

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DU DÉVELOPPEMENT DU THALLE DU *TRACHYSPHAERA* *FRUCTIGENA* TAB. ET BUNT.

par M. M. GOUJON.

RÉSUMÉ

La reproduction asexuée du T. fructigena est assurée par des diaspores sphériques dont la germination est filamenteuse et que nous assimilons à des sporanges qui ne différencieraient pas de spores. Ces diaspores sont sujettes à une dormance qui peut être levée par les jus de fruits, les gaz émis par les fruits, l'éthylène ou un refroidissement temporaire. Les filaments issus de leur germination constituent un thalle qui présente une série de différenciations tant physiologiques que morphologiques avant d'atteindre le stade adulte. Ces états successifs sont peut être le fait d'une adaptation du champignon à son habitat naturel.

INTRODUCTION

Le *Trachysphaera fructigena* est un parasite de fruits dont l'importance est réduite au cours des années normales mais qui peut présenter un certain pouvoir pathogène quand l'humidité est excessive. En 1927 et en 1933, des pluies exceptionnellement abondantes lui ont permis de causer des dégâts importants dans les cacaoyères d'Afrique Occidentale (ROGER, [36]) et, au Cameroun, où il s'avère capable d'infecter les fleurs de bananier au moment de l'ouverture des mains, il est responsable tous les ans de dommages limités, mais non négligeables (MULLER [33]). L'importance économique de ce champignon et le fait que peu de travaux lui ont été consacrés nous ont amenés à entreprendre les recherches que nous exposons dans ce mémoire.

Le premier chapitre est consacré à la description de la structure du thalle du champignon et à l'analyse de ses relations avec ses hôtes. Une étude précise de ce dernier point présente de nombreuses difficultés qui limitent l'étendue et la valeur des observations effectuées. En effet : d'une part, les phases morphologiques de la germination du parasite sont difficilement visibles sur les

hôtes et l'intervention des facteurs physiques et chimiques du milieu ne peut être étudiée que globalement ; d'autre part, après la pénétration, la croissance du mycélium ne peut plus être suivie que par dissection. Les informations fragmentaires que nous avons obtenues dans ces conditions demandaient donc à être complétées et vérifiées par l'étude du champignon en culture pure qui permet l'emploi de techniques fines comme la microchirurgie et la microcinématographie. Au cours des recherches que nous avons effectuées sur le parasite séparé de son hôte, nous avons mis en évidence un phénomène de dormance des sporanges qui fait l'objet du deuxième chapitre. Le problème de la levée de cette dormance une fois résolu, il devenait possible d'étudier les étapes de la germination (chapitre III) et les modalités de la croissance du thalle (chapitre IV). Enfin une synthèse des résultats acquis tant en ce qui concerne le développement *in vitro* du parasite qu'en ce qui concerne son comportement sur ses hôtes est tentée dans un dernier chapitre.

I. — *Le TRACHYSPHAERA FRUCTIGENA* TABOR ET BUNTING

A. — ÉTUDE DESCRIPTIVE

Le *Trachysphaera fructigena* est un Siphomycète généralement classé dans l'ordre des Péronosporales (TABOR et BUNTING [43] ; MIDDLETON [32] ; ROGER [37] ; VIENNOT-BOURGIN [48]), responsable de la pourriture farineuse ou *pod rot* des cabosses du cacaoyer et des cerises du caféier. Il a été de plus rencontré sur avocat au Ghana : ROGER [37] et BRUN et MERNY [5] ont montré qu'il était l'agent d'une pourriture sèche des bananes importées du Cameroun. Enfin TURNER et LOVI [45] l'ont mis en évidence sur des fruits de *Mimusops*.

Au cours de nos recherches, nous avons utilisé trois souches isolées à partir de cabosses récoltées en différents points de la Côte d'Ivoire, une souche issue de bananes en provenance du Cameroun et une souche issue de cabosse, entretenue depuis longtemps en culture au laboratoire de Phytopathologie de l'I.R.A.T. à Nogent-sur-Marne.

Ces isoléments ont été conservés par des repiquages mensuels, en Afrique, sur bouillon de papaye gélosé (1) ; en France, sur bouillon de pomme de terre glucosé et gélosé (2).

(1) *Bouillon de papaye gélosé* : décoction dans l'eau de 300 g de papayes vertes, filtrée après trente minutes d'ébullition, complétée à 1000 cc avec de l'eau et solidifiée par 20 g d'agar.

(2) *Bouillon de pomme de terre glucosé et gélosé* : décoction, dans l'eau, de 300 g de pomme de terre, filtrée après trente minutes, complétée à 1000 cc avec de l'eau, enrichie de 15 g de glucose et solidifiée par 20 g d'agar.

Nous n'avons constaté que très peu de différences entre ces souches tant en ce qui concerne la morphologie et la biométrie qu'en ce qui concerne la biologie. En effet : d'une part, malgré des origines et des âges dissemblables, leur aspect est identique sur un même milieu et demeure constant lors des repiquages successifs ; d'autre part, les changements des caractères culturaux induits par certains milieux sont communs aux différents isolats et parfaitement réversibles.

Enfin beaucoup de nos essais ont été réalisés avec la totalité des souches dont nous disposions sans que nous puissions constater de différence dans les résultats. C'est pour ces raisons que nous ne ferons pas mention dans la suite de cette étude des isolats utilisés.

En culture *in vitro*, le *T. fructigena* est caractérisé par un appareil végétatif de couleur blanche constitué d'un mycélium hyalin, essentiellement rampant à la surface du bouillon de papaye gélosé, mais presque totalement immergé dans les milieux contenant un extrait de malt (Maltéa Moser). Sur bouillon de pomme de terre glucosé et gélosé, l'abondance du mycélium intramatriciel varie en fonction inverse de la teneur en glucose. En présence d'extrait de levure ou de peptone, le mycélium âgé acquiert une légère pigmentation beige.

Sur milieu à forte concentration de glucose, le *T. fructigena* présente des renflements mycéliens à paroi épaisse qui s'isolent du reste du thalle par des cloisons. De telles gemmes, déjà décrites par MALLAMAIRE (cité par ROGER [37]) dans les tissus de cabosses, peuvent être intercalaires ou terminales. Dans ce dernier cas, elles affectent très souvent une forme en poire. Sur milieu nutritif, elles germent en émettant un ou plusieurs filaments.

La reproduction sexuée est assurée par la copulation d'un oogone contenant une seule oosphère et d'une anthéridie amphigyne. Elle a été décrite par TABORD et BUNTING [43] dans la diagnose originale et observée par MALLAMAIRE (loc. cit.) dans les tissus de cabosses parasitées. Nous n'avons jamais rencontré d'oogone ni en culture, ni dans les tissus des fruits inoculés avec le *T. fructigena*. Peut-être parce que, comme nous le verrons plus loin, nous avons été amenés à nous éloigner des conditions naturelles d'hygrométrie et de température lors des essais d'infection.

La forme de propagation la plus courante du champignon est constituée par des diaspores sphériques et hyalines dont la membrane porte des échinules de dimensions variables (fig. 1). Très développées sur certaines d'entre elles (plus de 3 μ), ces échinules sont beaucoup plus petites sur d'autres (1 μ). Les milieux très riches en glucose (30%) entraînent une diminution notable de leur taille, voire même leur complète disparition.

Les diaspores sont cénocytiques et contiennent en moyenne une cinquantaine de noyaux.

Elles peuvent se former indifféremment à la surface ou au sein du substrat. Toutefois, elles apparaissent en plus grande quantité à l'air libre. Leur position intra et extra matricielle n'entraîne aucune différence ni dans leur morphologie, ni dans leurs dimensions.

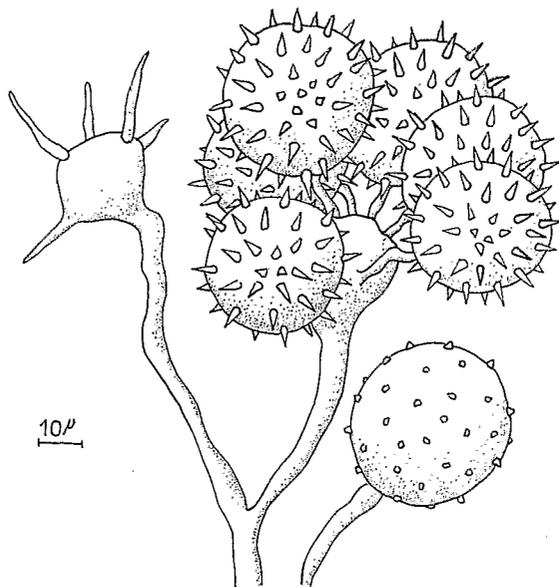


Fig. 1. — Vésicules et sporanges du *T. fructigena* formées sur cabosse de cacaoyer contaminée au laboratoire.

Il n'a été trouvé aucune différence biométrique significative entre les diaspores formées sur bananes, sur cabosses ou sur différents milieux de culture. Le tableau I donne les dimensions moyennes et extrêmes qu'elles présentent sur différents substrats et les résultats obtenus par d'autres auteurs.

Les résultats notablement inférieurs que nous avons obtenus sont sans doute dus au fait que nous avons exclu les ornements de la paroi lors des mesures. Si l'on tient compte des échinules, nos moyennes doivent en effet être majorées de 4 à 6 μ et nos chiffres deviennent comparables à ceux des autres auteurs.

Les diaspores apparaissent très vite sur bouillon de pomme de terre gélosé, les premières sont formées 48 heures environ après le semis. L'extrémité d'un rameau court ou, plus rarement, l'apex

TABLEAU I
Diamètre, en microns, des diaspores du Trachysphaera fructigena

	Diamètre moyen	Ecart type	Diamètre maximum	Diamètre minimum
<i>Substrat</i>				
Banane	29	2,7	36,5	15
Cabosse	31	3,1	40	15
Bouillon de pomme de terre glucosé	31	3,1	41,5	13
Papaye gélosée	30	2,9	36,5	14
<i>Résultats obtenus par</i>				
TABOR et BUNTING (1923) sur Cacao	35		48	13
BRUN et MERNY (1947) sur Banane	38,5		47	24

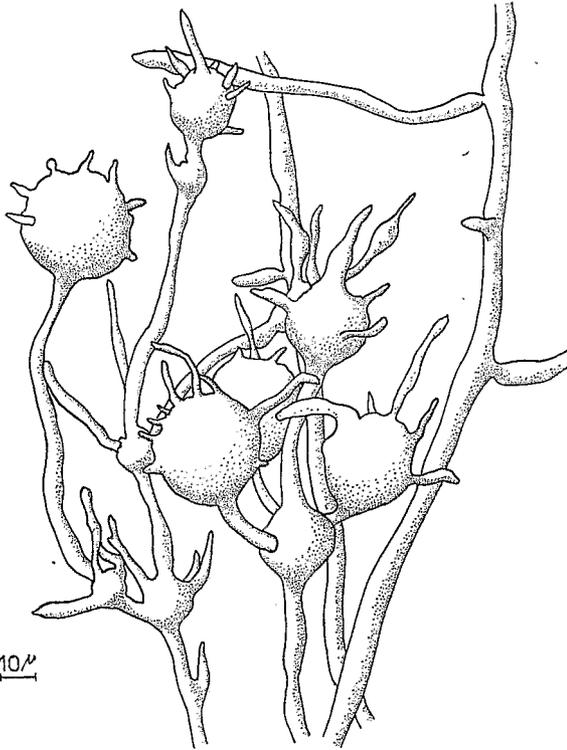


Fig. 2. — Formation en chaîne de vésicules. Ce phénomène est particulièrement fréquent sur les milieux très riches en glucose.

d'un filanmet en croissance s'enfle et constitue une sorte de massue qui va détacher de 3 à 11 hyphes. Ces hyphes à leur tour se gonflent à leur sommet. Celui-ci s'arrondit, se couvre d'apicules et se sépare du reste du thalle par une cloison fermée.

Parfois, cette morphogénèse est simplifiée par la transformation en diaspore du renflement originel. Dans d'autres cas, enfin, se constituent des vésicules en chaîne ; ce phénomène est particulièrement net sur les milieux très enrichis en glucose et semble traduire un avortement des diaspores successivement formées (fig. 2).

De telles variations ne sont pas l'apanage du seul *T. fructigena*. Elles sont fréquentes chez les Mucorales où l'on rencontre souvent des sporanges abortifs porteurs de sporanges fertiles. Chez le *Choanephora cucurbitarum*, par exemple (MOREAU [33]), le renflement sporangial peut évoluer en constituant un sporange mucroïde : mais il peut aussi émettre de courts pédicelles porteurs de sporanges secondaires ; ceux-ci avortent à leur tour et se couvrent de productions caduques, les sporangioles, qui sont des sporanges tertiaires unispores. Tout se passe, en fait, comme chez le *Trachysphaera* : la première vésicule peut assurer la reproduction asexuée mais elle peut aussi être à l'origine de renflements secondaires et tertiaires. Dans le cas du *Choanephora*, les sporanges de troisième ordre sont seuls fertiles, dans celui du *Blakeslea trispora*, ce sont les sporanges de premier et de second ordre, enfin dans celui du *Rhizopus ramosus* on observe toutes les modalités (MOREAU, loc. cit.).

B. — NATURE DES DIASPORES

Ces ressemblances entre le *T. fructigena* et les Mucorales sont assez frappantes pour que soit discuté le problème de la nature exacte de ses diaspores. Nous avons vu que leur mode de formation était analogue à celui du sporange. Cependant certains auteurs les considèrent comme des conidies. Ils invoquent pour cela trois raisons ; ces organes ne différencient jamais de sporangiospores, ils germent en émettant des filaments et ils sont caducs.

La caducité n'appartient pas en propre aux conidies. Chez d'autres Péronosporales telles que les Albuginacées et de nombreuses Péronosporacées, la nature sporangiale des diaspores est attestée par la production de spores internes et cependant ces sporanges se détachent, c'est le cas en particulier des zoosporanges composés qui assurent la reproduction asexuée des genres *Basidiophora* et *Sclerospora*.

Par leur mode de formation, les diaspores du *Trachysphaera fructigena* sont incontestablement les homologues des diaspores des autres Péronosporales. Ces dernières germent habituellement

par différenciation et libération des zoospores. Mais des exceptions à cette règle se rencontrent aussi bien chez les Pythiacées que chez les Péronosporacées, familles dans lesquelles ROGER [37], MIDDLETON [32] d'une part et VIENNOT-BOURGIN [48] d'autre part, ont respectivement proposé de classer le *T. fructigena*.

Chez les *Pythium elongatum* et *P. echinulatum*, il existe des organes vésiculeux, arrondis, semblables à des sporanges qui peuvent soit libérer des zoospores soit émettre des filaments. BUGNICOURT [6] a montré que les zoosporanges du *Phytophthora palmivora* peuvent, dans des conditions de milieu précises, libérer des zoospores ou émettre des tubes germinatifs. D'autres *Phytophthora* présentent régulièrement en culture des sporanges capables de germer sans différencier au préalable leurs spores (MOREAU, loc. cit.).

La même situation se rencontre chez les Péronosporacées et mieux encore, certaines espèces, comme les *Plasmopara densa* et *P. albida*, ne différencient jamais de zoospores. F. MOREAU (loc. cit.) pense que toutes les Péronosporacées peuvent produire accidentellement des sporanges capables de germination filamenteuse.

Si, d'autre part, on examine des Siphomycètes appartenant à d'autres ordres de la même lignée évolutive que les Péronosporales, les Saprolegniales par exemple, on constate que, là encore, se manifeste une tendance à la disparition des spores flagellées. KLEBS [25] a montré que, chez les *Saprolegnia*, certaines modifications du milieu entraînent la germination par filaments d'oozones et d'anthéridies. Enfin et surtout, puisque nous nous attachons essentiellement à l'étude de la reproduction asexuée, il existe dans l'ordre des Saprolegniales, entre les *Saprolegnia* qui germent par zoospores et les *Aplanes* qui germent par tubes, de nombreuses formes de transition parmi lesquelles les *Geolegnia* qui différencient encore des spores internes mais dépourvues de flagelles. Cette comparaison conduit à penser que les diaspores du *T. fructigena* pourraient être le terme ultime d'une série analogue. Un intermédiaire entre le mode de germination originel par zoospores et la germination par tubes adoptée par les sporanges de *Trachysphaera fructigena* pourrait être trouvé parmi les espèces qui, tel le *Pythium pulchrum*, produisent dans leur sporange des spores immobiles capables de germer *in situ* par un filament (MATTEWS, [30]).

Tout ceci tend à démontrer que la diaspore du *T. fructigena* est en fait un sporange qui ne différencie pas de spore et c'est cette appellation de sporange que nous adopterons dans la suite de cette étude.

C. — COMPORTEMENT DU *T. FRUCTIGENA* SUR SES HÔTES

La progression du *T. fructigena* à l'intérieur de ses hôtes exige le franchissement de deux étapes préalables : la germination des sporanges et la pénétration des hyphes germinatifs. Nous exposerons donc successivement les résultats que nous avons acquis sur chacun de ces points.

1. GERMINATION DES SPORANGES

Quel que soit le procédé d'inoculation choisi et quel que soit l'hôte considéré, les sporanges germent au contact de la cuticule des fruits à la seule condition d'être plongés dans l'eau, mais cette condition est impérative.

En effet, nous avons constaté que, même dans les enceintes où l'humidité est proche de la saturation, les sporanges abandonnés par l'évaporation des gouttelettes se dessèchent, prennent la forme de ménisques biconvexes et ne germent en aucun cas. Il semble donc bien que l'eau à l'état liquide soit indispensable à la germination.

Le pourcentage de germination atteint 80 à 90%. Il est maximum quand on utilise des suspensions très concentrées (10 à 30 sporanges par mm³) et décroît jusqu'à 60% pour des suspensions peu denses (1 à 2 sporanges par mm³).

Les premiers hyphes germinatifs apparaissent deux heures à deux heures et demie après la mise en suspension des sporanges. Leurs exigences vis-à-vis de l'humidité semblent moins strictes que celles des sporanges. En effet, ils ne demeurent pas nécessairement à l'intérieur de la goutte d'inoculum. Il arrive qu'ils en sortent et croissent à l'air libre constituant ainsi une frange mycélienne peu dense, de 1 à 2 mm de large. Cependant, cette vie aérienne n'est possible que lorsque l'humidité de l'air est proche de la saturation : dès que l'humidité relative descend au-dessous de 90% les tubes cessent de croître, se dessèchent et meurent.

La croissance de ces hyphes juvéniles est irrégulière. Les arrêts sont fréquents et peuvent être momentanés ou définitifs. Dans ce dernier cas le relais est pris par un rameau qui, le plus souvent, reprend, après un certain temps, la direction suivie par l'hyphe primaire, c'est-à-dire le rayon d'un cercle dont la gouttelette d'inoculum est le centre.

Les stomates, présents sur tous les fruits hôtes du *T. fructigena* et les lenticelles, fréquentes sur poire d'avocat, paraissent n'exercer aucune attraction particulière sur les hyphes.

2. PÉNÉTRATION DU PARASITE.

Le *T. fructigena* ne possède aucun organe particulier de fixation ou de pénétration et nous n'avons jamais observé le passage des hyphes entre ou au travers des cellules épidermiques. Il est donc vraisemblable que le champignon utilise, pour pénétrer, les ouvertures naturelles ou accidentelles des enveloppes de ses hôtes.

Dans le cas de la poire d'avocat, nous avons pu constater que les jeunes hyphes se glissent fréquemment à l'intérieur des lenticelles. Celles-ci, bien que n'exerçant apparemment aucune attraction sur les filaments, sont d'assez grandes dimensions pour leur livrer passage par hasard. La pénétration des tissus est ensuite relativement aisée car les épaisses barrières liégeuses que l'on rencontre dans les lenticelles d'autres végétaux n'existent pas dans celles de la poire d'avocat. Les cellules subérifiées qui les tapissent adhèrent mal les unes aux autres et peuvent être facilement disjointes par le mycélium.

Dans le cas des autres hôtes du *T. fructigena* que nous avons tentés d'infecter, il n'existe pas de lenticelles mais uniquement des stomates dont les dimensions sont juste suffisantes pour livrer passage aux hyphes. Nous n'avons jamais assisté à la pénétration d'un hyphe au travers d'un stomate mais l'observation sur le vivant est très difficile et nous ne pouvons affirmer que cette pénétration ne se produit pas. Cependant, si elle intervenait, le résultat des infections artificielles en l'absence de toute lésion expérimentale ou accidentelle serait positif.

Or le tableau II montre que, si la poire d'avocat est facilement contaminée dans ces conditions, les autres hôtes du *T. fructigena* ne présentent que très rarement des signes d'attaque.

TABLEAU II
Pourcentage de fruits artificiellement contaminés en l'absence de lésions

HOTES	MÉTHODE		
	Pulvérisation de sporanges	Dépôt de suspension de sporanges	Dépôt de mycélium
Bananes (var. Poyo)	0	0	0
Cabosses (var. Amelonado)	3	0	0
Cerises de caféier (<i>C. robusta</i>)	—	0	2
Poires d'avocat	59	21	63

La pénétration ne semble donc pas s'effectuer habituellement par l'intermédiaire des stomates. Cependant, elle se produit avec un très faible pourcentage sur cerises de caféier et cabosses de cacaoyer. Dans ce dernier cas nous avons obtenu quelques rares contaminations à la suite de la pulvérisation d'une suspension de spores. On sait que ce procédé provoque une modification des tissus végétaux, à laquelle on a donné le nom de « congestion hydrique » (JOHNSON [23]) qui se traduit par la turgescence des cellules épidermiques et l'ouverture des stomates. Il se peut que cet état favorise le *Trachysphaera* et lui permette de s'introduire dans les chambres sous-stomatiques. Il nous semble, cependant, que dans ce cas, le nombre de pénétrations devrait être beaucoup plus élevé. En effet sur 60 cabosses traitées, deux seulement ont été infectées avec succès et trois points de pénétration au total ont été décelés. Il est donc prudent de ne pas éliminer la possibilité que de petites blessures de la cuticule, passées inaperçues lors de l'examen des fruits, aient pu permettre le passage du parasite.

Le fait que l'hôte le plus facile à contaminer au laboratoire soit la poire d'avocat est assez paradoxal. En effet on rencontre très rarement le *T. fructigena* sur ce fruit dans son habitat naturel. L'hypothèse explicative la plus simple est que les conditions écologiques au niveau des poires d'avocat sont très différentes de celles qui règnent au niveau des cabosses du cacaoyer par exemple. L'avocatier a un feuillage plus aéré que le cacaoyer ou le caféier, ses fruits sont isolés et non serrés comme les bananes sur leur régime, enfin, c'est une espèce de lumière qui n'est jamais cultivée sous ombrage. Il est donc vraisemblable que l'humidité au niveau des poires d'avocat est le plus souvent trop faible pour que les condensations indispensables à la germination des sporanges du *T. fructigena* se produisent. D'autre part la température des fruits dans la journée peut être très élevée et nuire au développement du parasite. Si cette seconde hypothèse est justifiée, la température maximale de la germination doit être assez basse. Nous le vérifierons en étudiant *in vitro* le développement du champignon.

Dans le cas de tous les hôtes du *T. fructigena* l'infection est positive pour la presque totalité des fruits traités si l'inoculum est déposé au niveau d'une blessure. Il est donc probable que, dans les conditions naturelles, ce parasite utilise, pour s'introduire dans les tissus végétaux, des blessures accidentelles de la cuticule ou des lésions causées par d'autres organismes.

Les piqûres de capsides ou les infections dues au *Phytophthora palmivora* ne paraissent pas permettre la pénétration du *T. fructigena*. Dans l'un comme dans l'autre cas, nous n'avons pu obtenir aucun signe d'infection. Ceci est à rapprocher des observations de MEREDITH [31] qui tenta de faire passer ce parasite dans la voie

supposée ouverte par le *Gloeosporium musarum* sur banane et qui n'y parvint pas. Il faut noter toutefois que notre échec peut s'expliquer dans le cas du *P. palmivora* par le fait que les lésions n'intéressent la cuticule qu'au moment de la sortie des sporanges c'est-à-dire après l'envahissement de l'épicarpe qui est alors trop appauvri pour servir de substrat au *T. fructigena* et, dans le cas des piqûres de capsides, par le fait que les blessures étaient anciennes, et, sans doute, déjà cicatrisées.

3. ENVAHISSEMENT DE L'HÔTE

L'envahissement des tissus de l'hôte a été suivi par dissection des fruits, observation directe des signes d'altération et examen au microscope de préparations. Ce dernier procédé a montré que le mycélium du *Trachysphaera* est d'abord localisé entre les cellules, mais qu'il pénètre ces cellules dès le début de la désorganisation des tissus.

Des contrôles effectués par prélèvement et mise en culture de fragments de tissus montrent qu'à une exception près, l'arrivée des filaments fongiques précède les altérations visibles. L'exception concerne l'axe carpellaire de la banane dont la gélification et le brunissement sont particulièrement rapides. Comme ces phénomènes se produisent normalement au cours de la maturation, il semble que le parasite agisse en accélérant le mûrissement du fruit.

Les hyphes progressent plus rapidement dans les espaces intertissulaires que dans les tissus. Dans la cabosse, leur avance est particulièrement rapide le long du mésocarpe ; dans la banane, entre pulpe et enveloppe et le long de l'axe carpellaire. Enfin, les organes bien défendus tels que les noyaux de poire d'avocat ou les grains des cerises de caféier ne sont jamais pénétrés.

La vitesse de croissance du parasite est, comme on pouvait s'y attendre, étroitement liée à la nature de son hôte. Très élevée dans les tissus de cabosse, elle est plus réduite au sein des autres fruits parasités. Elle varie également avec l'état de maturité de l'hôte, ce qui pourrait être lié à des changements chimiques.

La sporulation intervient généralement trois jours après la pénétration du parasite à la température de 26°. Elle est particulièrement rapide dans le cas de la poire d'avocat sur laquelle les premiers sporanges, formés dans les chambres lenticellaires qui avoisinent le point d'inoculation apparaissent à la surface 60 heures après la pénétration.

II. — LA DORMANCE DES SPORANGES

Les études auxquelles nous nous sommes livrés sur les fruits hôtes du *T. fructigena* semblent montrer que l'eau, seule, est indispensable à la germination des sporanges. En fait, en expérimentant ainsi, nous n'avons pu mettre en évidence les autres exigences de ce champignon car elles étaient toujours satisfaites.

A. — MISE EN ÉVIDENCE DE LA DORMANCE

Comme les sporanges cessent d'être turgescents dès que l'humidité relative de l'air descend au-dessous de la saturation, on peut supposer que l'émission des tubes germinatifs n'est possible qu'en atmosphère saturée ou dans l'eau en phase liquide. C'est ce que nous avons tenté de démontrer au cours des expériences suivantes :

1. ESSAI DE GERMINATION DANS L'AIR SATURÉ D'EAU

Le dispositif utilisé dérive de celui employé par CLAYTON [11]. Il en diffère simplement par le fait que la stratification des souches gazeuses dans le récipient où s'effectue la germination est évitée par un courant d'air et non par agitation.

Les sporanges sont déposés à l'aide d'un pinceau à aquarelle sur des lamelles fixées à des tiges solidaires du couvercle. Le récipient est fermé rapidement car les spores du *T. fructigena* sont extrêmement sensibles à la dessiccation.

Quatre essais successifs ont été réalisés à la température ambiante (27° environ) sans tenir compte de la lumière : le dispositif supportait les alternances de jour et de nuit. Le premier essai dura 24 heures ; le second, jours deux et les deux derniers trois jours.

Aucune germination n'est enregistrée. Dans tous les cas, on constate que le contenu du sporange diminue de volume, se sépare de la membrane ou l'entraîne avec lui, donnant alors à la spore un aspect de coupelle. De semblables déformations, qui se rencontrent d'ailleurs assez fréquemment dans les vieilles cultures, n'entraînent pas la perte immédiate de la faculté germinative : si on transporte sur un milieu nutritif des sporanges ayant séjourné 24 heures dans l'appareil, ils germent et régénèrent un nouveau thalle.

Ces déformations ne peuvent s'expliquer que par une perte d'eau. Il existe, en effet, un important vacuome dans les sporanges. Beaucoup contiennent de petites vacuoles réparties sans ordre et visibles après coloration au rouge neutre. D'autres sans doute plus âgés, présentent une grande vacuole centrale, ou, plus rarement, marginale, visible sans coloration et dont le diamètre dépasse

la moitié de celui de la spore. Enfin, le vacuome est extrêmement réduit dans les spores en coupelle ou à cytoplasme contracté.

Il est à noter que malgré l'importance de la quantité d'eau que contient la spore, sa pression osmotique est très élevée. Dans des conditions que nous définirons ultérieurement, nous avons réussi, en effet, à faire germer des sporanges et nous avons alors constaté que des tubes germinatifs étaient émis dans des solutions contenant jusqu'à 10% de glucose. Nous verrons d'ailleurs plus loin qu'ils supportent sans plasmolyse des pressions plus élevées encore.

2. ESSAI DE GERMINATION DANS L'EAU EN PHASE LIQUIDE.

La vapeur d'eau, même saturante, ne suffisant pas à provoquer la germination, nous avons plongé les sporanges dans l'eau. Comme le montre le tableau III, le pourcentage de germination demeure

TABLEAU III

Germination des sporanges du Trachysphaera fructigena dans l'eau bi-distillée
d = 8 pour P = 0,05 (résultats transformés) (1).

Temps de germination précédant l'examen	Pourcentage moyen de spores germées	θ
5 heures	0,9 %	5,6
24 heures	1,4 %	6,5
48 heures	0,7 %	4,8

Chacun des pourcentages ci-dessus est la moyenne de 50 comptages de 100 sporanges en suspension dans l'eau bi-distillée, à raison de 3 comptages par cellule de Van Tieghem. La température voisinait 27°C et les cellules étaient conservées à l'obscurité.

très faible quand la suspension, au lieu d'être déposée sur un fruit, est placée sur un support inerte. Au cours de cet essai et tout au long de ce chapitre, nous avons admis qu'un sporange a germé quand il a émis un filament de longueur au moins égale à son diamètre.

Il faut donc conclure que l'eau n'est pas le seul facteur nécessaire à la germination et que les conditions réalisées à la surface

(1) L'analyse statistique des pourcentages qui figurent dans ce tableau et tout au long de ce chapitre, a été réalisée après transformation des résultats individuels en $O = F(\arcsin \frac{P}{100})$ (transformation de BLISS). Cette transformation présente l'avantage de fixer la variance de chaque mesure qui demeure constante entre 5 et 95%. Pour les valeurs très basses et très élevées leur variance ne demeure pas rigoureusement identique, mais présente des écarts inférieurs à ceux que l'on constate quand on utilise les pourcentages bruts.

des fruits diffèrent de celles qui règnent dans les cellules de Van Tieghem. Plusieurs hypothèses peuvent rendre compte de cette différence.

1° Il n'y a pas de renouvellement d'air dans les cellules de Van Tieghem, l'eau bi-distillée en contient peu et il est donc possible que l'oxygène fasse défaut dans la suspension.

2° Les fruits peuvent libérer une substance capable de provoquer la germination soit indirectement en modifiant le pH de la suspension, soit directement en satisfaisant un besoin propre aux sporanges.

Nous allons essayer, au cours de ce chapitre, de tester ces hypothèses et nous terminerons en étudiant l'influence des chocs de température qui se sont révélés capables de stimuler la germination de nombreux champignons, dont l'un, le *Phytophthora palmivora* (BUGNICOURT [6]), est proche de celui que nous étudions.

3. ACTION DE L'OXYGÈNE

La plupart des spores de champignons exigent de l'oxygène pour germer et certaines observations permettent de penser qu'il en est de même pour les sporanges du *T. fructigena*. Ceux-ci, en effet, germent mal quand les suspensions sont trop denses. Or, l'anneau hermétique des cellules de Van Tieghem empêche toute aération et l'eau bi-distillée que nous utilisons est privée de gaz par deux ébullitions successives.

Mais, d'une part, les suspensions de sporanges déposées sur les fruits sont préparées avec la même eau bi-distillée et, d'autre part, on n'enregistre pas d'augmentation du pourcentage de spores germées en faisant barbotter de l'air dans la suspension.

4. INFLUENCE DU PH.

Nous avons additionné de soude ou d'acide chlorhydrique des suspensions de sporanges dans l'eau bi-distillée. Cette méthode est criticable car, dans les milieux non tamponnés, les facteurs extérieurs sont susceptibles d'entraîner, après l'ajustement, des variations de pH assez considérables. Mais la gamme de pH que nous envisageons ici ne peut être couverte par un seul tampon et l'influence sur la germination des substances utilisées pour tamponner les suspensions n'est pas négligeable. Nous avons constaté, par exemple, que la présence d'un tampon phosphate ($\text{PO}_4\text{Na}_2\text{H} - \text{PO}_4\text{KH}_2$) réduit notablement le pourcentage de germination.

Le tableau IV donne les résultats moyens obtenus au cours de cet essai. Ces valeurs moyennes recouvrent une très grande hétérogénéité des résultats individuels, mais, malgré celle-ci, il existe une différence significative entre le pH optimum : 6,28 et les valeurs extrêmes tolérées par le champignon : 4,68 et 10,8.

TABLEAU IV

Variation du pourcentage de germination des sporanges en fonction du pH
 $d = 4,0$ pour $P = 0,05$ (résultats transformés)

pH	Pourcentage moyen de spores germées	θ
3,10	0 %	0
4,68	1,1 %	6,25
5,67	1,8 %	7,80
6,28	3,2 %	10,28
7,64	2,4 %	8,96
8,78	2,6 %	9,25
9,58	1,7 %	7,60
10,8	0,6 %	4,51
12,4	0 %	0

Il semble donc que la germination soit plus facile au voisinage de la neutralité. Cependant, les pourcentages demeurent toujours bien inférieurs à ceux que l'on observe dans les conditions naturelles.

B. — LEVÉE DE LA DORMANCE

1. ROLE DES SUBSTANCES PROVENANT DES HÔTES

a) Action des jus de fruits :

Nous avons vu que la présence d'eau et le contact des fruits hôtes suffisaient à provoquer la germination des sporanges. D'autre part, des auteurs tels que HORSFALL [21] préconisent l'emploi des jus de fruits dans les cas de germinations difficiles. Nous en avons donc testé un certain nombre.

TABLEAU V

Germination dans l'eau bi-distillée additionnée de jus de fruits (1% en volume)

Jus	Pourcentage moyen de spores germées	θ
Citron	1 %	5,7
Citron neutralisé	0,7%	4,4
Orange	96 %	79,7
Cabosse	92 %	73,6
Bananes	96 %	78,5
Pomme	89 %	70,6
Témoin (eau bi-distillée)	0,6%	4,2

Le tableau V résume les résultats obtenus. Il montre que la plupart des jus essayés sont capables d'augmenter le pourcentage de germination dans de très grandes proportions. En effet, jamais jusqu'ici nous n'avions dépassé un maximum de 3,2%.

Seul le citron ne manifeste aucune activité. Cependant l'acidité de son jus n'est pas en cause : car, même après neutralisation, on n'enregistre pratiquement aucune germination. Aucune différence significative n'existe entre les résultats obtenus avec les autres jus. Ceux-ci contiennent donc tous une substance stimulante dont nous ignorons le mode d'action. On peut, en effet, penser, ou bien, que cet agent est l'activateur d'une chaîne métabolique et il suffit alors qu'il soit présent à l'état de trace dans tous les fruits testés, sauf le citron, ou bien, qu'il joue le rôle de substrat dans une chaîne métabolique et, dans ce cas, il est nécessaire en quantité relativement grande. Le choix entre les deux propositions de l'alternative peut être testé par le niveau du seuil de concentration à partir duquel se produit la germination. Nous avons donc essayé d'ajouter des quantités croissantes de jus aux suspensions. L'expérience a été réalisée avec du jus d'orange, pour des raisons de facilité et parce qu'il se révèle l'un des plus actifs. La lecture des résultats a été faite 5 heures après la mise en suspension des sporanges, c'est-à-dire au moment où aucune nouvelle germination ne pouvait être attendue.

Le tableau VI résume ces résultats et la courbe 1 de la fig. 3 les schématise. La branche ascendante de la courbe est compatible avec l'hypothèse que la concentration joue un rôle : le pourcentage moyen de germination croît avec la teneur en jus d'orange

TABLEAU VI

Germination des sporanges dans l'eau bi-distillée additionnée de quantités croissantes de jus d'orange. $d = 9,8$ pour $p = 0,05$ (résultats transformés)

Concentration en jus d'orange	pH	Pourcentage moyen de spores germées	θ
0 ‰	4,86	0,8	4,5
0,1 ‰	3,50	73	58,3
2,5 ‰	3,46	88	70,6
5 ‰	3,44	98	84,9
10 ‰	3,36	96	79,7
20 ‰	3,28	76	61,5
30 ‰	3,27	74	59,6
50 ‰	3,23	77	61,8
100 ‰	3,22	68	56,7
100 ‰	3,23	70	57,4

jusqu'à un maximum correspondant à la concentration de cinq pour mille. Mais, ensuite s'amorce une branche descendante, à laquelle succède un palier. On peut supposer que l'agent stimulant s'avère toxique à partir du seuil 5‰ et que le palier final correspond au maximum d'inhibition dont il est capable. Cependant, il se peut aussi qu'un autre facteur intervienne. L'hypothèse la plus plausible, puisque l'acidité des solutions augmente avec la concentration, est que le pH joue le rôle de facteur limitant.

Pour apprécier l'influence de la réaction du milieu, la même expérience a été refaite dans les mêmes conditions, mais avec des dilutions de jus d'orange ajustées à neutralité à l'aide d'une solution centinormale de soude. Au bout de cinq heures, les comptages permettent de remplir le tableau VII. Il montre que la concen-

TABLEAU VII

Germination des sporanges dans des dilutions de jus d'orange neutralisées

Concentration du jus d'orange en volume	Pourcentage moyen de spores germées
0	1,2
10 ⁻⁶	89
10 ⁻⁵	93
10 ⁻⁴	92
10 ⁻³	98
2,5.10 ⁻³	99
5.10 ⁻³	99
10 ⁻²	98
2.10 ⁻²	99
3.10 ⁻²	99
5.10 ⁻²	99
10 ⁻¹	99

tration en jus ne joue qu'un rôle très réduit à pH = 7,0. Cependant, si les comptages sont faits 3 h 1/2 et non 5 h après la mise en suspension, on obtient des résultats notablement inférieurs qui se répartissent suivant une courbe 3 (fig. 3), dont l'aspect est analogue à celui de la courbe 1. Les sporanges ne présentent donc pas tous la même sensibilité au pH. Ceux pour qui il constitue un facteur limitant ne réagissent pas au stimulant en milieu acide. Ils germent, par contre, en milieu neutre, mais plus tard que les autres.

La réponse étant la même quelle que soit la concentration, on peut penser que le jus d'orange contient un facteur stimulant dont le rôle n'est pas de servir d'aliment au sporange. Mais nous

ignorons tout de la nature chimique de ce facteur. Signalons, toutefois, que le jus d'orange perd son activité en 24 heures au réfrigérateur. Ceci pourrait signifier que l'agent actif qu'il contient est une substance instable ou un corps volatil.

b. *Action de diverses substances chimiques.*

Nous avons réalisé divers essais avec des solutions de composés chimiquement purs pour connaître la nature exacte du ou des agents efficaces. En plus des substances contenues dans les fruits, nous avons essayé quelques corps connus pour leur pouvoir stimulant sur les spores d'autres organismes.

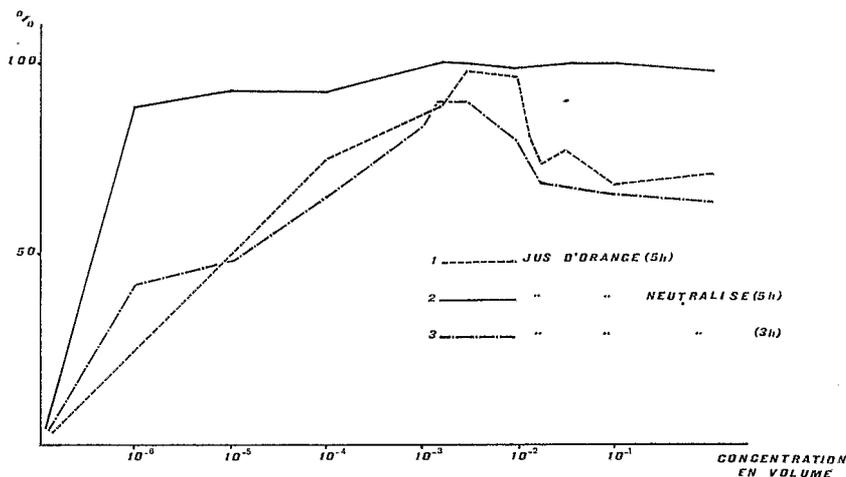


Fig. 3. — Pourcentage de germinations en fonction de la teneur du milieu en jus d'orange. On a porté : en abscisse, la concentration de jus d'orange en volume et, en ordonnée, le pourcentage de germination.

Les sucres, tels que le saccharose, le glucose, le fructose et la dulcité ne possèdent aucun pouvoir stimulant.

Les vitamines testées sont également inactives. Nous avons essayé sans succès l'acide ascorbique, l'acide nicotinique, l'acide *p*-aminobenzoïque, le panthothénate de calcium, le chlorhydrate de thiamine, la biotine, la pyridoxine et la riboflavine à des concentrations comprises entre 10^{-2} et 10^{-6} M. Seuls, les pourcentages moyens de germination dans les solutions de thiamine à 10^{-4} M et de pyridoxine à 10^{-6} M sont supérieurs à ceux des témoins, mais de façon non significative au seuil $P = 0,05$. Enfin, les mélanges complexes de vitamines, tel que l'extrait de levure (DIF-CO) en solution à 1^o/₁₀₀, ne provoquent que quelques rares germinations (5 à 10^o/₁₀₀).

Les acides aminés, par contre, présentent peut être une certaine activité. En effet la peptone (DIFCO) en solution à 1%/₀₀ provoque 50% de germination à 26°C, mais les quelques acides aminés que nous avons testés : l'asparagine, la valine, le chlorhydrate de cystéine, le tryptophane, le glycofolle, l'histidine, la méthionine et même l'alanine qui s'avère capable de lever la dormance du *Bacillus cereus* (WRIGHTIN [17]), se sont, montrés inactifs à des concentrations comprises entre 10^{-4} et 10^{-6} M.

Enfin, des corps connus comme des agents de levée de dormance chez les végétaux supérieurs, tels que la gibbérelline et l'acide indol-acétique aux concentrations 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} M, n'ont présenté aucune efficacité.

c. Action des gaz issus des fruits.

Nous savons maintenant que des extraits cellulaires de fruits, aussi différents que ceux que nous avons testés, sont capables de provoquer la germination des sporanges de *T. fructigena*. Cependant, dans les conditions naturelles, le jus des fruits ne diffuse pas au travers de la cuticule. Par conséquent, l'agent stimulant qui est cédé aux gouttes de suspension déposées à la surface des hôtes du *T. fructigena*, a probablement une autre origine et peut être libéré sous la forme d'un exsudat liquide ou sous celle d'un gaz. Dans ce dernier cas, il doit se révéler actif à distance ; aussi, pour étudier l'action des gaz émis par les fruits, avons nous adopté le dispositif que nous décrivons ci-dessous.

Un anneau de verre est collé à la paraffine au centre d'une boîte de Pétri de 8 cm de diamètre. Un fragment de pulpe ou d'écorce de fruit est placé dans cet anneau autour duquel sont disposées des lamelles portant chacune une goutte de suspension de spores. Pour éviter toute projection de corps solides ou liquides, trois épaisseurs de tulle sont disposées sur l'anneau dont les bords ont été au préalable enduits de vaseline. L'humidité est maintenue à saturation par une rondelle de papier filtre imprégnée d'eau et appliquée au fond du couvercle. Pour chacun des fruits testés, trois boîtes, contenant chacune quatre lamelles, sont préparées. Les sporanges germés sont dénombrés après cinq heures passées à l'obscurité dans une enceinte maintenue à 27°C. Le tableau VIII résume les résultats de cet essai. Il montre que tous les fruits testés sont actifs. Chose curieuse, alors qu'un broyat de citron est inefficace s'il est dilué dans la suspension de sporanges, un fragment de ce même fruit se révèle, à distance, un stimulant significativement plus énergique que les fragments des autres fruits.

Les organes végétaux lésés (BURG [7]) et en particulier les fruits, libèrent généralement de l'éthylène. Cela a été démontré dans le cas de certains hôtes du *T. fructigena* tel que l'avocat et

la banane et, également, dans celui des autres fruits que nous avons testés au cours de l'essai précédent (orange, citron, pomme). BURG (loc. cit.) écrit même que tous les fruits produisent sans doute de l'éthylène et que si cela n'a pas été démontré dans tous les cas, c'est sans doute en raison du peu de sensibilité des moyens de détection.

TABLEAU VIII

Action des gaz issus des fruits sur la germination des sporanges. d = 16 pour P = 0,05 (résultats transformés).

		Pourcentage moyen de germination	0
Orange	Pulpe	93 %	74,9
	Ecorce	94 %	76,7
Citron	Pulpe	97 %	80,3
	Ecorce	72 %	58,1
Cabosse	Pulpe	68 %	55,8
	Ecorce	70 %	56,7
Banane	Pulpe	89 %	74,32
	Ecorce	84 %	71,5
Pomme	Pulpe	68 %	56,0
	Ecorce	65 %	53,9
Avocat	Pulpe	81 %	64,1
	Ecorce	84 %	67,0
Caféier	Pulpe	84 %	66,8
	Ecorce	82 %	65,0

On sait, d'autre part, que ce gaz exerce une action sur la croissance de certains Champignons. VESELOV [47] a montré qu'il augmente le taux respiratoire d'un *Aspergillus* tout en retardant sa croissance ; SEIFRIZ et URBACH [41], de leur côté, ont constaté que ce gaz accélère la vitesse d'élongation du mycélium d'autres moisissures.

Il est donc permis de supposer que l'éthylène, si généralement répandu, peut être responsable des résultats que nous enregistrons : c'est ce que nous allons essayer de démontrer.

d. Action de l'éthylène.

L'éthylène préparé par chauffage d'un mélange d'acide sulfurique et d'alcool éthylique, est purifié par barbottages successifs dans un laveur à acide sulfurique à 66 B°, dans deux laveurs contenant une solution saturée de potasse et dans un quatrième laveur contenant de l'eau destinée à saturer le gaz. Il traverse ensuite une petite enceinte dans laquelle ont été disposées cinq lamelles, portant chacune une goutte de suspension de sporanges. Un tampon de coton humide, placé sous le support des lamelles, évite la dessi-

cation des gouttes. Pour chaque essai, le témoin est réalisé en remplaçant le courant d'éthylène par un courant d'air provoqué par pompage. Après traitement, les lamelles sont déposées dans des boîtes de Pétri dont l'atmosphère est maintenue à saturation par une rondelle de papier humide et les comptages sont effectués au bout de cinq heures, comme lors des essais déjà décrits.

Les résultats de ces expériences sont résumés dans le tableau IX. Il montre que le pourcentage de sporanges germés croît avec la durée du séjour dans l'éthylène jusqu'à un maximum qui correspond à 45 minutes. La chute brutale, qui suit cet optimum, peut s'expliquer par l'action de l'éthylène lui-même, qui, à haute dose, peut s'avérer toxique (BURG, loc. cit.), ou par l'asphyxie des sporanges qui baignent dans une atmosphère privée d'oxygène.

TABLEAU IX

Germination des sporanges traités par l'éthylène,

Durée de l'action de l'éthylène en minutes	Pourcentage de germination des sporanges traités	Pourcentage de germination des sporanges témoins
15	10	0,5 %
30	65	1 %
45	68	0 %
60	5	0 %

Comme le gaz de préparation artisanale peut être très impur, ces essais ont été repris avec une source d'éthylène contenant moins de 1‰ d'impuretés. Le dispositif utilisé était le même que le précédent, mais les barbottages dans l'acide sulfurique et la potasse étaient supprimés.

Cette deuxième série d'essais, effectués avec de l'éthylène industriel purifié, a confirmé la première : mais les résultats obtenus étaient plus modestes. L'optimum de germination se situait toujours au voisinage de 45 minutes, mais ne dépassait pas 50% au bout de 5 heures quelle que soit la durée de l'imprégnation.

La différence constatée entre les résultats obtenus avec l'éthylène industriel purifié et l'éthylène préparé au laboratoire laisse supposer que des impuretés peuvent jouer un rôle dans la stimulation. Aussi, avons-nous essayé de faire germer les sporanges en les soumettant à l'action de divers corps volatils : alcool, éther, xylène et furfural, qui, chez d'autres champignons, présentent une activité marquée. Aucune de ces substances ne s'est montrée efficace.

2. EFFETS DES CHOCS THERMIQUES

a. Action d'un échauffement temporaire :

Chez de nombreux Champignons, la levée de dormance est obtenue par une élévation de la température. C'est le cas d'Ascomycètes tels que le *Pleurage anserina* et l'*Ascobolus immersus* (Denise MARCOU, communications orales). Nous avons donc placé temporairement des suspensions dans des enceintes chaudes. Après des séjours de durée croissante à 30°, 40° et 45°C, les sporanges étaient ramenés à la température du laboratoire, soit 27° ± 1°C. Le tableau X résume cet essai ; il montre que les chocs dus à des températures élevées ne provoquent aucune stimulation.

TABLEAU X

Action d'un échauffement temporaire sur la germination des sporanges.

Température en degrés centigrades	Durée de l'échauffement en minutes				
	15	30	60	120	240
30	0,2 %	0,7 %	0,6 %	0 %	0,7 %
40	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
45	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %

b. Action d'un refroidissement temporaire :

D'après BUGNICOURT [6] un refroidissement de courte durée suivi d'un retour à la température normale provoque la germination des sporanges du *Phytophthora palmivora*. Les deux champignons appartenant à des genres voisins, nous avons tenté de stimuler la germination du *T. fructigena* par le même moyen.

Pour cela, nous avons fait séjourner les suspensions de sporanges dans une enceinte maintenue à la température de 6°C pendant des temps de plus en plus longs. Après ces périodes de refroidissement, les suspensions étaient ramenées à la température de 27°C. Le tableau XI donne les résultats de cet essai.

Malgré l'hétérogénéité des résultats, le sommet de la courbe (fig. 4) est nettement significatif et nous pouvons conclure qu'un abaissement momentané de la température est capable de provoquer la germination des sporanges. La diminution rapide des pourcentages moyens de germination lorsque l'action du froid s'exerce pendant plus de 90 minutes n'a rien de surprenant car il est impossible de conserver le mycélium en survie à la même température.

Comme en période d'Harmattan il arrive que la température nocturne descende aux environs de 15° C dans la zone intertro-

TABLEAU XI

Action du froid temporaire sur la germination des sporanges.
 $d = 22$ pour $P = 0,05$ (résultats transformés)

Durée de la période froide (6° C)	Pourcentage moyen de germination à 27°C	0
0 minute (témoin)	0,8	5,4
15 minutes	21	26,4
30 minutes	18	24,4
1 heure	43	41
1 heure 30	82	65,7
2 heures	16	23
2 heures 30	14	11,3
3 heures 30	1,6	6,23

picale humide, il était intéressant de rechercher si un refroidissement moins important que celui que nous avons fait subir à nos suspensions de sporanges est capable de provoquer leur germi-

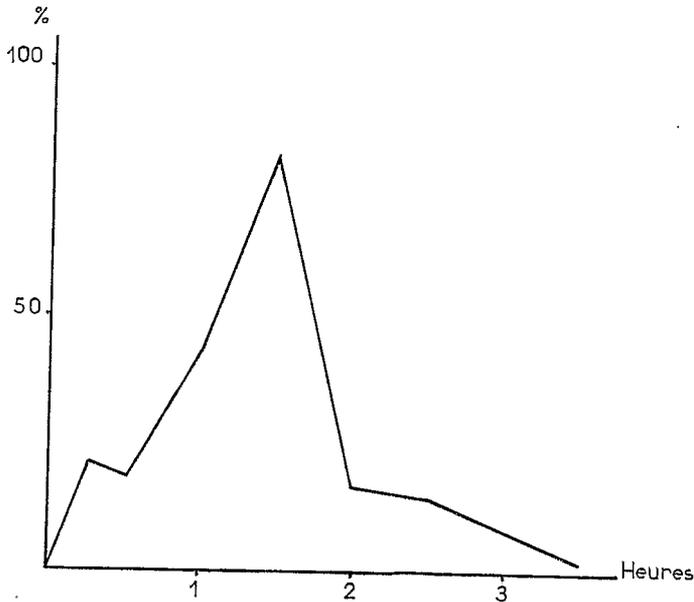


Fig. 4. — Pourcentage de germinations en fonction de la durée du refroidissement subi par les sporanges.
 On a porté, en abscisse, la durée du refroidissement en heures et, en ordonnée, le pourcentage de germination.

nation. Nous avons donc renouvelé le même essai en faisant subir aux cellules de Van Tieghem des températures de 20°, 17°5, 15° et 10° C pendant 1 heure 30, 3 heures et 5 heures sans obtenir de pourcentages de germination supérieurs à ceux des témoins non soumis au froid. Il est par conséquent peu probable que la germination du *T. fructigena* soit favorisée par l'abaissement de la température dans les conditions naturelles.

c. *Température optimale :*

Si les chocs thermiques jouent un rôle en provoquant la germination, la température à laquelle elle s'effectue a aussi son importance. Nous avons essayé de savoir quelle est la température optimale de germination à l'aide d'une suspension dans une dilution de jus d'orange à 5 ‰. Le tableau XII permet de constater que cet optimum se situe au voisinage de 27°C, c'est-à-dire à la température qui règne le plus souvent dans la zone tropicale humide.

TABLEAU XII

Action de la température sur la germination des sporanges.
d = 16,8 pour P = 0,05 (résultats transformés)

Température	Pourcentage moyen de spores germées	0
22°	35	36,1
25°	52	46,5
27°	93	76,3
29°	60	51,4
32°	2	6,58
34°	0	0

3. VARIATION DE LA SENSIBILITÉ AUX AGENTS STIMULANTS.

Nous savons maintenant que la germination des sporanges est possible quand ils ont subi l'action de certains facteurs physiques ou chimiques ; mais nous ignorons encore à quel moment agissent ces facteurs. Afin de le préciser, nous avons traité des boîtes de Pétri contenant des thalles très sporulés du *T. fructigena* par l'éthylène et par les gaz issus des fruits.

Pour tester l'action de l'éthylène, nous nous sommes bornés à placer, dans l'enceinte décrite plus haut, les boîtes de Pétri ouvertes et nous les avons laissé baigner trois quarts d'heure dans le gaz. Pour tester les gaz issus des fruits, nous avons placé, dans les boîtes, un fragment d'écorce d'orange que nous avons laissé

en présence du champignon pendant cinq heures. Après l'un ou l'autre de ces traitements, les sporanges étaient mis à germer dans l'eau distillée.

Les témoins correspondant à chacun de ces tests étaient respectivement constitués par des sporanges prélevés dans les mêmes boîtes. Ils subissaient, après leur mise en suspension, un nouveau traitement consistant soit en un second passage dans l'éthylène, soit en un séjour de cinq heures en présence d'un fragment d'écorce d'orange.

En aucun cas, le prétraitement à sec ne s'est révélé efficace. Les témoins, par contre, permettent d'enregistrer les mêmes résultats positifs que précédemment. Il semble donc qu'on puisse conclure que les agents stimulants ne peuvent agir qu'en présence d'eau.

Une réserve pourrait cependant être faite. Il est, en effet, possible que le thalle, auquel ils sont encore attachés, exerce, sur les sporanges, une inhibition par l'intermédiaire des sporangiophores. Mais, d'une part, nous avons réussi à faire germer les sporanges *in situ* en les couvrant d'une gouttelette d'eau additionnée de jus d'orange ; d'autre part, détachés des sporangiophores et placés à sec au voisinage d'un fragment d'écorce d'orange, ils ne germent pas quand on les transporte dans une goutte d'eau.

Pour déterminer le moment où les agents stimulants sont efficaces, nous avons ajouté de petites quantités de jus d'orange

TABLEAU XIII

Délai d'apparition de la sensibilité aux agents stimulants et temps de réponse.

Séjour, en heures, dans l'eau distillée avant l'addition de jus d'orange	Délai d'apparition des tubes germinatifs, en heures	Temps écoulé depuis l'addition du stimulant, en heures
0	2 h	2 h
0 h 30	2 h	1 h 30
1 h	2 h 20	1 h 20
1 h 30	2 h 50	1 h 20
2 h	3 h 20	1 h 20
2 h 30	3 h 50	1 h 20
3 h	4 h 20	1 h 20
3 h 30	4 h 50	1 h 20
4 h	5 h 20	1 h 20
5 h 30	6 h 40	1 h 10
6 h 30	7 h 50	1 h 20
24 h	25 h 30	1 h 30
48 h	49 h 20	1 h 20

neutralisé, à des temps croissants après la mise en suspension des sporanges dans l'eau pure. Comme le montre le tableau XIII, la stimulation demeure possible au moins 48 heures après l'immersion dans l'eau. Le temps nécessaire pour que ses effets se manifestent est le plus souvent de une heure vingt, enfin, elle ne peut être efficace qu'après trente à quarante minutes de séjour dans l'eau.

C. — CONCLUSION

La germination du *Trachysphaera fructigena* ne s'effectue qu'en milieu liquide. Elle est maximale pour une température de $27^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ et un pH voisin de 6. L'addition de certains jus de fruits au milieu de germination et des produits volatils émis par les fragments de fruits la stimulent fortement. Parmi ces produits volatils, l'éthylène est particulièrement actif et permet, à l'état pur, d'obtenir des pourcentages élevés de germination. Enfin, un passage de courte durée à 6°C suivi d'un retour à la température normale provoque une stimulation marquée, alors qu'un refroidissement prolongé est léthal. Il ressort de ces résultats que les sporanges présentent une dormance vraie. Ils ne peuvent germer en l'absence d'une stimulation d'origine externe, chimique (jus de fruits, gaz issus des fruits, éthylène) ou physique (froid). Comme le froid n'est jamais suffisant pour être efficace dans les zones intertropicales, ils exigent, dans la nature, la proximité de leur hôte ou d'un fragment végétal pour régénérer un nouveau thalle.

Par leur nature, les agents de levée de cette dormance présentent la plus étroite analogie avec ceux qui sont efficaces pour les semences de plantes supérieures. L'éthylène est capable de lever la dormance de tubercules de pomme de terre et de bulbes de glaïeul (VACHA et HARVEY [46]). Certains auteurs ont montré qu'il pouvait provoquer le développement de bourgeons latents (CHOUARD [9]). Enfin, VACHA et HARVEY (loc. cit.) ont montré qu'il était capable de stimuler la germination de graines dormantes.

Le froid joue également, chez les végétaux supérieurs, un rôle non négligeable. La plupart des graines à embryon dormant ne germent qu'après un séjour à basse température en milieu humide et oxygéné (CHOUARD, loc. cit.). Dans le cas du genre *Persica*, par exemple, la germination de la graine, en l'absence d'un refroidissement suffisant, ne se produit qu'après deux ans et fournit une plante anormale ; par contre, après un refroidissement de deux mois, elle germe de façon vigoureuse et produit un arbre sain (FLEMION [16]). Le froid conserve son efficacité après la germination : la plante anormale issue de la graine non traitée souffre

d'un « nanisme-dormance » (CHOUARD, loc. cit.), qui peut, lui aussi, être levé.

Ces exemples montrent qu'il existe certainement plus que des analogies entre le cas du *Trachysphaera* et celui d'autres végétaux, mais les études qu'ils ont suscitées ne fournissent que peu de renseignements sur le mécanisme proprement dit de levée de la dormance. Cependant, l'étude de la germination des graines et des spores a parfois permis de connaître la nature de l'inhibition :

1° L'imperméabilité à l'eau des enveloppes s'oppose à la germination de certaines graines (SCHIMPER [40]) et de certaines spores de champignon (GOTTLIEB [19]). Il ne peut être question, ici, qu'un tel mécanisme intervienne car la pénétration rapide des colorants vitaux prouve que le sporange n'est pas imperméable à l'eau.

2° L'imperméabilité à l'oxygène ou au gaz carbonique (AKAMINE, [2]) ne peut non plus être invoquée. On concevrait mal en effet que les enveloppes arrêtent les molécules d'O² ou de CO² et laissent passer celles de l'éthylène.

3° TETJUREV [44] a découvert, chez les plantes supérieures, des inhibiteurs solubles qui disparaissent après plusieurs lavages des graines. Un tel mécanisme se rencontre chez certaines Urédinales (GOTTLIEB, loc. cit.), mais ne peut exister chez le *Trachysphaera* car nous avons lavé les sporanges dans cinq eaux bi-distillées successives et pendant des temps forts longs sans obtenir de germination.

4° D'après STACKMAN et HARRAR [42], certaines substances agiraient en diminuant la tension de surface de l'eau et en permettant ainsi sa pénétration. Ce phénomène ne peut expliquer la germination des sporanges puisque, comme nous l'avons déjà dit, ils sont perméables à l'eau dès qu'on les immerge.

5° Nombreuses sont les spores de champignons qui germent mieux sur un milieu nutritif que dans l'eau bidistillée et on a pu, dans certains cas, montrer que ce milieu supplée à un besoin en facteur de croissance (STACKMAN et HARRAR, loc. cit.). Il est difficile de penser que les sporanges du *T. fructigena* présentent un tel besoin car, si le jus d'orange et, à la rigueur, l'éthylène apportent des éléments qui peuvent leur manquer, le froid ne fournit aucun corps nouveau et suffit cependant à provoquer la germination.

6° Puisque le sporange n'exige aucun corps nouveau pour germer, les agents stimulants ne peuvent agir que sur des chaînes de synthèses qui lui sont propres, soit en les réprimant, soit en entraînant leur déclenchement.

Un autre fait est à souligner : les agents de levée de dormance ne sont actifs qu'une demi-heure après la pénétration de l'eau dans

les sporanges. Il semble donc que la stimulation ne soit possible qu'après une phase préliminaire. Cette première indication sera rapprochée des observations que nous allons effectuer lors de l'étude des faits morphologiques qui marquent les étapes de la germination.

III. — LES ÉTAPES DE LA GERMINATION DU SPORANGE

Nous savons maintenant lever la dormance des sporanges et rien ne s'oppose plus à l'étude détaillée de leur germination. Au cours de celle-ci se succèdent des phénomènes accessibles à l'observation directe et des modifications physiologiques qui permettent de délimiter un certain nombre de stades. L'objet de ce chapitre est de définir la nature et la succession de ces stades.

A. — ÉTUDE DESCRIPTIVE

La germination se produit très facilement dans un milieu constitué par de l'eau distillée additionnée de jus d'orange puis neutralisée. Les sporanges, mis en suspension dans ce milieu, sont déposés un à un dans de petites gouttelettes sur une lamelle que l'on retourne sur une chambre à huile pour micro-manipulation. Ce dispositif est parfaitement adapté à la microchirurgie et à l'observation microscopique. Il présente, en raison de l'« effet de masse » (BROWN [4]) que nous avons signalé plus haut, l'inconvénient de diminuer le pourcentage de germination.

Comme certains phénomènes ne sont décelables que lorsqu'ils sont accélérés, on ne peut les faire apparaître qu'en effectuant une étude microcinématographique. Au cours de cette étude réalisée avec un appareil Zeiss, la technique de germination en chambre à huile doit être abandonnée car elle laisse trop de latitude aux hyphes qui sortent souvent du plan d'observation. Pour les prises de vue très grossies, des suspensions contenant environ dix sporanges par mm³ sont placées entre lame et lamelle et leur évaporation est évitée par un anneau d'huile de paraffine que l'on dépose autour de la goutte de suspension avant de la recouvrir de la lamelle.

1. PÉRIODE DE LATENCE APPARENTE

Dès que les sporanges sont plongés dans l'eau, leur protoplasme se met en mouvement. Ce phénomène est rendu visible par le déplacement des inclusions. Des mouvements tourbillonnaires, qui rappellent les courants de convection d'un fluide chauffé, prennent naissance en un point quelconque du sporange et bouclent

de petits circuits de cinq à six microns de diamètre. Comme ils sont très lents (leur vitesse est de l'ordre de $0,3 \mu$ par seconde), le cinéma seul permet de les mettre en évidence.

Ces déplacements du protoplasme nécessitent l'intégrité du sporange car toute lésion les fait instantanément cesser. Si, par exemple, on perce la paroi à l'aide d'une aiguille, l'agitation cesse immédiatement. Dans l'eau pure, ils peuvent persister plus de 48 heures sans qu'aucun autre phénomène se produise.

Comme l'observation à sec ne permet pas de distinguer la structure interne des sporanges, nous les avons plongés dans de l'huile de paraffine afin de savoir si les tourbillons protoplasmiques se produisent avant la mise en suspension dans l'eau. Dans ces conditions, nous n'avons pu observer aucun déplacement du protoplasme. L'eau semble donc nécessaire à l'installation des mouvements d'agitation et les provoque en l'absence de toute autre stimulation.

2. EMISSION DES HYPHES GERMINATIFS.

La présence, dans l'eau, d'un agent stimulant (jus d'orange ou éthylène) provoque l'émission d'un ou plusieurs hyphes germinatifs, au bout de deux à trois heures selon l'âge des sporanges. Chez les plus âgés, le temps de latence qui précède cette émission est très variable et peut atteindre trois heures. Par contre, les sporanges prélevés sur les jeunes thalles germent de façon assez groupée, deux heures environ après avoir été mis en suspension.

Les tubes germinatifs naissent entre les apicules de la paroi. Leur nombre est variable, nous en avons compté de un à sept,

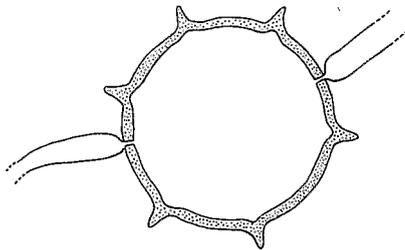


Fig. 5. — Insertion des tubes germinatifs sur le sporange. On notera l'étréoussesse de la lumière par laquelle ils communiquent avec lui.

et leur apparition peut être simultanée ou successive. Dans ce dernier cas, il arrive que des intervalles de temps assez longs (trois et même quatre heures) s'écoulent entre l'émission du premier et celle du dernier. Ils communiquent avec le sporange par une étroite lumière dont le diamètre est environ dix fois plus petit que le leur (fig. 5).

La croissance des hyphes germinatifs est très irrégulière. Les courbes présentées par la fig. 6 mettent en évidence des irrégularités. Ils peuvent cesser de croître peu de temps après leur apparition, interrompant ainsi, si ils sont seuls, le déroulement visible de la germination et, cela, pendant un laps de temps pouvant atteindre une demi-heure. Après ce délai ils reprennent leur élongation ou sont relayés par un autre filament.

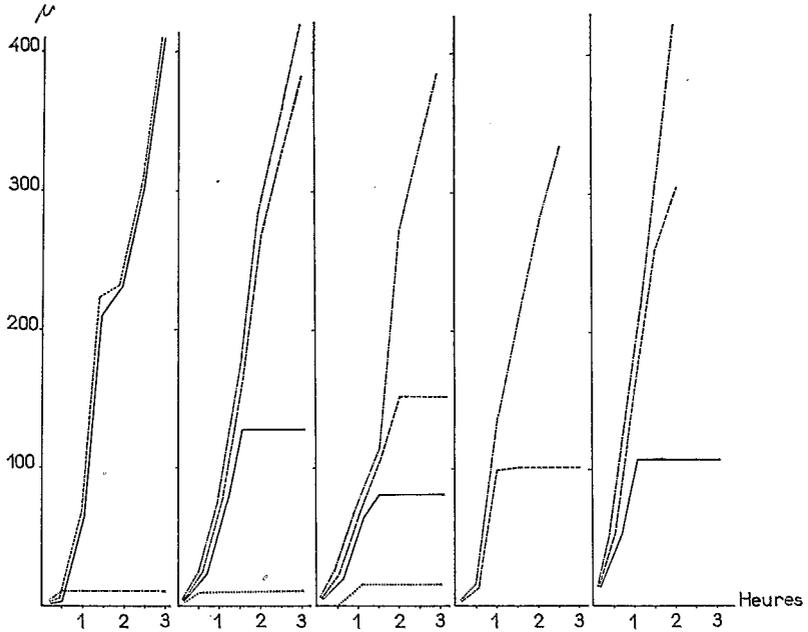


Fig. 6. — Croissance des tubes germinatifs au cours des trois heures qui suivent leur émission. Chaque série de courbes représente l'élongation des hyphes issues d'un sporange. On a porté, en abscisse, le temps de croissance en heures et en ordonnée la longueur des hyphes en microns.

On ne constate jamais d'arrêt total de la croissance du thalle juvénile quand il y a plus d'un tube germinatif. Par contre, les arrêts partiels semblent être la règle : dans 95% des cas, un, deux ou trois hyphes cessent momentanément ou définitivement leur élongation alors que les autres continuent à croître.

Chez le *T. fructigena*, de même que chez tous les champignons dont on a étudié la croissance, l'allongement des hyphes se produit au niveau de l'apex. Jamais, en effet, nous n'avons constaté l'élongation des portions de filaments comprises entre les rameaux. Cependant, lors de la reprise qui succède à un arrêt momentanément

de croissance, le sommet du tube germinatif n'intervient pas dans sa totalité. Seule une très petite portion de sa membrane est intéressée et tout se passe comme si un rameau naissait à son extrémité (fig. 7). Comme dans le cas de l'apparition des hyphes sur le sporange, la ramification néoformée est séparée de l'organe qui la porte par une constriction ; mais cet étranglement s'élargit peu à peu, alors que la lumière qui assure la communication du sporange avec les tubes germinatifs demeure étroite.

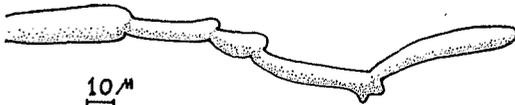


Fig. 7. — Reprises de croissance successives de l'apex d'une hyphe germinative. Seule une surface réduite de la membrane est intéressée.

La vitesse moyenne de croissance des hyphes germinatifs à 26° C est de 3,2 μ à la minute. Nous l'avons établie en considérant l'élongation des filaments au cours des trois heures qui suivent leur apparition. Cette vitesse moyenne, bien qu'elle recouvre une grande variabilité des valeurs instantées (fig. 6), est à peu près constante (2,7 à 3,5 μ à la minute). Elle est indépendante du nombre d'hyphes formés par le sporange et du diamètre de ce dernier.

Si l'on considère la croissance globale du thalle juvénile, on peut tracer les courbes de la fig. 8. On voit qu'elles affectent un aspect analogue à celui des courbes de la fig. 6 dont elles représentent la somme. Ce sont, à quelques irrégularités près, des courbes en S, présentant une phase de croissance exponentielle courte, une phase linéaire dont la durée est comprise entre une et quatre heures et une phase de ralentissement dont la concavité est très atténuée.

Dans l'eau distillée, on aboutit ainsi, après une dizaine d'heures, à un palier traduisant l'arrêt général de la croissance. Il arrive, peu avant cet arrêt, que certains apex se vident entièrement de leur substance et se séparent du reste du thalle par une cloison. Avant la fermeture de la cloison, le protoplasme de ces apex reflue vers les portions plus âgées du thalle qui, en quelque sorte, le récupèrent.

L'agitation du contenu du sporange persiste jusqu'au moment où son protoplasme a migré dans les tubes germinatifs et est remplacé par des vacuoles, ce qui, à 26° C, demande une dizaine d'heures environ.

Dès la sortie des tubes germinatifs et quelle que soit la nature du milieu, on constate qu'ils sont le siège de mouvements protoplasmiques de deux types.

Les premiers consistent en un déplacement continu et relativement lent du contenu des hyphes qui chemine vers l'apex par le centre des filaments et en revient par la périphérie.

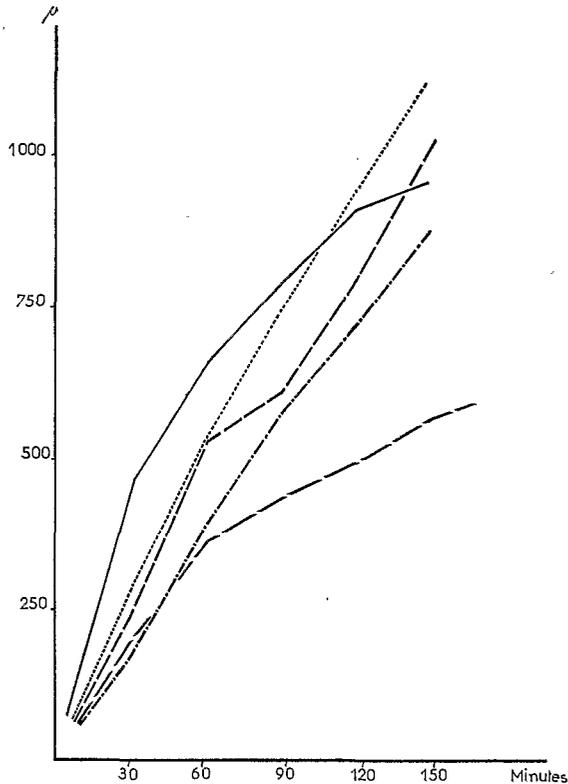


Fig. 8. — Croissance globale des hyphes germinatives.

On a porté, en abscisse, le temps de croissance en minutes et, en ordonnée, la somme des longueurs des hyphes émis par un sporange en microns. Chaque courbe est la somme d'une des séries représentées sur la fig. 8.

Les seconds résultent de pulsations brutales, nées au niveau du sporange, qui poussent le protoplasme vers l'apex. Ces pulsations se produisent à intervalles de temps variables, mais sont assez fréquentes (deux à trois dans l'heure).

Si on lèse un hyphe dès son apparition, il est relayé au bout d'un certain temps (une heure dans le cas de l'expérience), quand la perte de cytoplasme n'a pas été trop abondante, par un second

filament. Il semble que, dans ce cas, tout se passe comme si la spore « ignorait » l'accident survenu au premier. En effet, la poussée augmente au sein du sporange dans de telles proportions que le second filament s'avère incapable de la compenser et éclate, après un court temps de croissance. Il n'existe donc pas de mécanisme régulateur de la poussée provenant du sporange et celle-ci paraît être indépendante du degré de développement du thalle. Ceci se comprend si cette poussée est la conséquence d'un phénomène purement physique, par exemple, l'augmentation de la pression osmotique.

Nous avons donc tenté de mesurer cette pression dans les sporanges après des temps de séjour de plus en plus longs dans un milieu propice à leur germination (eau distillée + jus d'orange à pH = 7,0). Pour cela, nous avons ajouté des quantités déterminées de glucose à des suspensions de sporanges, après des délais de durée croissante.

Le tableau XIV qui résume cet essai montre que la pression osmotique augmente jusqu'à un maximum qui est atteint au bout d'une heure. Elle décroît brusquement lors de la sortie des tubes germinatifs, demeure à peu près constante pendant les trois heures qui suivent leur apparition, puis fléchit. La pression interne des

TABLEAU XIV

Pourcentage de sporanges plasmolysés en fonction du temps de séjour dans le milieu de germination et de la pression osmotique.

Pression osmotique en Atm.	Temps de séjour dans le milieu de germination										
	0	15 minutes	60 minutes	2 h 30		3 heures		4 heures		5 heures	
				germées	non germées	germées	non germées	germées	non germées	germées	non germées
21,7	47	31	33	61	33	58	38	66	37	96	40
24,0	64	62	67	65	72	87	60	80	68	100	62
26,7	83	84	77	86	73	92	66	83	74	100	70
29,4	97	85	80	100	86	100	61	96	86	100	77
32,0	100	84	80	100	85	100	81	100	89	100	74
34,7	100	92	88	100	88	100	80	100	89	100	83
37,4	100	94	88	100	90	100	85	100	87	100	93
40,0	100	99	91	100	92	100	86	100	95	100	97
42,7	100	100	95	100	97	100	91	100	100	100	100
45,4	100	100	97	100	100	100	100	100	100	100	100
48,0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

rare sporanges qui ne germent pas demeure voisine du maximum jusqu'à la troisième heure puis paraît diminuer.

L'observation microscopique et microcinématographique de la période juvénile, c'est-à-dire de la période de germination du sporange, met donc en évidence deux phases :

1° Un stade de latence au cours duquel le seul phénomène visible est l'agitation du protoplasme. Celle-ci est déclenchée par l'eau seule et commence dès que le sporange est à son contact. En l'absence de toute stimulation, elle peut durer plus de 48 h.

2° Un stade au cours duquel les hyphes germinatifs sont émis et croissent. Ce stade est déclenché par un des agents stimulants que nous avons découverts et dure jusqu'à l'épuisement des réserves du sporange. En l'absence de matériaux énergétiques, cette phase se termine par la mort du jeune thalle. Par contre, dans une solution nutritive, telle, par exemple, que le bouillon de pomme de terre, les tubes germinatifs continuent à croître et même accélèrent leur vitesse d'élongation.

B. — COMPARAISON AVEC UN AUTRE TYPE DE GERMINATION : L'ASCOSPORE DU *PODOSPORA ANSERINA* RHEM.

Les faits les plus remarquables concernant les tubes germinatifs sont les variations considérables de leur vitesse de croissance, leur mode sympodial de développement et les mouvements saccadés de leur protoplasme. Pour en comprendre le déterminisme nous avons comparé la germination des sporanges de *T. fructigena* à celle des ascospores d'une Sordariacée fimicole, le *Podospora anserina* Rhem dont les filaments germinatifs présentent des caractéristiques différentes.

Les seuls organes de dissémination et de conservation que possède ce champignon sont des ascospores qui affectent, quand elles sont jeunes, la forme d'une raquette. Elles contiennent, d'abord, deux noyaux de signes différents puis sont le siège, pendant la période de maturation, de divisions synchrones qui portent à quatre le nombre de leurs noyaux. Trois des noyaux-fils demeurent dans la partie enflée de la raquette et le quatrième passe dans le prolongement qu'une cloison vient séparer du reste de l'ascospore. Par la suite, ce dernier noyau dégénère ainsi que le protoplasme qui l'entoure et le prolongement se transforme en un appendice stérile, tandis que les parois de la partie enflée se mélanisent et s'épaississent en ménageant, à l'extrémité opposée à l'appendice, un pore germinatif. Deux prolongements filamenteux, constitués par de simples condensations de l'épiplasme, sont fixés aux extrémités de l'ascospore mûre.

Les ascospores du *P. anserina* sont dormantes : mais on sait les faire germer en les soumettant à une température de 40°C pendant une heure après les avoir mises en suspension dans l'eau. L'obstacle à la germination ne provient pas d'une imperméabilité des membranes car on voit parfois des ascospores desséchées absorber de l'eau en émettant de petites bulles d'air par leur pore germinatif. Cependant il faut noter que la pénétration de l'eau est beaucoup moins rapide que dans le cas du *T. fructigena*. En effet, alors que, dans le cas de ce dernier, les sporanges déshydratés se gonflent très vite, les bulles se forment très lentement.

La germination de l'ascospore s'effectue après une période de latence apparente qui dure environ deux heures trente après la sortie de l'étuve à 40°C. Une vésicule protoplasmique se forme alors au niveau du pore germinatif et atteint, en trois quarts d'heure environ, un volume maximum sensiblement égal au tiers de celui de la spore. Au cours de sa formation, elle subit de brutales poussées protoplasmiques analogues à celles que nous avons décrites chez le *T. fructigena*. Ces poussées peuvent distendre sa membrane dont l'élasticité est suffisante pour compenser les variations de la pression interne.

Une dizaine de minutes après que la vésicule ait atteint sa taille définitive, elle émet des tubes germinatifs qui peuvent naître simultanément ou successivement. Leur nombre, compris entre un et cinq, est de trois dans soixante pour cent des cas. Comme il existe trois noyaux fonctionnels dans l'ascospore mûre, on pourrait supposer que chacun d'entre eux est à l'origine d'un hyphe, mais cette hypothèse est infirmée par le fait que tous les filaments issus de la vésicule donnent naissance à des thalles qui sont homothaliques et contiennent donc les deux types nucléaires.

La vitesse moyenne de croissance des hyphes germinatifs est de 2,5 μ /m environ à 24°C. Elle est susceptible de quelques variations, mais on n'observe jamais les arrêts que nous avons signalés chez le *T. fructigena*. Quand les tubes germinatifs apparaissent simultanément, tous s'allongent à la même allure. Par contre, lorsque leur naissance est successive, l'élongation du dernier formé est plus rapide, si bien que la longueur des filaments issus de la vésicule tend à s'uniformiser.

Des rameaux apparaissent sur les tubes germinatifs deux heures et demie à trois heures après la formation de la vésicule. Leur naissance est précédée d'un ralentissement des hyphes qui les détachent. Dans cinquante pour cent des cas, leur vitesse d'élongation est, dès le début, inférieure à celle des filaments qui les portent. Dans les cinquante pour cent restants, elle est d'abord égale, puis elle diminue et devient inférieure. L'axe principal ne cessant jamais

de croître, le jeune thalle du *P. anserina* édifie donc un monopode avec dominance de l'axe principal sur les rameaux.

Les mouvements du protoplasme se distinguent mal à travers les enveloppes épaisses et brunes de l'ascospore. Par contre, ils sont bien visibles dans la vésicule et les tubes germinatifs. La formation de la vésicule est un phénomène passif en apparence : l'ascospore injecte son protoplasme par saccades au travers du pore germinatif et constitue ainsi un diverticule sphérique dans lequel on ne distingue aucun mouvement ordonné. Quand la vésicule a atteint son volume définitif, par contre, des tourbillons analogues à ceux que nous avons décrits chez le *T. fructigena* entraînent le protoplasme dans des mouvements qui s'accroissent jusqu'au moment où est émis le premier tube germinatif. Ici encore, ils sont trop lents pour être décelés autrement que par microcinématographie.

Des courants protoplasmiques réguliers s'établissent bientôt dans les filaments. Comme chez le *T. fructigena*, ils transportent le protoplasme vers l'apex par le centre des hyphes et font retour par la périphérie. Très rapidement, apparaissent, dans les filaments, des vacuoles qui sont transportées vers la vésicule où elles confluent.

La germination du sporange du *T. fructigena* présente donc des différences notables avec celle de l'ascospore du *P. anserina*. Les unes concernent les mouvements du protoplasme, les autres la croissance des hyphes germinatifs.

Le sporange du *T. fructigena* émet directement des tubes germinatifs dans lesquels se produisent de brutales pulsations protoplasmiques. L'ascospore du *P. anserina*, par contre, germe par l'intermédiaire d'une vésicule sur laquelle naissent des filaments dont le contenu ne subit aucun mouvement saccadé. Ceci s'explique par le fait que la vésicule, comme nous l'avons vu, est capable de supporter et d'amortir la poussée protoplasmique. Elle fonctionne comme un appareil régulateur qui répartit sans à coup, entre les hyphes germinatifs, le flux du protoplasme issu de l'ascospore.

Chez le *T. fructigena*, en l'absence de vésicule, le flux de protoplasme issu du sporange est directement transmis au réseau de filaments germinatifs. D'autre part, les jeunes hyphes présentent des constriction nombreuses que l'on ne retrouve pas chez le *P. anserina*. Ces étranglements sont à l'origine de pertes de charges locales qui empêchent une répartition égale de la poussée et favorisent les « coups de bélier ».

Le rôle régulateur de la vésicule peut être joué par les hyphes germinatifs eux-mêmes quand leur nombre est assez élevé et leur diamètre suffisant. C'est ce qui se produit chez l'*Ascobolus immersus* Pers., par exemple. Mais, si nous pouvons expliquer

l'atténuation ou la transmission directe des pulsations par l'existence ou l'absence de mécanismes amortisseurs, nous en ignorons encore la cause.

A l'origine de la poussée qui chasse le protoplasme hors des sporanges ou des ascospores, on peut incriminer la pression osmotique. Nous avons en effet constaté, comme nous l'avons montré dans ce chapitre, que cette pression augmente jusqu'au moment où apparaissent les premiers hyphes pour diminuer brusquement dès le début de leur élongation. Le seul phénomène qui puisse expliquer ces variations est l'augmentation du nombre des molécules contenues par le sporange, par exemple par dépolymérisation de substances de poids moléculaire élevé, suivie de leur dilution à mesure que le jeune thalle absorbe de l'eau.

Il reste à déterminer l'origine des saccades. Chez le *P. anserina*, comme chez le *T. fructigena*, elles prennent naissance au niveau d'un étranglement. Le pore germinatif de l'ascospore du premier est très étroit et, chez le second, nous l'avons vu, les hyphes communiquent avec l'intérieur du sporange par des ouvertures dont le diamètre est inférieur à celui de certains organites cellulaires tels que les noyaux. On peut donc supposer que le passage du contenu cellulaire au travers de ces perforations est freiné de temps à autre. L'augmentation de pression, finissant par vaincre l'obstacle, libérerait brusquement le protoplasme momentanément endigué qui, subitement injecté dans les hyphes, provoquerait les saccades que nous avons observées.

En ce qui concerne la croissance des hyphes germinatifs, d'autres différences apparaissent. Les filaments germinatifs du *T. fructigena* présentent de fréquents arrêts d'élongation, ils se ramifient selon le mode sympodial et leur courbe de croissance globale, qui représente la somme des élongations dont sont l'objet les hyphes issus d'un même sporange, est linéaire (fig. 8). Ceux du *P. anserina*, par contre, s'allongent continuellement, ils édifient des monopodes et leur courbe de croissance globale a une allure exponentielle. (fig. 9).

Nous avons vu que, chez le *P. anserina*, la vésicule constitue un organe régulateur qui répartit le protoplasme dans les tubes germinatifs. Chez le *T. fructigena*, qui ne possède pas un tel organe, les hyphes germinatifs sont en relation directe avec le sporange et, comme leur lumière est très petite, il pourrait arriver qu'elle soit obstruée. L'hyphe ainsi privé de tout apport cesserait de croître, tandis que les autres absorberaient le flux de protoplasme issu du sporange.

En fait, nous avons constaté que des filaments peuvent cesser toute élongation sans que leur communication avec le sporange soit interrompue. L'injection de protoplasme cesse alors, mais

simplement parce que la pression est la même dans l'hyphe et dans le sporange. Ceci est prouvé par le fait que, si un rameau se forme au voisinage de la base du filament stoppé, le protoplasme de ce dernier reflue dans le diverticule qui se forme en même temps que le contenu du sporange reprend sa migration vers ce rameau.

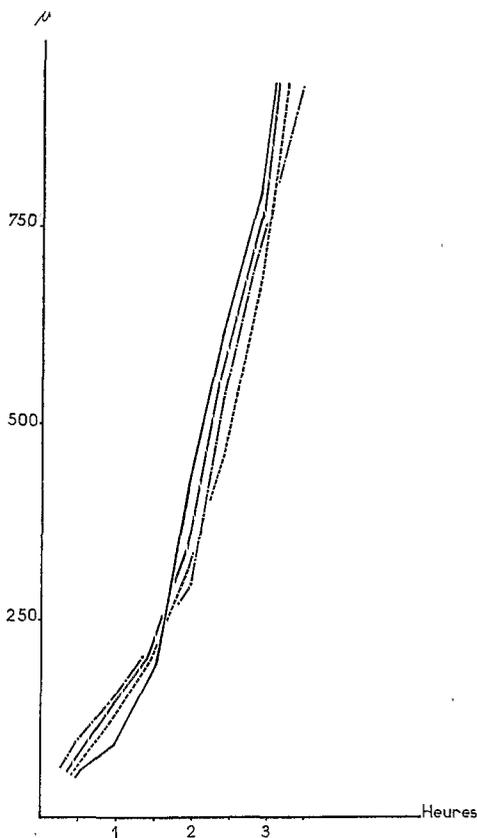


Fig. 9. — Courbe de croissance globale de jeunes thalles du *P. anserina*. On a porté, en abscisse, le temps de croissance en heures et, en ordonnée, la somme des longueurs des hyphes émises par une spore en microns.

Il faut donc chercher ailleurs que, dans les modifications accidentelles de la poussée protoplasmique, la cause des arrêts de croissance qui sont à l'origine du mode sympodial de développement. Par contre, l'explication de la différence existant entre les courbes de croissance globale du *T. fructigena* et du *P. anserina* réside peut être dans la variation de cette poussée.

Chez le *T. fructigena*, aucun courant protoplasmique de retour n'est décelable entre les hyphes germinatifs et le sporange. L'eau qui pénètre dans ce dernier ne peut donc provenir que d'une absorption directe au travers de la membrane et le volume de cette eau ne peut dépendre que de la perméabilité de la membrane et de la quantité de protoplasme cédée aux filaments. Comme la pression osmotique demeure à peu près constante après la diminution constatée lors de l'apparition des tubes germinatifs, il faut admettre que l'augmentation de pression qui correspondrait à l'entrée de l'eau est compensée par un transfert de protoplasme dans le jeune thalle. La somme des élongations partielles de chaque système d'hyphe ramifié porté par un sporange étant constante, il faut également admettre que le jeune thalle reçoit une quantité constante de matière vivante par unité de temps. Par conséquent, l'entrée d'eau dans le système entier s'effectue à vitesse constante. De ce fait, les courbes globales de croissance sont des droites tant que le sporange possède suffisamment de réserves et fléchissent en fin d'élongation, en même temps que diminue la pression osmotique. Ceci ne se conçoit que si la mise en œuvre des réserves, contenues dans le sporange, s'effectue à vitesse constante.

Au niveau de la vésicule du *P. anserina*, par contre, existe un courant protoplasmique de retour qui, très vite, charrie de petites vacuoles. Le nombre et l'importance de ces vacuoles, qui se rassemblent dans la vésicule, augmente avec les dimensions des hyphes germinatifs. L'entrée d'eau dans l'ascospore ne s'effectue donc que très partiellement au travers des enveloppes; elle dépend, pour l'essentiel, de l'apport du jeune thalle. Par suite, si la mobilisation des réserves varie avec l'apport d'eau, le thalle règle leur déplacement en fonction de son propre développement et on s'explique que les courbes globales de croissance soient celles que nous avons tracées. En effet, la vésicule répartissant les réserves de façon harmonieuse, toutes les extrémités en croissance ont le même avenir. Si donc les filaments se ramifient tous et à des intervalles de temps sensiblement constant, l'élongation doit s'effectuer selon une progression géométrique. Comme toutes ces conditions ne sont pas remplies la courbe de croissance globale du *P. anserina* ne coïncide pas exactement avec la représentation d'une telle progression, mais elle s'en rapproche (fig. 9).

C. — ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE ET CYTOLOGIQUE DE LA GERMINATION

1. ACTIVITÉ RESPIRATOIRE AU COURS DE LA GERMINATION.

Cette étude a été réalisée à l'aide d'un respiromètre à volume constant de Warburg. L'ensemble des mesures a été obtenu par la méthode directe (WARBURG [48]).

Les sporanges mis en suspension dans l'huile de paraffine ne consomment pas d'oxygène de façon décelable. Au repos, leur respiration est donc négligeable. Par contre, dès qu'on les plonge dans l'eau et qu'apparaît l'agitation protoplasmique, l'absorption d'oxygène devient notable.

a. *Respiration en l'absence d'agents stimulants :*

La respiration des sporanges en suspension dans l'eau distillée est perceptible dès la fermeture des fioles de Warburg et se maintient très active pendant plus de 24 heures. La vitesse horaire de l'absorption d' O_2 est schématisée par la courbe 1 de la fig. 10 qui représente la moyenne de douze mesures individuelles.

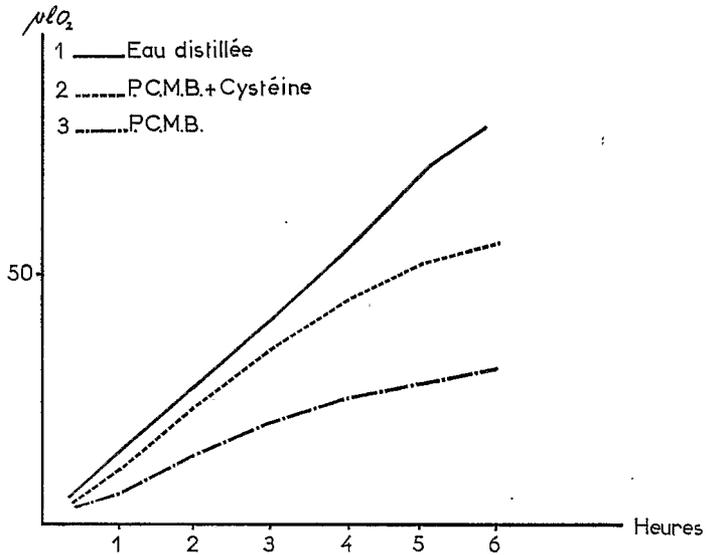


Fig. 10. — Absorption cumulée d'oxygène due à la respiration de 30.000 sporanges plongés dans l'eau distillée pure, dans l'eau distillée additionnée de PCMB $3 \times 10^{-3} M$ et dans l'eau distillée additionnée de PCMB $3 \times 10^{-3} M$ et de cystéine $5 \times 10^{-3} M$.

On a porté, en abscisse, le temps passé dans les fioles de Warburg en heures et, en ordonnée, la quantité d'oxygène absorbée en microlitres.

Cette courbe est linéaire pendant les cinq premières heures. Elle s'infléchit ensuite légèrement en tendant vers un palier qui n'est atteint qu'au bout de 48 heures environ et qui traduit l'arrêt de la respiration.

Pendant toute cette période, le quotient respiratoire se maintient au voisinage de $QR = 0,62$ (intervalle de confiance $\pm 0,05$ pour $P = 0,05$).

Comme le seul phénomène visible est l'agitation au sein du sporange, on peut supposer que l'absorption d'oxygène traduit une dépense d'énergie nécessaire aux mouvements protoplasmiques. Pour nous en assurer, nous avons ajouté, aux suspensions, des corps susceptibles d'inhiber ces mouvements et des poisons respiratoires.

Les poisons respiratoires, tels que l'acide cyanhydrique $0,04M$, bloquent l'absorption d'oxygène mais n'arrêtent pas les mouvements protoplasmiques qui sont seulement ralentis. ALLEN et PRICE [3] avaient déjà mis en évidence un phénomène analogue chez un Myxomycète du genre *Physarum*.

ABE [1] a montré, d'autre part, que l'acide *p*-chloromercuribenzoïque (PCMB) bloque les mouvements de cyclose dans les cellules de la Nitelle. Comme nous savons que ce corps sature les liaisons disulfure et que son action est réversible en présence de

TABLEAU XV

Quantité d'oxygène (en μl par heure) absorbée à 28 °C par 30 000 sporanges en l'absence de tout agent stimulant.

Temps	Milieu					
	Témoin eau distillée	KCN		PCMB		PCMB saturé + cystéine $5.10^{-3}M$
		$4.10^{-2}M$	$4.10^{-3}M$	$3.10^{-4}M$	$3.10^{-3}M$	
0 h	0	0	0	0	0	0
1 h	13,6	0	1,6	10	6,2	12
2 h	11,4	0	1,9	11,1	7,3	12
3 h	15,3	0	0,9	9,2	6,7	12
4 h	15,3	0	2,1	10	4,5	10
5 h	14,1	0	1,4	7,6	3	6,3
6 h	12,8	0	—	7,5	3	2,9
7 h	13,2	0	—	—	1,2	3,1
24 h	8,8	—	—	—	—	—

thiols, nous l'avons testé d'abord seul, puis en mélange avec du chlorhydrate de cystéine.

A la concentration de $3 \cdot 10^{-4}M$, il réduit légèrement la respiration et ralentit notablement l'agitation du protoplasme des sporanges. A saturation, il supprime complètement les mouvements protoplasmiques sans arrêter l'absorption d'oxygène. En présence de cystéine, l'agitation redevient normale et la respiration s'accélère pour reprendre le niveau atteint par les suspensions témoins.

Ces résultats sont représentés par les courbes de la fig. 10 et résumés par le tableau XV.

Pour mieux faire ressortir le phénomène, nous avons tenté de rapprocher nos observations en un seul tableau, le tableau XVI.

Les acides cyanhydrique et *p*-chloromercuribenzoïque empêchent la sortie des tubes germinatifs et cela quelle que soit la nature du stimulant. En leur absence et quand on soumet les sporanges à l'action d'un des agents capables de lever la dormance, les filaments germinatifs apparaissent après une période d'agitation protoplasmique dont la durée minimale est de deux heures.

TABLEAU XVI

Variation comparée de la respiration et des mouvements d'agitation protoplasmique en présence de KCN et de PCMB

Milieu de germination	Agitation	Respiration
Eau distillée	++++	++++
KCN $4 \cdot 10^{-8}M$	+++	+
KCN $4 \cdot 10^{-2}M$	++	0
PCMB $3 \cdot 10^{-4}M$	++	++
PCMB $3 \cdot 10^{-8}M$	0	++
PCMB $3 \cdot 10^{-8}M$ + cystéine $5 \cdot 10^{-8}M$	++++	++++

b. Respiration en présence d'agents stimulants :

Durant la première heure, les sporanges en suspension dans l'eau distillée pure, dans l'eau distillée additionnée de jus d'orange ou dans le bouillon de pomme de terre absorbent des quantités d'oxygène identiques. Au cours de la deuxième heure, on enregistre une augmentation brutale de la respiration en présence de bouillon de pomme de terre ou de jus d'orange, tandis qu'aucune variation n'apparaît dans l'eau pure. Par la suite, dans le bouillon de pomme de terre, l'activité respiratoire s'accélère encore puis se stabilise à un niveau élevé ; dans l'eau distillée, elle demeure cons-

tante et dans l'eau distillée additionnée de jus d'orange, elle demeure d'abord constante puis fléchit au bout de cinq heures.

Enfin, si l'on introduit tardivement du jus d'orange dans l'eau distillée, on constate une accélération comparable à celle qui se produit au cours de la deuxième heure, lorsque l'agent de levée de dormance est présent dès le début.

Pendant les deux premières heures, le quotient respiratoire demeure égal à 0,60 ($\pm 0,08$), c'est-à-dire qu'il n'est pas différent de celui que nous avons déjà mesuré en l'absence d'agent de levée de la dormance. Il se stabilise ensuite au voisinage de 1, que la suspension contienne des aliments ou non.

Ces résultats sont résumés par le tableau XVII et par les courbes de la fig. 11.

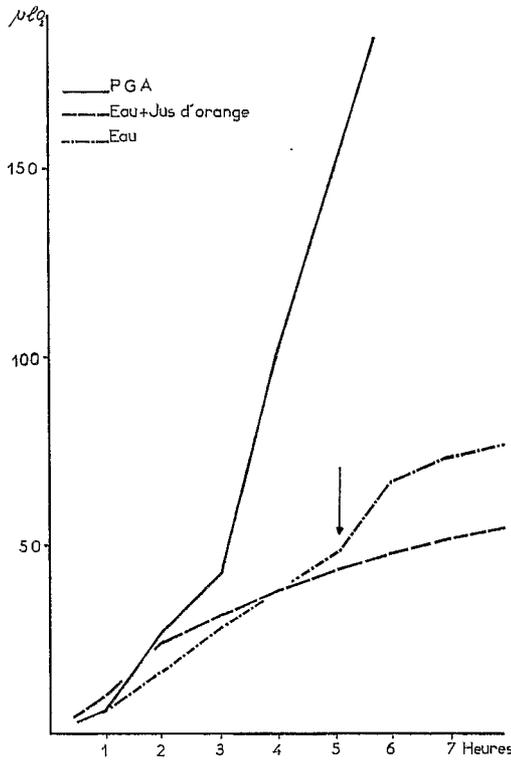


Fig. 11. — Absorption cumulée d'oxygène due à la respiration de 25.000 sponges en présence d'un agent de levée de dormance. On constate que la courbe représentant l'absorption d'oxygène dans l'eau distillée s'élève brusquement quand on ajoute du jus d'orange. (PGA signifie bouillon de Pommes de terre glucosé).

TABLEAUX XVII

Quantité d'oxygène, en μ l, absorbée par heure à 28°C par 25 000 sporanges, en présence d'agents stimulants

Temps	Milieu		
	Eau distillée + jus d'orange	Bouillon de pomme de terre	Eau distillée
0	0	0	0
1	11	9,1	9
2	16,5	18	10
3	6,5	19	12
4	6	54	8
5	5	51	9,5
6	5	53	Add. jus d'orange 20
7	6	56	5
8	3	—	4

2. EVOLUTION DU VACUOME

L'évolution du système vacuolaire du jeune thalle a été étudiée, en l'absence de toutes substances énergétiques, dans l'eau additionnée de jus d'orange.

Comme nous l'avons dit au début de ce mémoire, le sporange au repos contient une ou plusieurs vacuoles colorables par le rouge neutre au 1/80.000^e. Ces vacuoles demeurent bien visibles pendant l'heure qui suit la mise en suspension, puis se produit un phénomène déjà décrit par GUILLERMOND et GAUTHERET [19] chez les Levures : le colorant est rejeté par le sporange. Il est donc impossible de suivre l'évolution du vacuome par ce procédé.

Par contre, on peut observer d'assez bonnes images en ajoutant, à des intervalles de temps variables, du rouge neutre au milieu de germination. Le jeune thalle prend alors le colorant, cesse de croître, puis, quand il est encore assez vigoureux, l'élimine et reprend son élongation.

Les très jeunes hyphes sont privés de vacuoles décelables. On ne commence à en distinguer qu'au moment où les tubes germinatifs atteignent une longueur de 50 μ environ. Elles apparaissent dans la partie la plus âgée des hyphes et ne se forment jamais

dans la zone apicale qui, jusqu'à l'arrêt de croissance du thalle juvénile, contient un cytoplasme dense.

Par la suite, l'importance du vacuome augmente et les parties âgées des hyphes se vident complètement de leur contenu au profit des apex en croissance. Il faut noter, cependant, que des amas protoplasmiques demeurent dans le thalle en différents points, parfois tout proches du sporange. C'est au niveau de certains de ces amas que se forment probablement les ramifications tardives que l'on voit parfois apparaître sur les vieux filaments. Le plus souvent, en l'absence d'aliments dans le milieu, ils demeurent inertes jusqu'à l'arrêt total de la croissance. A ce moment là, le sporange ne contient plus que des traces de cytoplasme.

C. — CONCLUSION

La seule observation de la morphologie de la germination du *T. fructigena* permet de distinguer trois périodes : une période de repos, une période de latence apparente correspondant à une intense agitation protoplasmique et une période comprenant l'émission et l'élongation des hyphes germinatifs.

Les phénomènes physiologiques qui se produisent au cours de cette germination permettent de caractériser un plus grand nombre de stades qui se superposent, préparent ou suivent les phases morphologiques. Nous en avons délimité cinq que nous avons schématisés par la fig. 12. Leur durée a été évaluée à 24° C.

a. Le premier stade est celui du repos : les sporanges, en l'absence d'eau liquide, n'absorbent pratiquement pas d'oxygène et leur protoplasme est immobile.

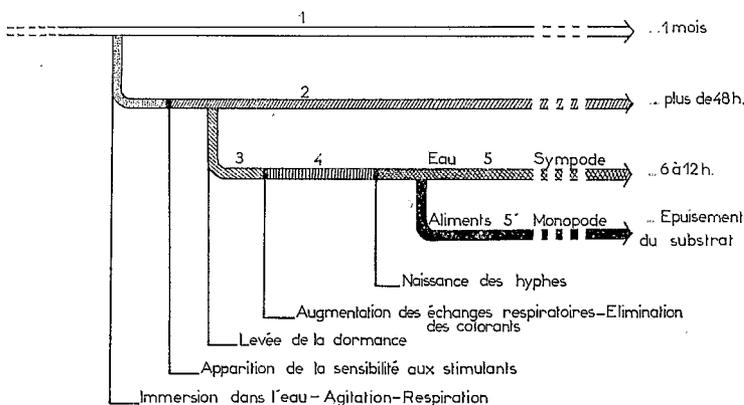


Fig. 12. — Les différents stades de la germination du *T. fructigena*. Chaque bifurcation correspond à l'intervention d'un agent externe.

b. Le second stade commence dès que les sporanges sont plongés dans l'eau ; à ce moment, la respiration devient active et l'agitation protoplasmique intense. Il s'achève, au bout d'une demi-heure à trois quarts d'heure, par l'apparition de la sensibilité aux agents de levée de dormance. En l'absence de stimulation, la respiration et l'agitation se poursuivent pendant cinq heures sans modification ; ensuite, alors que l'agitation persiste sans variation sensible, la respiration subit un léger fléchissement mais elle demeure encore notable après 48 heures.

c. Le troisième stade n'est atteint qu'en présence d'un facteur stimulant. Il ne se traduit par aucune modification des mouvements internes ni de la respiration et se termine, après une demi-heure environ, par l'élimination des colorants vitaux.

d. Au cours du quatrième stade, l'agitation du protoplasme ne paraît pas modifiée mais l'absorption d'oxygène double. La naissance des hyphes germinatifs termine cette phase dont la durée est d'environ une heure. Elle clôt la période de latence morphogénétique.

e. Le cinquième stade commence dès l'apparition des filaments. Le quotient respiratoire, qui jusqu'à ce moment était égal à $QR = 0,6$ devient voisin de $QR = 1$. L'absorption d'oxygène augmente en présence de matériaux énergétiques mais diminue en leur absence. Le mode de croissance est sympodial et le demeure quelles que soient les conditions de milieu.

Les mouvements d'agitation protoplasmique qui constituent le seul phénomène visible au cours des quatre premiers stades peuvent persister en l'absence de respiration puisque le cyanure de potassium, qui bloque cette dernière, ne suffit pas à les arrêter. Par contre, le PCMB les stoppe en n'entraînant qu'une diminution de l'absorption d'oxygène. Ce phénomène, analogue à celui qu'a décrit ABE chez les *Nitella* [1], milite en faveur de l'hypothèse d'après laquelle les liaisons disulfure jouent un grand rôle dans ces mouvements. En effet, le PCMB forme des mercaptides avec les liaisons disulfure et la cystéine, qui permet la reprise de l'agitation, possède une fonction -SH.

Le cyanure de potassium bloque la respiration mais diminue l'agitation et le PCMB bloque l'agitation en diminuant la respiration. Il nous est donc impossible de définir avec certitude la nature du lien entre ces phénomènes. Il peut être indirect, la diminution de l'absorption d'oxygène en présence de PCMB peut être due au fait que les échanges respiratoires, en l'absence de brassage, n'intéressent plus que la portion périphérique du protoplasme du sporange. D'autre part, le cyanure de potassium bloque de multiples enzymes autres que ceux qui interviennent dans la respiration (DAWSON [14]) et le fait qu'il diminue l'agitation ne prouve

nullement que le blocage respiratoire en est directement responsable.

Quoi qu'il en soit, une part au moins de l'oxygène absorbé correspond probablement à une dépense d'énergie provoquée par des phénomènes autres que l'agitation. Ceci est appuyé par le fait que l'activité respiratoire double au cours du quatrième stade sans que les mouvements protoplasmiques s'accélèrent de façon sensible.

Il est curieux de constater qu'au cours de la phase de latence morphogénétique constituée par les second, troisième et quatrième stades, le quotient respiratoire ne varie pas. En effet, des phénomènes physiologiques certainement très différents se produisent au cours de cette période. Comme ils se traduisent tous par un même rapport $\frac{\text{CO}_2 \text{ rejeté}}{\text{O}_2 \text{ absorbé}}$ il est raisonnable de penser qu'ils n'intéressent pas les phénomènes respiratoires.

En l'absence de matériaux énergétiques, le cinquième stade, qui se caractérise par une diminution de l'absorption d'oxygène, est le dernier. En présence d'aliments, par contre, la respiration augmente pour se stabiliser à un niveau élevé quatre heures après la mise en suspension. Les mouvements protoplasmiques que nous avons décrits plus haut demeurent identiques, bien que l'importance et la fréquence des saccades décroissent au fur et à mesure que le thalle juvénile grandit.

IV. — LA CROISSANCE DU THALLE

Comme nous l'avons vu, si le jeune thalle dispose de matériaux énergétiques, l'absorption d'oxygène s'élève au cours du cinquième stade de la germination et finit par se stabiliser à un niveau élevé. Cette variation de la respiration n'est pas le seul phénomène qui caractérise la suite du développement du *T. fructigena*. L'étude du thalle adulte, que nous allons poursuivre jusqu'à l'arrêt de la croissance des filaments, montre, en effet, que d'autres modifications importantes se produisent.

A. — VITESSE DE CROISSANCE

Le *Trachysphaera fructigena* produisant des thalles parfaitement circulaires et d'épaisseur constante pour un même milieu, on peut considérer que le diamètre des cultures est une expression de la croissance du champignon. Afin de déterminer la température pour laquelle cette croissance est optimale, des boîtes de Pétri contenant du bouillon de papaye glucosé et gélosé sont ensemencées en leur centre avec un minimum de spores et placées

à l'étuve à des températures différentes. Quarante boîtes de Pétri sont utilisées pour chaque température et le diamètre des thalles est mesuré toutes les vingt-quatre heures à la loupe binoculaire. Les boîtes sont maintenues à l'obscurité et éclairées lors des mesures.

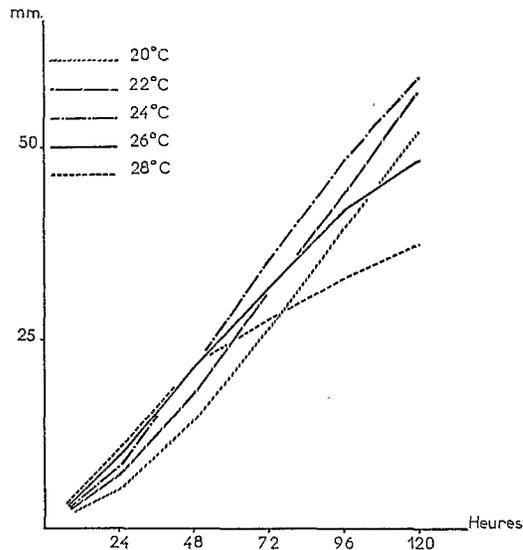


Fig. 13. — Croissance radiale du *T. fructigena* sur bouillon de papaye glucosé et gélosé.

On a porté, en abscisse, le temps de croissance en heures et, en ordonnée, le diamètre des thalles en millimètres.

La fig. 13 montre que les courbes de croissance cumulée ont un aspect classique : après une période exponentielle, on enregistre une phase linéaire suivie d'un fléchissement. Ce fléchissement qui annonce l'arrêt de la croissance se produit d'autant plus vite que la température est plus élevée. Autrement dit, la durée de la phase linéaire d'élongation varie en fonction inverse de la température. L'optimum de croissance cumulée correspond à la température de 24°.

Le tableau XVIII et les courbes de la fig. 13 résument les résultats de cet essai.

Si l'on considère maintenant la croissance journalière et non la croissance cumulée, le tableau XVIII montre qu'on assiste, avec le temps, à un décalage de l'élongation la plus active des températures élevées vers les températures basses. On voit, par exemple, que l'allongement maximum se produit le deuxième jour à la température de 28° C, le troisième à 24° C et le quatrième à 20° C.

TABLEAU XVIII

Croissance radiale journalière, en millimètres, du T. fructigena, sur bouillon de papaye glucosé, en fonction de la température. Le maximum d'élongation est souligné d'un trait pour chaque température.

Temps	Température						d pour P = 0,05
	20 °C	22 °C	24 °C	26 °C	28 °C	32 °C	
4 heures	0	0	0	0	0	0	—
24 —	5,1	6,9	8,2	9,8	10,3	0	5,0
48 —	9,0	10,3	12,8	<u>11,5</u>	<u>10,9</u>	0	4,4
72 —	11,9	<u>13,2</u>	<u>13,7</u>	10,0	5,9	0	4,8
96 —	<u>13,1</u>	<u>12,9</u>	12,8	10,1	5,3	0	4,2
120 —	<u>12,1</u>	12,8	10,6	6,2	4,1	0	4,2
Total	51,2	56,1	<u>58,1</u>	47,6	36,5	0	4,4

Sur bouillon de pomme de terre glucosé et gélosé, le même phénomène se produit, encore qu'il soit moins régulier. Le tableau XIX le met en évidence.

Nous avons montré que la germination est plus rapide et plus abondante à 28° qu'à 20° ou 24 °C. Ceci pourrait expliquer l'avance que prennent au début les thalles cultivés à température élevée, mais aussi bien sur papaye que sur pomme de terre, c'est le deuxième jour, alors qu'on ne peut invoquer l'influence de la germination, que l'élongation est la plus grande pour les températures de 26 et de 28 °C.

La comparaison des tableaux XVIII et XIX montre, d'autre part, que la croissance radiale est plus rapide sur les milieux à

TABLEAU XIX

Croissance radiale journalière, en millimètres du T. fructigena, sur bouillon de pomme de terre glucosé, en fonction de la température. Pour chaque température, l'élongation journalière maximale est soulignée.

Temps	Température				d pour P = 0,05
	22 °C	24 °C	26 °C	28 °C	
24 heures	7,5	8,7	13,8	14,0	5,2
48 —	10,9	12,4	<u>16,5</u>	<u>15,2</u>	3,8
72 —	14,1	13,0	<u>13,9</u>	14,2	4,6
96 —	14,0	16,1	15,2	9,2	3,4
120 —	<u>16,2</u>	<u>17,0</u>	12,1	6,7	3,4
Total	62,7	67,2	<u>71,5</u>	59,4	5,8

la pomme de terre que sur les milieux à base de papaye. Elle permet aussi de noter que la température optimale de croissance cumulée, pour les cinq premiers jours, n'est plus de 24 mais 26 °C. Ceci peut simplement signifier que, le cinquième jour, la courbe de croissance correspondant à 24° n'a pas encore dépassé celle de 26 °C. En effet, l'élongation est significativement plus grande à 24 °C au cours de la cinquième journée. Nous sommes donc amenés à la conclusion assez étonnante qu'on ne peut, dans le cas du *T. fructigena*, parler de température optimale de croissance qu'en précisant la période pendant laquelle elle permet un maximum d'élongation sur un milieu donné.

B. — MODE DE CROISSANCE DES HYPHES

Considérés individuellement, les hyphes végétatifs ont une vitesse de croissance très variable comme en témoigne la courbe de la fig. 14. La vitesse moyenne est de 7 μ /mn sur bouillon de

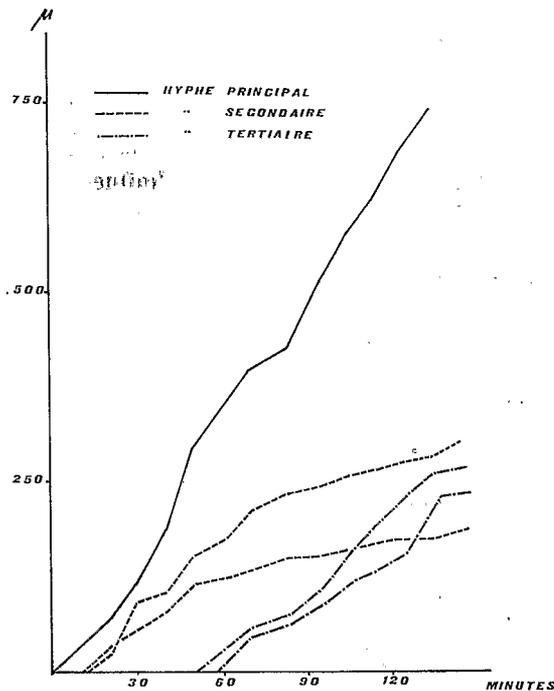


Fig. 14. — Croissance des hyphes adultes du *T. fructigena*. On a porté, en abscisse, le temps de croissance en minutes et, en ordonnée, la longueur des hyphes en microns.

pomme de terre gélosé, c'est-à-dire qu'elle est nettement supérieure à celle des tubes germinatifs qui est seulement de 3,2 μ .

Comme cela a déjà été montré chez d'autres champignons, la formation des rameaux est précédée d'un ralentissement de la croissance de l'hyphe qui les émet. Les courbes de la fig. 14 font apparaître ces ralentissements. Elles montrent également que, sur les milieux nutritifs habituels, la vitesse d'élongation de l'axe principal est plus élevée que celle de ses rameaux et que cet axe ne cesse jamais de croître. Contrairement à celle des filaments germinatifs qui est de type sympodial, la croissance du mycélium adulte est donc de type monopodial et s'accompagne d'une dominance de l'axe sur ses ramifications. Il ne s'agit pas là d'un phénomène simple car, si l'hyphe principale s'allonge plus vite que les rameaux de quelqu'ordre qu'ils soient, les axes tertiaires se développent, au début de leur croissance, plus rapidement que les axes secondaires auxquels par la suite ils se subordonnent. L'établissement de la dominance est donc progressif.

Si l'on réalise un espace privé d'air en couvrant d'une lamelle la frange d'une culture de *T. fructigena* sur milieu gélosé, les hyphes végétatifs n'émettent que de courts diverticules au développement lent et qui très vite cessent de croître. Par contre, dès qu'ils atteignent le bord de la lamelle, ils se ramifient abondamment et édifient des bouquets de sporanges. Ceci ne peut s'expliquer que par une inhibition de la pousse des ramifications consécutives à la présence d'un excès de CO_2 ou à un manque d'oxygène. Au cours de la germination, nous l'avons vu, l'action du CO_2 est moins sélective. Selon le stade où on le fait intervenir, il empêche les hyphes germinatifs d'apparaître, ou provoque un arrêt précoce de leur élongation.

Pendant toute la croissance, le mycélium est traversé par un flot régulier de cytoplasme, en provenance des parties âgées du thalle, qui se dirige vers les apex en voie d'élongation par le centre des hyphes et fait retour par la périphérie. Nous n'avons jamais constaté la présence des mouvements saccadés que nous avons décrits lors de l'étude de la germination.

Les hyphes sont très sensibles à la sécheresse, il suffit d'ouvrir pendant deux heures une boîte de Pétri pour que cesse toute croissance du mycélium superficiel. L'extrémité des hyphes acquiert alors un faciès tourmenté qui rappelle celui des jeunes sporangio-phores.

C. — LA FIN DE LA CROISSANCE

Les sporanges apparaissent très vite sur bouillon de pomme de terre gélosé, les premiers sont formés 48 heures environ après le semis.

L'extrémité d'un rameau court ou plus rarement l'apex d'un filament en croissance cesse de s'allonger, se renfle et constitue une sorte de massue qui va détacher un certain nombre d'hyphes (jusqu'à 11). Ces hyphes à leur tour se renflent à leur sommet qui s'arrondit et se couvre d'apicules. Un flot de cytoplasme traverse l'ensemble du sporangiophore pendant l'édification de ces organes successifs. Lorsque les jeunes sporanges sont formés, on ne distingue plus de courant de retour et le protoplasme est injecté dans leur enveloppe qu'il semble gonfler comme un ballon. Au cours de cette dernière phase, le filament porteur du sporange cesse complètement de croître. Son élongation ne reprend qu'au moment où les sporanges ont atteint leur taille définitive et se sont isolés du sporangiophore par une cloison.

Parfois, le déroulement des opérations est simplifié et il ne se forme qu'un sporange qui s'arrondit au sommet du sporangiophore. Parfois, par contre, se constituent des chaînes de vésicules. Ce phénomène est particulièrement fréquent sur les milieux très enrichis en glucose. Il ne consiste pas en une germination successive des sporanges formés. En effet, d'une part on ne constate pas la formation de cloisons individualisant les vésicules intermédiaires, d'autre part, ce sont les apicules et non des hyphes nés entre les apicules comme les hyphes germinatifs qui se développent et portent à leur extrémité les sporanges (fig. 2).

D. — CONCLUSION

La croissance du thalle adulte présente de nombreuses analogies avec celle du thalle juvénile. Dans l'un et l'autre cas on rencontre ces mouvements réguliers du protoplasme qui ont été décrits chez la plupart des champignons, mais on n'observe pas, dans le mycélium adulte, les saccades qui déplacent brutalement le contenu des hyphes germinatives. Cette différence peut s'expliquer par le fait que le flux protoplasmique n'a plus pour origine un seul sporange, mais provient de l'ensemble d'un thalle assimilateur au sein duquel les variations de pression osmotique et de viscosité se compensent. L'ensemble du thalle joue, en fait, le rôle régulateur que nous avons attribué plus haut à la vésicule du *P. anserina*.

Il est curieux de constater que l'absence des poussées anarchiques du cytoplasme coïncide, dans les deux cas, avec la disparition des arrêts d'élongation des apex et l'apparition d'une croissance de type monopodial. En effet, alors que le thalle juvénile édifie des sympodes, le thalle adulte est un véritable monopode. De plus, les filaments végétatifs témoignent d'une dominance

apicale nette et il semble que les ramifications ne puissent apparaître qu'à une certaine distance de l'apex en croissance. Enfin cette dominance est plus sensible sur les rameaux de premier ordre que sur ceux de deuxième ordre. Au début de leur croissance, en effet, ces derniers s'allongent plus rapidement que les ramifications primaires auxquelles ils se subordonnent par la suite.

Tous ces faits ne sont pas sans rappeler les phénomènes qui se produisent chez les végétaux supérieurs et l'on peut caractériser, dans le développement du *T. fructigena*, des étapes ou des changements analogues à ceux que l'on rencontre chez les plantes vasculaires. Après une période juvénile caractérisée, entre autre, par une ramification sympodiale, s'installe un stade adulte au cours duquel le thalle affecte l'allure d'un monopode et conserve ce mode de croissance grâce à un système de dominance complexe. Enfin, comme chez les Phanérogames, le développement s'achève par la différenciation définitive des apex en organes reproducteurs. De même que, dans le cas des fleurs prolifères, cette différenciation est, au début, réversible : comme le méristème apical de la plante supérieure qui balance entre une destinée végétative et un accomplissement floral, l'apex des hyphes fongiques hésite entre la formation du sporange et celle de la vésicule.

V. — RÉSUMÉ ET CONCLUSION

La reproduction asexuée du *T. fructigena* est assurée par des organes sphériques pourvus d'échinules dont nous avons discuté la nature : ils sont assimilables à des sporanges qui germent en émettant des filaments et sans avoir au préalable différencié de spores.

Ce champignon parasite certains fruits tropicaux dans lesquels il s'introduit en utilisant des ouvertures naturelles ou des blessures des enveloppes. Sauf dans le cas de la poire d'avocat dont les lenticelles constituent une voie de passage facile pour le mycélium, les infections expérimentales ne permettent pas d'obtenir la pénétration en l'absence de lésions. La progression des hyphes est plus rapide dans les fruits verts que dans les fruits mûrs. Sa vitesse, qui dépend aussi de la nature de l'hôte, est généralement plus élevée entre les diverses couches tissulaires qu'au sein même des tissus.

Les sporanges présentent une dormance qui peut être levée par des jus de fruits, des gaz émis par des fruits, l'éthylène ou un refroidissement temporaire. Ils exigent pour germer de l'eau en phase liquide et le pourcentage maximal de germination est atteint quand la température est de $27^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ et le pH voisin de 7,0.

Le développement du thalle comporte deux grandes périodes : une phase juvénile, lors de laquelle le mycélium n'utilise que les réserves du sporange et une phase adulte qui s'accompagne de l'assimilation de matériaux nutritifs d'origine externe.

Au cours de la phase juvénile se produisent une série de différenciations. Les unes se caractérisent par des modifications morphologiques telles que l'apparition des mouvements protoplasmiques et la naissance des tubes germinatifs. Les autres correspondent à des changements d'ordre physiologique, comme les variations de l'absorption d'oxygène et du quotient respiratoire, la fixation et le rejet des colorants vitaux ou l'apparition de la sensibilité aux agents de levée de dormance.

La croissance des hyphes germinatifs s'accompagne de mouvements protoplasmiques de deux types. Les uns, continus, consistent en un courant qui va du sporange vers l'apex par le centre des hyphes et fait retour par la périphérie. Les autres, séparés par des intervalles de temps de plus en plus longs, consistent en poussées brusques qui naissent dans le sporange et se propagent vers les apex des tubes germinatifs. Passée la période juvénile, la croissance des filaments s'accompagne seulement de courants protoplasmiques continus dans le sens thalle âgé → apex des hyphes. Elle se termine par la formation des sporanges qui sont toujours apicaux.

Le premier appareil mycélien directement issu de la germination du sporange et construit au dépens de ses réserves, croît selon un mode sympodial. Il constitue une forme de jeunesse à laquelle succède, au bout de cinq heures au moins, une forme adulte, caractérisée morphologiquement par une ramification monopodiale. Il semble que la succession de deux modes de croissance ne soit pas un cas isolé chez les champignons. Nous avons constaté, en effet, que certains mutants de l'*Ascobolus immersus* présentent le même type de développement. Ce changement du type de croissance s'effectue brutalement et non pas progressivement comme LARPENT [27] l'a observé chez le *Rhizoctonia solani*. Le système monopodial est imposé par l'apparition d'une dominance de l'axe principal sur ses rameaux et se trouve renforcé par l'établissement d'une dominance de ces derniers sur leurs propres ramifications.

Il ne nous a pas été possible de mettre en relation cette succession des deux formes morphologiques, jeune et adulte, avec des phénomènes métaboliques précis, mais nous avons montré que les étapes qui marquent la période juvénile se déroulent dans un ordre rigoureux, sinon avec des durées invariables et doivent correspondre à des changements d'ordre physiologique. Ainsi,

au cours du temps de latence morphogénétique, l'établissement des phénomènes respiratoires précède toujours l'apparition de la sensibilité aux agents de levée de dormance et celle-ci est suivie de l'élimination des colorants vitaux. L'élévation du quotient respiratoire intervient plus tard encore, juste au moment où sont émises les ébauches germinatives. Ceci suggère l'intervention de chaînes biochimiques dont le déclenchement serait successif et qui seraient subordonnées les unes aux autres. La constance observée dans l'ordre de leur succession suppose que cet ordre est soumis à un déterminisme interne, mais il est certain que le franchissement de certaines étapes de la germination est sous la dépendance de facteurs externes.

Si la mise en évidence de ces étapes successives du développement du *T. fructigena* a soulevé de multiples problèmes de morphogénèse, elle a en même temps apporté des éclaircissements sur certains aspects des relations de ce parasite avec ses hôtes.

Dans son habitat naturel, le *T. fructigena* ne peut germer que si trois conditions sont réalisées. Il faut que la température soit inférieure à 32 °C, que les sporanges soient plongées dans l'eau et qu'un hôte ou, au moins un fragment de végétal convenable, se trouve à proximité. Dans l'aire de répartition de ce champignon, qui correspond à la zone forestière humide d'Afrique intertropicale, les deux premières conditions sont généralement remplies pendant la saison des pluies. Les précipitations jouent alors un double rôle : elles rafraichissent l'atmosphère et maintiennent une humidité proche de la saturation ce qui ralentit suffisamment l'évaporation pour que les sporanges demeurent immergés dans les gouttelettes d'eau retenues par les fruits. Il existe une nette corrélation entre l'importance de ces précipitations et celle des dégâts causés par le parasite (ROGER [37] ; MALLAMAIRE [29] ; RENAUD [36]).

Il est possible de conserver des sporanges viables *in vitro* pendant près d'un mois, à condition de les maintenir en permanence dans une enceinte très humide où règne une température modérée. Si la tension de vapeur d'eau est insuffisante, ils perdent leur turgescence en quelques minutes et meurent en l'espace de deux à trois jours. Dans les conditions naturelles, les chutes d'hygrométrie qui se produisent même pendant la saison des pluies doivent en détruire une grande partie. Mais les diaspores qui survivent, assurent d'autant plus sûrement de nouvelles contaminations qu'elles exigent pour germer la proximité d'un hôte ou d'un substrat favorable tel que les débris de cabosse jetés au sol après la récolte. Moins de deux heures après que la levée de dormance se soit produite, les hyphes sont émis. Ils sont capa-

bles d'envahir le nouveau milieu et de s'y procurer les aliments nécessaires au développement du thalle.

Pendant la saison sèche se pose le problème de la pérennité du champignon. Sa sensibilité à la chaleur et à la dessiccation est telle qu'il ne peut demeurer en survie que dans les lieux frais et humides. C'est vraisemblablement dans le sol que sont réunies les meilleures conditions. Il peut y subsister dans les débris de ses hôtes à l'état de gemmes ou, bien que ces dernières soient rares, à l'état d'oospores. En effet d'après les auteurs qui les ont décrites (TABOR et BUNTING, [43]), ces oospores possèdent une membrane plus épaisse que celle des sporanges et constituent, peut être, une forme de résistance.

Quand les conditions de la germination sont réunies, le sporange émet des tubes germinatifs qui peuvent croître en n'utilisant que ses seules réserves. C'est pendant les cinq à six heures que dure le développement du thalle juvénile que peut s'effectuer la pénétration des hôtes. Les fréquents arrêts de l'allongement des apex qui caractérisent le mode sympodial de croissance et les changements de direction qui en résultent, font que le jeune thalle explore la surface du fruit de façon très complète. Il s'agit peut être là d'une adaptation analogue à celle qu'a décrite JOHNSON [22] chez le *Puccinia graminis tritici* dont les urédospores émettent des hyphes germinatifs sujets à de très fréquents changements de direction. Mais, alors que, chez ce dernier champignon, les angles formés par les tubes germinatifs sont l'effet d'un thigmotropisme et n'apparaissent pas ailleurs que sur l'hôte, chez le *T. fructigena*, la croissance du thalle juvénile est sympodiale sur tous les substrats.

Le *T. fructigena* a été considéré par certains auteurs (ROGER, [37] ; ROGER et MALLAMAIRE [38]) comme un champignon saprophyte, ceci est justifié par le fait que ses dommages sont très sporadiques et ne prennent le plus souvent un caractère de réelle gravité que dans des conditions où l'hôte a subi des blessures préalables (cabosse de cacaoyer, cerise de caféier) ou bien dans des conditions où des organismes incontestablement saprophytes peuvent eux-mêmes s'implanter (débris de cabosse, bananes après un long transport en cales réfrigérées). Enfin, il peut être entretenu indéfiniment au laboratoire en culture pure en l'absence de ses hôtes et sur des substrats variés.

Nos observations et nos expériences montrent qu'il présente des exigences très strictes et des aptitudes très spéciales. En particulier la germination de ses diaspores n'est possible qu'après levée de leur dormance et celle-ci ne se produit que sous l'action de substances diffusibles libérées par des tissus végétaux. Une fois la dormance levée, les tubes germinatifs pénètrent rapidement

et le thalle atteint le stade adulte en l'espace de cinq heures. Sa croissance est alors rapide et la sporulation est intense dès le troisième jour.

Ce sont là les caractéristiques d'un organisme parfaitement adapté à coloniser rapidement des habitats temporaires comme les fruits et à s'en évader avant même leur destruction complète.

Enfin, il ne faut pas oublier que les fruits d'avocatier sont attaqués puis détruits sans blessures préalables et que les bananes peuvent l'être au moment où s'ouvrent les mains.

Le comportement du *T. fructigena* est donc celui d'un champignon qui, s'il n'est pas un parasite strict, présente néanmoins de nombreuses adaptations à la vie parasitaire.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABE (S.), 1959. — Rotational protoplasmic streaming and SH. *Kagaku* (Sciences) vol. 29, pp. 361-362.
2. AKAMINE (E.K.), 1947. — Germination of *Asystasia gangetica* L. seed with special reference to the effect of age on the temperature requirement for germination. *Plant Physiol.*, vol. 22, pp. 603-607.
3. ALLEN (P.J.) and PRICE (W.H.), 1950. — The relation between respiration and protoplasmic flow in the slime mold *Physarum polycephalum*. *American Journal of Botany*, vol. 37, pp. 393-402.
4. BROWN (W.), 1936. — The physiology of the host-parasite relation. *Botanical review*, vol. 2, pp. 236-281.
5. BRUN (J.) et MERNY (G.), 1947. — Sur une pourriture nouvelle de la banane Gros Michel. *Fruits d'Outre-Mer*, vol. 2, pp. 37-43.
6. BUGNICOURT (F.), 1946. — Maladie des raies noires. *Cahiers de L'I.R.C.I.*, vol. 2, pp. 47-67.
7. BURG (S.P.), 1962. — The physiology of ethylene formation. *Annual review of Plant Physiology*, vol. 13, pp. 265-302.
8. CHATTON, 1923. — Comptes-rendus Soc. de biologie, Tome LXXXVIII, p. 199.
9. CHOUARD (P.), 1958. — Dormances et inhibitions des graines et des bourgeons. Préparation au forçage. Thermopériodisme. *Les cours de Sorbonne*, éd. Centre de documentation universitaire, Paris).
10. CHEVAUGEON (J.), 1956. — Recherches sur les maladies cryptogamiques du Manioc (*Manihot utilisima* Pohl.) en Afrique Occidentale. Thèse, éd. Lechevallier, Paris.
11. CLAYTON (C.N.), 1942. — The germination of fungous spores in relation to relative humidity. *Phytopath.*, vol. 32, pp. 921.
12. COCHRANE (V.W.), 1958. — *Physiology of Fungi*, ed. John Wiley and Sons Inc. New York.
13. CROKERS (W.) and DAVIS (W.E.). 1914. — Delayed germination in seed of *Alisma plantago*. *Bot. Gaz.*, vol. 58, pp. 285-321.
14. DUCLAUX (J.), DAWSON (R.M.C.), ELLIOT (Daphné C.), ELLIOT (W.H.) and JONES (K.M.). 1950. — *Data for biochemical research* ed. Clarendon press, Oxford.
15. EIDE (C.J.), 1955. — Fungous infection in plant. *Annual review of Microbiology*, vol. 9, pp. 297-318.
16. FLEMION (Florence), 1934. — Dwarf seedlings from non after ripened embryo of peach, apple and rawthorn. *Cont. of the Boyce Thompson Inst.*, vol. 6, pp. 91-102.
17. FLORKIN (M.) et MASON (H.S.), 1964. — *Comparative Biochemistry*, vol. VI, ed. Academic Press, New York, and London.

18. GAUMAN (E.A.), 1946. — *Pflanzliche infektionlehre* ed. Verlag Birkhauser, Basel.
19. GOTTLIEB (D.), 1950. — The physiology of spore germination in fungi. *Bot. rev.*, vol. 16, pp. 229-257.
20. GUILLERMOND (G.) et GAUTHERET (R.J.), 1940. — *Recherches sur la coloration vitale des cellules végétales*. ed. Librairie Générale de l'enseignement, Paris.
21. HORSFALL (J.G.), 1945. — Fungicides and their action. *Annales Cryptogamici et Phytopathologici*, vol. 2.
22. JOHNSON (B.), 1932. — *American Journal of Botany*, vol. 19, pp. 12-31.
23. JOHNSON (J.), 1947. — Water congestion in plants in relation to disease. *Wis. Agr. Exp. Stat. Res. Bul.*, vol. 160.
24. KAMIYA (N.), 1959. — Protoplasmic streaming. *Protoplasmatologia*, Band VIII, Physiologie des protoplastas.
25. KLEBS (G.), 1896. — *Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen*. Ed. G. Fischer, Iéna.
26. LANGERON (M.), 1949. — *Précis de Microscopie*, ed. Masson, Paris.
27. LARPENT (P.), 1962. — Age des colonies et ramifications des boutures mycéliennes chez *Rhizoctonia solani* Kühn. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, Tome CLVI, p. 2055.
28. LISON (L.), 1960. — *Histochimie et cytochimie animale*. Gauthier-Villars, éd. Paris.
29. MALLAMAIRE (A.), 1934. — L'Année phytopathologique en Côte d'Ivoire. *Agron. Trop.* XXII, pp. 114-119.
30. MATTEWS (V.D.), 1931. — *Studies on the genus Pythium* Chapel Hill N.C. éd. Univ. of North Carolina Press.
31. MEREDITH (D.S.), 1960. — Some observations on *Trachysphaera fructigena* Tabor and Bunting with particular reference to Jamaican bananas. *Trans. brit. mycol. Soc.*, vol. 43, pp. 100-104.
32. MIDDLETON (J.T.), 1952. — Generic concept in the Pythiacées. *Tijdschr. Plziekt.*, vol. 58, pp. 226-235.
33. MOREAU (F.), 1953. — *Les champignons*. Éd. Paul Lechevallier, Paris.
34. MULLER (P.), 1954. — Etude d'une pourriture des bananes dans la région de Mungo au Cameroun. *Comptes rendus du congrès de la protection des végétaux et de leurs produits sous les climats chauds* IFAN, Marseille, pp. 211-226.
35. PERROT (Em.), 1944. — *Matières premières du règne végétal*. Éd. Masson, Paris.
36. Report of the Cocoa conference held at Grosvenor House London 10th to 12th September 1957. *The cocoa, chocolate and confectionery Alliance*, 1958.
37. ROGER (L.), 1953. — *Phytopathologie des pays chauds*, tome I, Éd. P. Lechevallier, Paris.
38. ROGER (L.) et MALLAMAIRE (A.), 1937. — Notes de Pathologie africaine. *Ann. agric. Afr. occ.*, vol. 2, pp. 187-206.
39. RUDGE (U.), 1947. — *Planta*, vol. 35, pp. 297-318.

40. SCHIMPER (A.F.W.), 1903. — *Plant Geography upon a physiological basis*, Oxford.
41. SEIFRIZ (U.) und URBACH (F.), 1954. — *Growth*, vol. 8, pp. 221-233.
42. STACKMAN (C.C.) and HARRAR (J.G.), 1957. — *Principles of Plant pathology*. Éd. The Ronald Press company. New York.
43. TABOR (R.J.) and BUNTING (R.H.), 1923. — On a disease of cocoa and coffee fruits caused by a fungus hitherto undescribed. *Ann. Bot.* London, vol. 37, pp. 153-157.
44. TETJUREV (W.A.), 1941. — Über das Sogenannte « Blastokolin ». *Planta*, vol. 32, pp. 211-226.
45. TURNER (P.D.) and LOVI (L.K.), 1961. — Outbreaks and new records. *FAO Plant Prot. Bull.*, vol. 96, pp. 109-111.
46. VACHA (G.A.) and HARVEY (R.B.), 1927. — The use of ethylene, propylene and similar compound in breaking the rest period of tubers, bulbs, cutting and seeds. *Plant. Physiol.*, vol. 2, pp. 187-192.
47. VESELOV (I.Y.), 1937. — *Microbiologia*, vol. 6, pp. 510-516.
48. VIENNOT-BOURGIN (G.), 1949. — *Les champignons parasites des plantes cultivées*. ed. Masson, Paris.
49. WARBURG (O.), 1926. — *Über den stoffwechsel der Tumoren*. Éd. Springer, Berlin. (Traduction anglaise de F. DICKENS. Éd. Constable, London, 1930).

REVUE GÉNÉRALE
DE
BOTANIQUE

FONDÉE PAR GASTON BONNIER

PUBLICATION MENSUELLE

(Éditée avec le concours du Centre National de la Recherche scientifique)

COMITÉ DE RÉDACTION

MM. BUVAT
CHADEFAUD
CHOUARD
COMBES

MM. DE CUGNAC
EICHHORN
FELDMANN
GAUTHERET

M^{me} HUREL-PY
MM. MANGENOT
PLANTEFOL
ULRICH

RÉDACTEUR EN CHEF : M. AD. DAVY DE VIRVILLE

Extrait de la " Revue générale de Botanique "
Tome 72 - 1965

M. GOUJON

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DU DÉVELOPPEMENT
DU THALLE DU *TRACHYSPHÆRA*
FRUCTIGENA TAB. ET BUNT.

PARIS
LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT
4, RUE DANTE, 4

1965

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 10230