R.-H.), RICE (W.-N.). — Laboratory and field germination of treated and untreated Beet seed. *Proc. Ass. Off. Seed. Anal. N. Amer.*, 1939 (1940), p. 127-130 (*R.A.M.*, **19**, p. 636).
78. PRILLIEUX (E.-E.). — La pourriture du cœur de la betterave. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* (1891), **7**, p. 15-19.
79. PRILLIEUX (E.-E.), DELACROIX (G.). — Complément à l'étude de la maladie du cœur de la betterave. *Bull. Soc. Myc. Fr.* (1891), **7**, p. 23-25.
80. ROLAND (G.). — Contribution à l'étude des maladies des taches noires de la betterave. *Publ. Inst. Belge Amélior. Bettr.* (1939), **7**, n° 3, p. 171-178.
81. ROLAND (G.). — Essais de désinfection des graines de betteraves effectués en 1938. *Publ. Inst. Belge Amélior. Bettr.* (1939), **7**, n° 5, p. 543-547.
82. ROUBAIX (J. de). — Culture de la betterave sucrière en milieu artificiel. *La Sucrerie Belge* (1946), n° 14-15, p. 187-200.
83. RUHLAND, ALBRECHT. — Untersuchungen über die Ursachen der Herz- und Trockenfäule der Rüben. *Mittel. Kais. Biol. Anst. f. Land- und Forstw.* (1910), **10**, p. 16.
84. SCHMIDT (E.-W.). — Ueber den Wurzelbrand der Rüben. Eine kritische Betrachtung. *Deutsche Zuckerind.* (1934), **59**, n° 26, p. 520-521.
85. SCHMIDT (E.-W.). — Der Wurzelbranderreger *Phoma betae* als Blattfleckpilz der Rübe. *Deutsche Zuckerind.* (1937), **62**, n° 44, p. 988-989. (*R.A.M.*, **17**, p. 20).
86. SHEMYAKIN (P.-N.). — Sélection pour accroître la résistance de la betterave à sucre vis-à-vis des agents habituels des pourritures en stockage (en russe). *Indus. Sucr. Moscou* (1953), **4**, p. 39-42. (*R.A.M.*, **33**, p. 7).
87. STRAHOV (T.-D.). — *Microbiol. Moscou* (1952), **21**, n° 6, p. 705-710; (1953), **22**, n° 2, p. 185-193. (*R.A.M.*, **34**, p. 144).
88. TOMPKINS (C.-M.), NUCKOLS (S.-B.). — Development of storage diseases in Sugar Beets resulting from hook injury. *Phytopathology* (1928), **18**, p. 939-941.
89. TOMPKINS (C.-M.), NUCKOLS (S.-B.). — The relation of type of topping to storage losses in Sugar Beets. *Phytopathology* (1930), **20**, p. 621-635.
90. TOMPKINS (C.-M.), PACK (D.-A.). — Effect of temperature on rate of decay of Sugar Beets by strains of *Phoma betae*. *Jour. Agr. Res.* (1932), **44**, n° 1, p. 29-37.
91. TVERSKOI (D.-L.). — Une expérience de stérilisation des semences de betteraves à sucre contre le black-leg. *Agrobiologija Moscou* (1954), **6**, p. 91-96. (*R.A.M.*, **34**, p. 763).
92. VERPLANCKE (G.). — Etude comparative de glomérules de betteraves. *La Sucrerie Belge* (1934), **53**, n° 19-20, p. 361-377 et 385-392.
93. VOGÜE (de). — *Bull. Soc. Imp. et Centr. Agric. Fr.* (1863-1864), **19**, p. 24-27.
94. WARCUP (J.-H.). — On the origine of colonies of Fungi developing on soil dilution plates. *Trans. Brit. Mycol. Soc* (1955), **38**, n° 3, p. 298-301.

95. WHORTER (F.-P. Mac), MILLER (P.-W.). — The application of vapour heat as a practical means of disinfecting seeds. *Phytopathology* (1944), **34**, n° 10, p. 935-936. (*R.A.M.*, **24**, p. 157).
  96. YAKOVLEVA (U.-V.). — L'influence du bore sur les changements biochimiques dans les racines et les feuilles de la betterave à sucre. *Chem. Zentr.* (1948), **2**, p. 103F (*C.A.*, **45**, 809F).
  97. ZHUKOVA (K.-P.). — Effets de l'acidité et de l'humidité du sol sur l'infection des plantules de betterave par les agents du root-rot (*Pythium de baryanum* Hesse et *Phoma betae* Frank). *Proc. Lenin Acad. Agric. Sci.* (1951), **16**, n° 5, p. 34-38. (*R.A.M.*, **32**, p. 4).
  98. DOGUET (G.). — Recherches sur la conservation des souches de champignons en culture sur milieu nutritif gélosé. *Bull. Tri. Soc. Myc. Fr.* (1955), **71**, n° 2, p. 135-146.
  99. TULASNE. — *Bull. Soc. Imp. et Centr. Agric. Fr.* (1863-1864), **19**, p. 47-48.
  100. PAYEN. — *Bull. Soc. Imp. et Centr. Agric. Fr.* (1863-1864), **19**.
-

## DE LA CHROMATOGRAPHIE DU CUIVRE SUR PAPIER\*

PAR

J. TAVERNIER et S. BESSON

---

On a pu définir la chromatographie comme « une technique analytique pour la séparation de substances en solution dans laquelle il y a sous l'influence du mouvement d'un solvant, migration différentielle dans un milieu poreux ».

Dans la chromatographie sur papier le milieu poreux est constitué simplement par une feuille de papier filtre qui sert de support au déplacement du solvant.

On peut s'émerveiller devant la simplicité de cette technique. Il suffit de déposer une goutte de la solution à traiter au voisinage du bord d'une feuille de papier filtre dont l'extrémité baigne dans le solvant utilisé. Le tout est réalisé dans une enceinte close où l'atmosphère est saturée par le solvant. celui-ci chemine le long du papier, entraînant avec lui le ou les constituants de la solution à étudier. Chaque substance, pour un même solvant, se déplace avec une vitesse propre, si bien qu'après une durée de développement suffisant, les différents constituants de la solution peuvent être mis en évidence sous forme de taches ou spots à des distances variables du point de départ. On appelle  $R_f$  (initiales de Rowing Flow) le rapport du trajet parcouru par la substance entraînée au trajet du solvant. Par conséquent le  $R_f$  dans des conditions bien définies est une nouvelle constante physique comme le point de fusion ou d'ébullition. Il s'établit pour chaque substance un équilibre entre sa solubilité dans le solvant (phase mobile) et sa solubilité dans l'eau imprégnant le papier (phase fixe).

\* Note présentée à la séance du 14 mars 1957.

Cette technique fut imaginée par MARTIN et SYNGE (1) pour étudier des hydrolysats de protéines, donc des mélanges d'acides aminés; ce qui leur a valu un Prix Nobel de Chimie il y a quelques années.

La méthode a été étendue à de nombreuses *substances organiques* (sucres, alcaloïdes, hormones) et s'étend chaque jour davantage.

Elle a été préconisée également pour l'analyse des *solutions minérales*.

Dans le cas des ions minéraux, la chromatographie sur papier traduit un phénomène plus compliqué que la chromatographie des substances organiques, il s'y ajoute des réactions d'adsorption, des échanges d'ions. Aussi la chromatographie des ions minéraux est-elle moins bien connue que celle des éléments organiques.

Au cours de travaux que nous poursuivons sur le comportement du cuivre en milieu biologique, nous avons été amenés à utiliser cette méthode de séparation.

Les recherches concernant la chromatographie du Cu ont débuté en 1948. Dans la première publication (2) comme dans la plupart des travaux ultérieurs, le développement chromatographique est réalisé au moyen de *solvants organiques acides* (3); car la migration des métaux est meilleure à des pH acides. Nous avons dû laisser de côté les solvants acides qui risquaient de décomposer les combinaisons du cuivre avec des substances biologiques, en particulier les protéines.

Il est heureusement possible de réaliser la chromatographie du cuivre à des pH voisins de la neutralité. Dans cet ordre d'idées quelques solvants ont été préconisés:

- la butanone (4) (5);
- le dioxane (6);
- la pyridine pure (7);
- des mélanges = pyridine + eau (8).

Nous ne décrivons ici que nos essais basés sur l'emploi de la pyridine. La *pyridine* présente l'avantage de former avec le cuivre un *complexe* dont le déplacement est plus aisé que celui de l'ion cuivre libre:  $\text{Cu}^{++}$ . L'importance de ces complexes est telle qu'on ajoute désormais aux solvants or-

ganiques des substances susceptibles de former des complexes avec le cuivre.

POLLARD et coll. (8) utilisent par exemple: la benzoyl-acé-  
tone dans le mélange butanol-acide nitrique.

ELBEIH et coll. (9) étudient plusieurs agents complexants  
dont la 8-hydroxyquinoléine.

PICKERING préconise le cyanure de potassium en solution  
alcoolique (10) et un agent chélatant l'éthylène-diamine-tétra-  
acétate de sodium (11).

Les auteurs auxquels nous nous sommes référés, s'ils don-  
nent le Rf du cuivre chromatographié par un mélange de  
pyridine et d'eau, ne précisent pas les conditions opératoires  
que nous avons dû définir nous-mêmes; et l'objet de cette  
communication est de préciser:

- le rôle de l'anion salifiant le cuivre;
- la composition du solvant;
- le choix du papier;
- la durée de développement.

De plus, au cours de cette expérimentation, nous avons  
mis en évidence le rôle que peuvent jouer les sels alcalins  
présents dans la solution cuivrique soumise à la chromato-  
graphie.

#### *Solutions cuivriques utilisées*

Nos recherches sont menées sur le sulfate, le chlorure, et  
le nitrate cuivriques. R.P. à l'aide de pyridine fraîchement  
redistillée.

*Rôle de l'anion salifiant le cuivre.* — Nous avons réalisé  
des chromatogrammes, dans des conditions identiques, de  
chlorure, nitrate et sulfate de cuivre. On constate que la  
migration est la meilleure pour le nitrate et le chlorure, la  
plus faible pour le sulfate, qui ne permet pas d'obtenir de  
beaux spots.

*Influence des sels minéraux.* — Nous menions nos essais  
concurrément à l'aide de deux solutions de sulfate de cui-  
vre, la première dans l'eau bidistillée, la seconde dans l'eau  
salée à 8,5 p. 1 000 en ClNa.

Nous avons constaté une très grande différence de comportement entre ces deux solutions de cuivre chromatographiées au moyen de pyridine pure et du mélange pyridine et eau.

En présence de  $ClNa$  le cuivre est facilement entraîné sous forme d'un spot net dans le cas du mélange pyridine et eau, d'une longue traînée dans le cas de la pyridine pure.

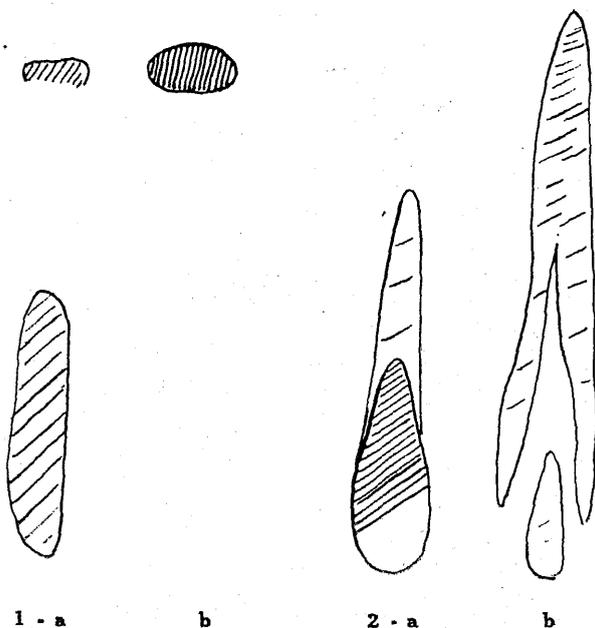


FIG. 1.

Influence du  $ClNa$  sur la chromatographie de  $SO_4Cu$

- 1: Pyridine-Eau 60/40
  - a — sans  $ClNa$
  - b — en présence de  $ClNa$
- 2: Pyridine
  - a — sans  $ClNa$
  - b — en présence de  $ClNa$

En solution dans l'eau bidistillée l'entraînement demeure incomplet; absence de spots bien définis avec  $R_f$  élevé dans le cas du mélange pyridine-eau; de même avec la pyridine pure, on assiste à un déplacement partiel et extrêmement lent, la plus grande partie du cuivre ne quitte même pas la tache de dépôt (fig. 1).

Pour préciser l'importance de  $\text{ClNa}$ , nous avons pratiqué des essais avec les solutions de sulfate, chlorure et nitrate de cuivre additionnées de quantités de chlorure de sodium variant entre 0,5 et 8 0/00. La surface du spot diminue lorsque la concentration en  $\text{ClNa}$  augmente, simultanément la régularité et l'intensité de la coloration augmentent.

Pour la solution de nitrate de cuivre, la concentration en  $\text{ClNa}$  4 0/00 suffit pour obtenir de beaux spots. Quant aux

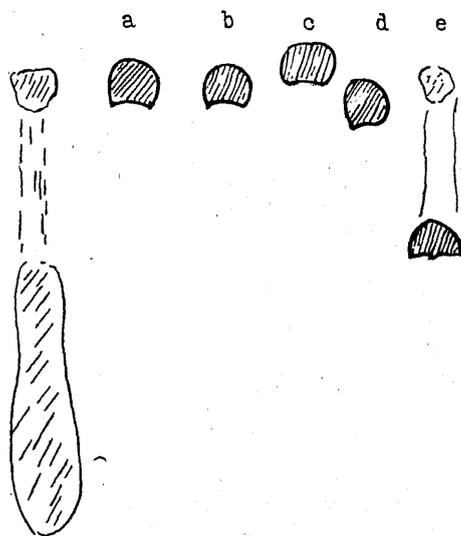


FIG. 2.

Influence des sels minéraux sur la chromatographie de  $\text{SO}_4\text{Cu}$

a:  $\text{ClNa}$  b:  $\text{ClK}$  c:  $\text{BrK}$  d:  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$  e:  $\text{SO}_4\text{Na}_2$

solutions de chlorure et sulfate de cuivre, il faut dépasser ce taux de chlorure de sodium. La concentration en  $\text{ClNa}$  de 8 0/00 est largement suffisante.

Cette action du  $\text{ClNa}$  n'a d'ailleurs aucun caractère spécifique; nous avons obtenu la même amélioration des chromatogrammes en additionnant nos solutions de cuivre de  $\text{ClK}$ ,  $\text{BrK}$ ,  $\text{CH}_3\text{-COO Na}$ . Par contre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  paraît être beaucoup moins favorable (fig. 2). A la suite de ces essais nous avons utilisé les sels de cuivre dans l'eau salée.

### *Choix du solvant*

La pyridine pure donne une tache étalée sur plusieurs cm depuis le trait de départ jusqu'au voisinage du front du solvant. Ce déplacement ne répond pas à ce qu'on peut demander à la chromatographie. Il est en effet impossible de calculer le Rf du spot ainsi obtenu et de le différencier éventuellement d'autres substances.

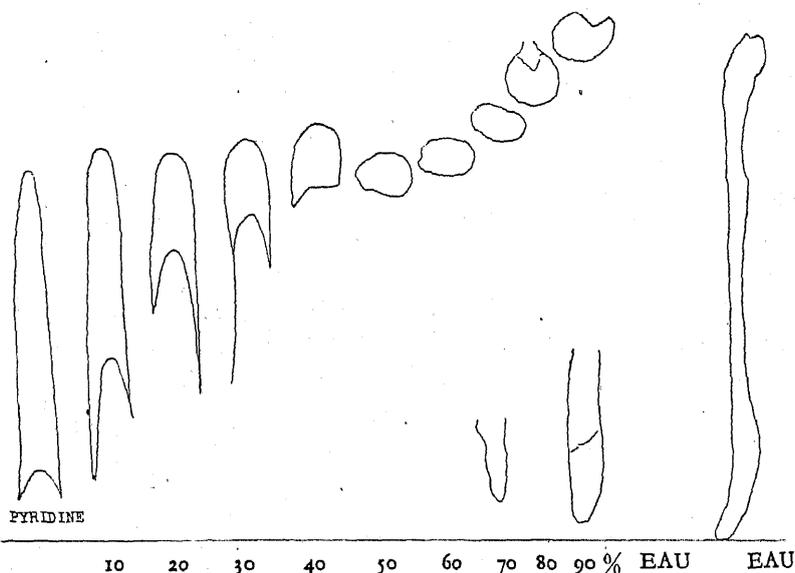


FIG. 3.  
Influence du pourcentage d'eau dans le mélange Pyridine-Eau  
sur la chromatographie de  $\text{SO}_4\text{Cu}$ .

Nous nous sommes alors livrés à une étude systématique de plusieurs solvants en réalisant des chromatographies de sulfate de cuivre en solution dans l'eau saluée à 80/00 au moyen de différents mélanges pyridine-eau (fig. 3).

Le résultat est le suivant :

A mesure que la proportion d'eau dans la pyridine augmente, la surface du spot diminue. La tache perd la forme en flamme de bougie que l'on obtient par l'emploi de la pyridine pure et prend progressivement une forme sensiblement circulaire.

L'amélioration de la chromatographie ainsi réalisée est très marquée lorsque le pourcentage d'eau passe de 0 à 50 %.

Entre 50 et 70 % d'eau les chromatogrammes demeurent très satisfaisants et se prêtent fort bien à la mesure du Rf.

Ensuite lorsque le pourcentage d'eau dépasse 70 % on assiste à une nouvelle altération du spot, qui perd sa forme circulaire, dont la surface augmente tandis qu'une partie du cuivre demeure au voisinage du lieu de dépôt sous forme d'une traînée assez allongée.

Nous avons donc choisi comme solvant un mélange à volumes égaux de pyridine et d'eau.

#### *Choix du papier*

La plupart des auteurs que nous avons consultés utilisent le papier Whatman n° 1.

L'expérience nous a fait choisir le papier Whatman n° 3 pour les plus beaux spots qu'il nous a permis d'obtenir

C'est d'ailleurs la qualité du papier recommandée par le fabricant pour la chromatographie des substances minérales.

#### *Durée de développement*

Le cheminement du cuivre est perceptible immédiatement mais une bonne chromatographie demande un développement de plusieurs heures. Nous avons adopté une durée de 12 à 14 H.

Il n'y a aucun intérêt à dépasser ce temps: la montée du solvant s'effectue d'ailleurs de plus en plus lentement.

Après 24 H le spot perd de sa netteté.

#### *Mode opératoire préconisé*

La chromatographie ascendante du sulfate de cuivre en solution dans ClNa à 8,5 g 0/00 (quoiqu'un excès de ClNa ne semble pas gênant) est réalisée sur papier Whatman n° 3. Les feuilles de papier mesurant environ 40 cm de haut sont maintenues plusieurs heures dans une atmosphère saturée de vapeur par le solvant (pyridine et eau à volumes égaux). Puis on dispose à 3 cm du bord de la feuille les solutions à analyser sous forme de taches d'environ 6 à 7 mm de diamètre ce qui représente 5 à 7 mm<sup>3</sup> de solution. On laisse

alors baigner l'extrémité inférieure de la feuille dans le solvant. Le développement est poursuivi pendant 12 à 14 H. La feuille est alors enlevée de la cuve, mise à sécher à l'air libre puis à l'étuve.

Les spots sont enfin révélés par pulvérisation d'une solution d'acide rubéanique (dithioamide) à 0,5 0/00 dans l'acétone.

Le cuivre se présente sous forme de taches vert-olive, dont le Rf est égal à 0,85.

#### *Sensibilité de la méthode*

La révélation à l'acide rubéanique met encore en évidence avec beaucoup de netteté le spot réalisé avec un solution à 0,01 g en Cu p. 1 000. La quantité de cuivre déposée au départ était donc égale à 0,05  $\mu$ g. La sensibilité pourrait sans doute descendre à un taux inférieur.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. MARTIN et SYNGE. — *Biochem. J.*, 1941, **35**, 91 et 1358.
  2. ARDEN (T.-V.), BORSTALL (F.-H.), DAVIES (G.-R.), LEWIS (J.-A.) et LINS-TEAD (R.-P.). — *Nature*, 1948, **162**, 691.
  3. LEDERER (E.) et LEDERER (M.). — *Chromatography 1953, Elsevier publishing Company*, p. 322.
  4. LACOURT (A.), SOMMEREYNS (C.) et WANTIER (C.). — *C.R.*, 1951, **232**, 2426.
  5. LACOURT, SOMMEREYNS (G.), JACQUET (O.) et WANTIER (G.). — *Bull. Soc. Chim. France*, 1951, 873.
  6. ERDEM (B.), PRISS (B.) et ERLLENMEYER (H.). — *Helv. chim. acta*, 1955, 267.
  7. LASKOWSKI (D.-E.) et Mc CRONE (W.-C.). — *Anal. Chem.*, 1951, **23**, 1579.
  8. POLLARD (F.-H.), Mc OMIE (J.-F.-W.) et ELBEIH (I.-I.-M.). *J. Chem. Soc.*, 1951, 466.
  9. ELBEIH (I.-I.-M.), Mc OMIE (F.-J.-W.) et POLLARD (F.-H.). — *Disc. Far. Soc.*, 1949, **7**, 183.
  10. PICKERING (W.). — *Anal. Chim. Acta*, 1953, **8**, 344.
  11. PICKERING (W.) et JACOBS. — *Anal. Chim. Acta*, 1955, **12**, 436.
-

## BIBLIOGRAPHIE

---

Notre collègue, le Dr VILLEMIN, vétérinaire, vient de publier chez Vigot Frères, éditeurs à Paris, un volume intitulé « *Le vison, biologie, élevage, pathologie* ». Ce volume qui compte 328 pages est une véritable encyclopédie de cet intéressant animal à fourrure. Il constitue le tome premier de la Collection des Animaux à Fourrure que notre collègue dirige dans cette maison d'édition.

L'ouvrage est divisé en trois parties. La première, Biologie du Vison, donne une vue d'ensemble, du point de vue du zoologiste, sur l'aire géographique d'origine, l'anatomie, la physiologie et même la psychologie de *Mustela lutreola*.

La seconde partie, qui s'adresse plus spécialement à l'éleveur, indique avec beaucoup de détails, l'organisation et le fonctionnement d'un élevage. Alimentation et reproduction sont particulièrement étudiés.

La troisième partie (Pathologie) a été surtout écrite pour les vétérinaires. Mais les éleveurs qui doivent pouvoir collaborer avec l'homme de l'art, ont avantage à être documentés au maximum, pour comprendre et appliquer au mieux ses prescriptions.

Les fourreurs et les pelletiers enfin, prendront intérêt aux pages qui traitent, illustrées de planches microphotographiques, du poil du vison comparativement à celui de plusieurs autres Mustelidés, ainsi qu'au chapitre intitulé « Pathologie de la fourrure », car les affections qui retentissent, du vivant de l'animal, sur sa robe, ne sont pas sans incidence sur la présentation de la peau, même apprêtée.

Il est annoncé un second volume dans la Collection des A. à F. « *Généralité des A. à F.* », pour lequel notre collègue s'est acquis la collaboration de Mlle Andrée TETRY.

D'ores et déjà, il faut féliciter le Dr VILLEMIN de son œuvre zootechnique remarquable, qui est la première en langue française sur un animal à fourrure et qui contribuera à l'essor futur de la production autochtone de peaux de valeur.

L'ouvrage et la série annoncée combleront une lacune certaine dans un domaine habituellement négligé pourtant si captivant.

---