

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

**Herausgeber:** Schweizerische Botanische Gesellschaft

**Band:** 84 (1974)

**Heft:** 4

**Artikel:** Etude de la germination des pycnidiospores de *Coniella diplodiella* (Speg.) Pet. et Syd., agent du côtre de la vigne. III. Formation et maturation des spores : évolution de la paroi sporale lors de la maturation et de la germination

**Autor:** Aragno, Michel

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-59261>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 08.02.2025

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

Etude de la germination  
des pycnidiospores  
de *Coniella diplodiella* (Speg.) Pet. et Syd.,  
agent du côtre de la vigne.  
III. Formation et maturation des spores;  
évolution de la paroi sporale  
lors de la maturation et de la germination.

par *Michel Aragno*

Laboratoire de Cryptogamie  
Institut de Botanique de l'Université de Neuchâtel

Manuscrit reçu le 18 mars 1974

Pour compléter nos études sur les conditions et le processus de la germination des spores de *C. diplodiella* (Aragno, 1973 et 1974), nous nous sommes intéressé, d'une part à la formation et à la maturation des spores, et d'autre part aux manifestations morphologiques et ultrastructurales de la germination.

L'étude caryologique de la sporogénèse nous permettra de savoir si les spores provenant d'une culture monosporée possèdent plus d'un type de noyau, et peuvent présenter par conséquent des différences dans leur génome.

Nous chercherons à établir à partir de quel degré de maturité les spores présentent des qualités optimales pour la germination.

Nous décrirons ensuite l'aspect morphologique du processus de la germination tel qu'il apparaît en microscopie photonique.

Enfin, l'étude en microscopie électronique de la paroi sporale lors de la maturation nous permettra de mieux comprendre sa structure dans la spore au repos, et son évolution ultérieure lors de la germination.

## Matériel et méthodes

Les souches, milieux et méthodes décrits dans la première partie de ce travail (Aragno, 1973) sont repris ici.

Pour les observations caryologiques en microscopie optique, le matériel est fixé au Helly pendant 8 heures, puis lavé, déshydraté et inclus dans de la paraffine. Les coupes microtomiques sont collées sur lames au moyen d'eau albuminée. Après réhydratation, on pratique la coloration nucléaire de Feulgen (temps d'hydrolyse dans HCl 1N à 60°C : 15 minutes; séjour dans le réactif de Schiff: 4 h; contre-coloration : 2 min dans une solution aqueuse à 1% de vert-lumière). Les coupes sont ensuite déshydratées, passées dans le toluène et montées au Caedax.

Pour les observations en microscopie électronique, les spores sont fixées 30 min au  $\text{KMnO}_4$  1% dans du tampon phosphate 50 mM pH 7,0, puis lavées 3 fois par centrifugation et resuspension du culot dans du même tampon. Après la dernière centrifugation, le culot est mis en suspension dans une goutte d'agar 1,5% fondu et refroidi à 45°C. Après solidification, l'agar est découpé en petits cubes de 1 mm de côté environ. Ces petits cubes sont déshydratés dans des solutions à concentration croissante d'acétone, puis inclus dans une résine époxyde. Les coupes ultra-microtomiques sont contrastées par immersion 1 h dans l'acétate d'uranyle à 4% aq., puis 2 minutes dans une solution alcaline de citrate de plomb, et enfin rincées dans KOH 20 mM.

Les spores en germination sont incluses vivantes et dormantes dans l'agar, qui est ensuite découpé en petits cubes de 1 mm de côté. Ceux-ci sont alors plongés le temps voulu dans une solution agitée du milieu de germination. La fixation est opérée sur les cubes d'agar, et prolongée à 60 min. Le lavage se fait par décantation, et non par centrifugation.

## Résultats

### 1. Etude caryologique de la sporogénèse

L'appareil sporogène de *Coniella diploidiella* (pl. I, 11 et pl. II, 10) est localisé au fond des pycnides. Il comporte un massif lenticulaire (m), sorte de placenta reposant sur le plancher (p), dont il se distingue par les parois hyalines et minces de ses cellules. Celles-ci sont plus ou moins isodiamétriques, plurinucléées, et fortement vacuolées. La face supérieure de ce tissu est formée de cellules intermédiaires (ci), uninucléées, portant les conidiophores (c). Ceux-ci, de forme allongée (10–20 x 1–2  $\mu$ ) ont un cytoplasme dense, non vacuolé, et un noyau allongé, plus gros que ceux du tissu sous-jacent.

L'extrémité des conidiophores forme un renflement vacuolé (pl. I, 1 et II, 2). A ce moment, le noyau entre en division. Après le stade télophasique en forme de croissants (pl. II, 3) tel qu'il a été observé souvent chez d'autres champignons (Heim, 1952, Aragno, 1967 a et b), les noyaux-fils sont petits et denses (pl. I, 2 et 3; pl. II, 4 et 5). Le noyau antérieur migre dans le renflement (pl. I, 4 et II, 6), puis sa chromatine acquiert une structure plus lâche. Il en est de même de celui resté dans le conidiophore, qui redevient identique au noyau-père. Une paroi se forme à la base du renflement; la spore est ainsi individualisée (pl. I, 5 et 6; pl. II, 7). Après une première mitose (pl. I, 7–10, pl. II, 8 et 9), la spore binucléée se détache du conidiophore. Chacun des noyaux se divise encore une fois; ainsi, la spore est finalement tétranucléée (pl. II, 9). L'extrémité du conidiophore va se différencier en un nouveau renflement, et le cycle recommence pour la formation d'une nouvelle spore.

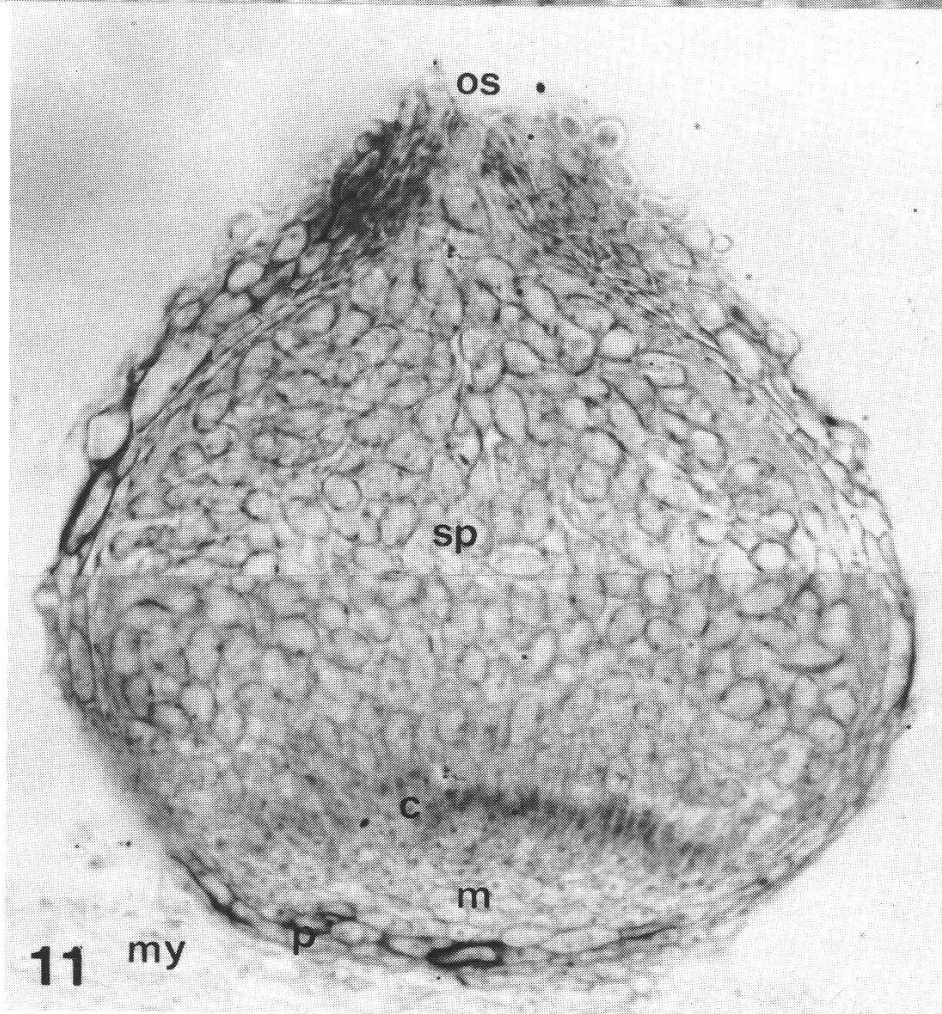
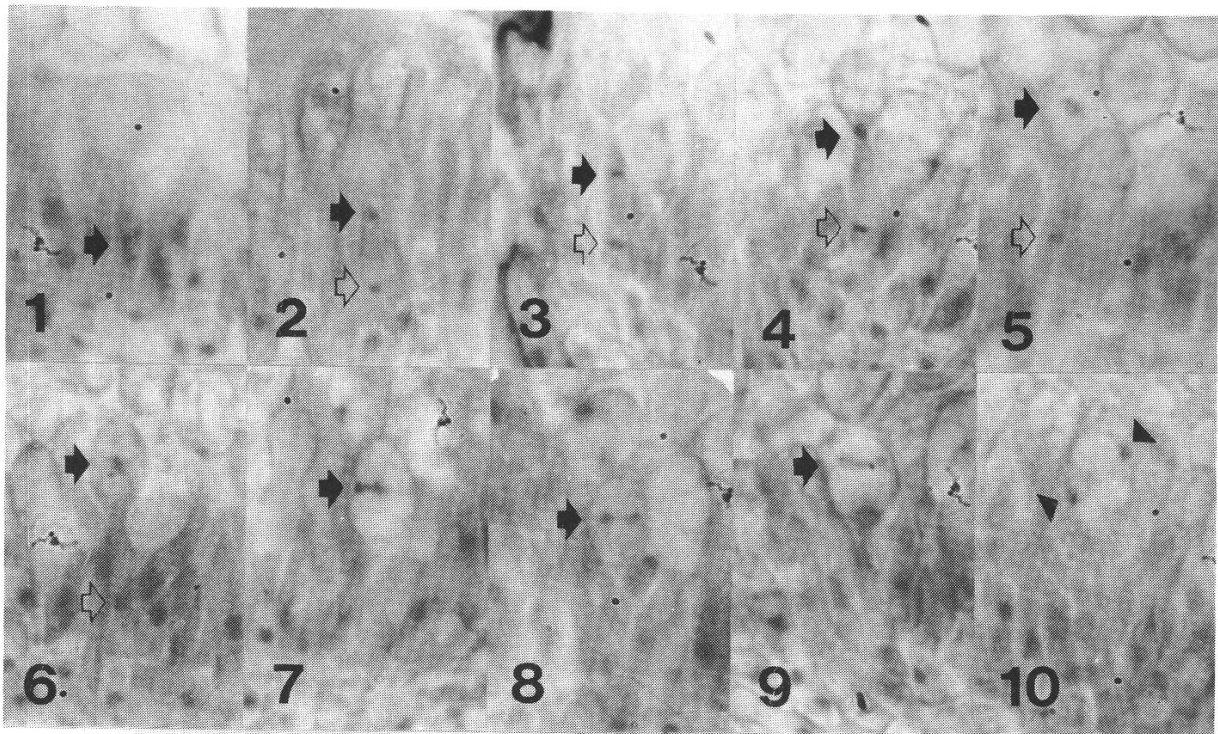


Planche I



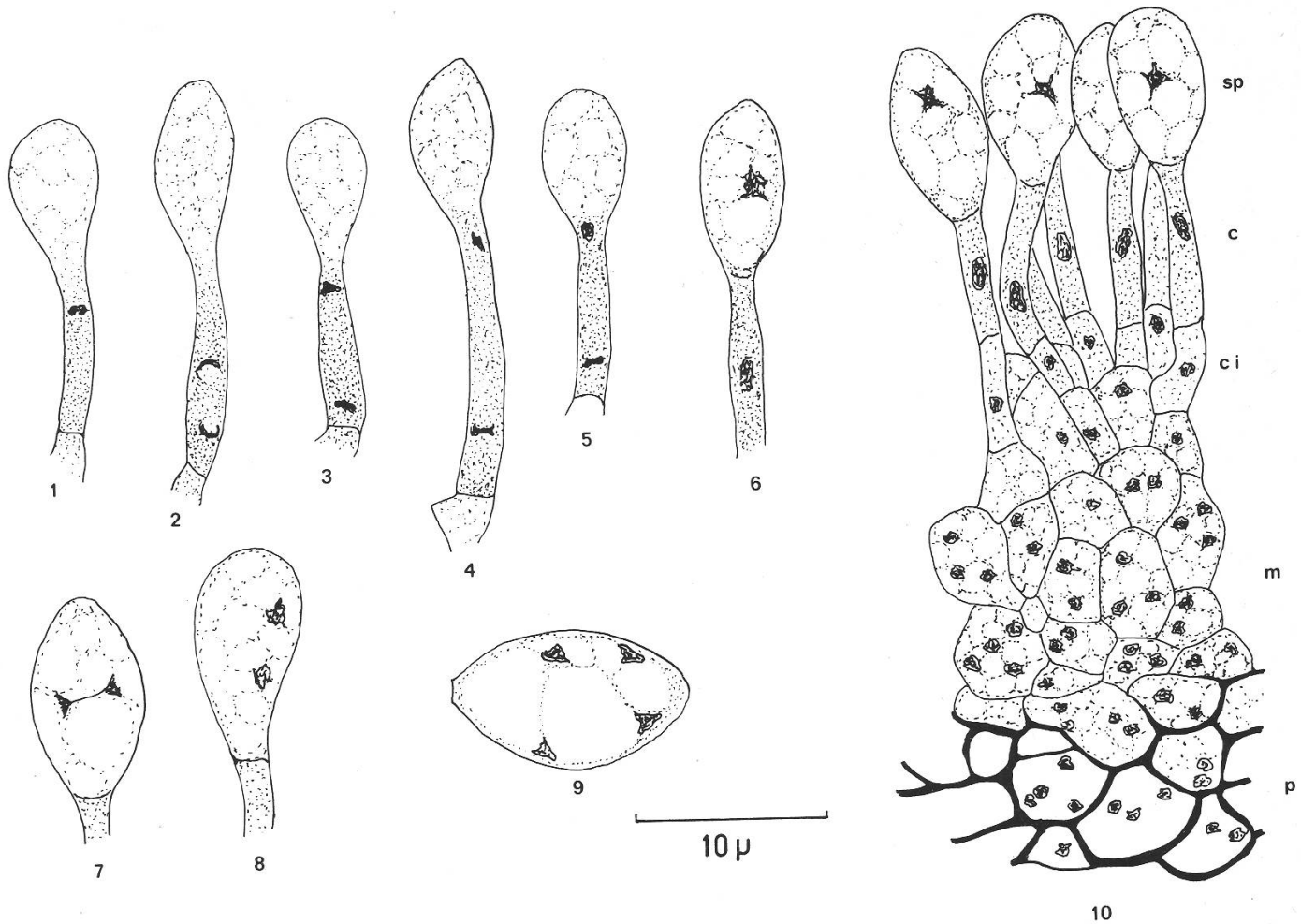


Planche II:

Sporogénèse chez *C. diplodiella*. 1: début de la mitose dans le conidiophore: noyau contracté; 2-3: stades télophasiques dans le conidiophore; 4-5: migration du noyau antérieur dans la future spore; 6: conidiophore avec spore uninucléée; 7: première mitose dans la spore; 8: spore binucléée, encore rattachée au conidiophore; 9: spore tétranucléée, libre. 10: *Détail de l'appareil sporogène*. p: paroi (plancher) de la pycnide. m: massif lenticulaire. ci: cellules intermédiaires. c: conidiophores. sp: spores (uninucléées).

La spore contient quatre noyaux frères: il n'y aura donc qu'un seul type de noyau dans une culture monosporee de ce champignon, qui donnera ainsi naissance à une population de spores génétiquement homogène.

◀ Planche I:

1-10: sporogénèse chez *C. diplodiella*. Gr. 1500 x; 1: début de la mitose dans le conidiophore; 2-3: fin de la mitose dans le conidiophore; 4: le noyau antérieur migre dans la future spore; 5-6: spore uninucléée; 7-9: première mitose dans la spore; 10: spore binucléée. 11: coupe d'une pycnide de *C. diplodiella*; gr. 600 x; Culture *in vitro* sur moût gélosé, âgée de 108 heures. Coloration nucléaire de Feulgen; my: mycélium sous-jacent; p: paroi (plancher) de la pycnide. m: massif lenticulaire; c: conidiophores; sp: spores; os: ostiole.

## 2. Maturation des spores

Sitôt après leur formation, les spores sont hyalines et contiennent de grosses vacuoles. Elles sont perméables à certains colorants (bleu coton lactique, soudan III).

Par la suite, leur paroi se pigmente. Le volume des vacuoles a tendance à diminuer, et les spores intactes sont imperméables aux colorants cités plus haut.

Les spores jeunes germant mal dans le milieu minimum décrit dans un travail précédent (Aragno, 1973), il importe donc de savoir à partir de quel âge des cultures la maturité des spores prélevées permet une bonne germination.

Une série de milieux (milieu F-T, voir Aragno, 1973) est inoculée à partir de blocs d'agar de 2 mm de côté environ découpés dans un mycélium jeune de *C. diplodiella* issu d'une seule spore. On mesure le % de germination en 24 heures des spores produites dans ces cultures, en fonction de leur âge, dans le milieu minimum de germination et dans une solution de tampon citrate non activatrice, de mêmes pH et concentration. On mesure en outre la proportion de spores apparaissant mélanisées à l'observation microscopique.

*Préparation des spores:* voir Aragno (1973). Chaque échantillon est un mélange des spores provenant de 6 tubes de culture.

*Méthode de germination:* goutte pendante, en chambre humide. Incubation à 27° C pendant 24 h.

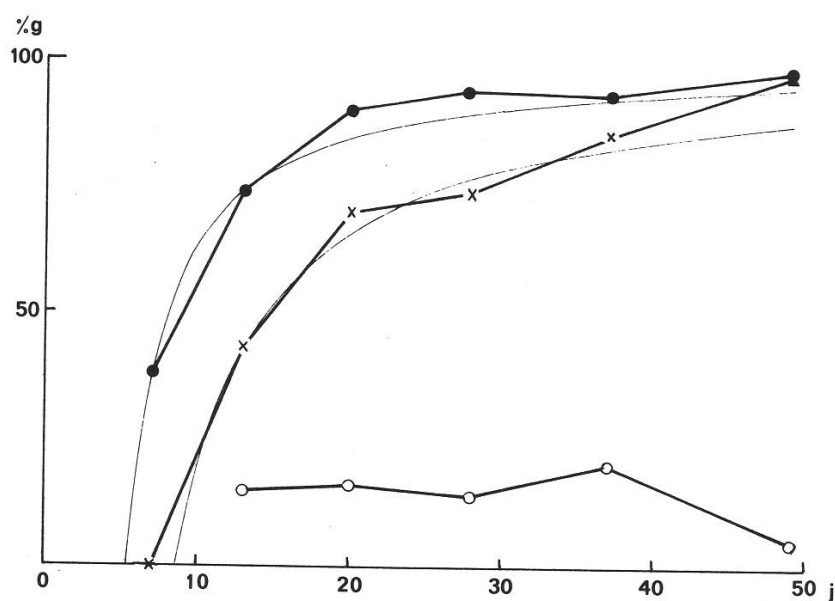


Fig. 1:

Germination et mélanisation des spores en fonction de l'âge de la culture.

- : % de germination en 24 h dans le milieu minimum (acide tartrique - NaOH, 50 mM, pH 4,0) à 27° C;
- : % de germination en 24 h dans un milieu non activateur (acide citrique - NaOH, 50 mM, pH 4,0) à 27° C;
- x-: % de spores mélanisées (observation en microscopie photonique). En traits fins: graphes de la fonction (1) p. 309 appliqué resp. à l'évolution de la germinabilité dans le tartrate et à la mélanisation.

*Milieux de germination:*

- a) tampon acide tartrique – NaOH 50 mM, pH 4,0 (milieu minimum de germination).
- b) tampon acide citrique – NaOH 50 mM, pH 4,0 (milieu de référence, non activateur).

Résultats: fig. 1. La germination est satisfaisante (supérieure à 90%) à partir du 20<sup>e</sup> jour de culture. Dans cette expérience, la proportion des spores germant en milieu non activateur était relativement importante, sauf chez des cultures de 49 jours.

La mélanisation apparaît plus tardivement que la germinabilité. Ceci est confirmé par l'observation fréquente de spores hyalines germant dans le milieu minimum.

Nous avons vu plus haut que la sporogénèse est continue, au moins pendant un certain temps. Un échantillon prélevé sur une culture se compose donc de spores d'âge différent, les plus âgées étant les premières apparues dans la culture, les plus jeunes étant juste formées au moment du prélèvement.

En supposant les conditions idéales suivantes:

- a) les premières spores sont formées  $a$  jours après la mise en culture.
- b) dès ce moment, la production de spores est continue et constante.
- c) elles sont capables de germer dans le milieu minimum  $b$  jours après leur formation.
- d) la pigmentation de la paroi extérieure apparaît  $c$  jours après la formation,

nous pouvons établir le modèle algébrique suivant pour l'évolution de la germinabilité et de la mélanisation dans un échantillon de spores en fonction de l'âge de la culture:

$$(1) \quad y = \frac{100(x-a-t)}{x-a} \quad \text{pour } x \geq a + t$$

$$(2) \quad y = 0 \quad \text{pour } x < a + t$$

- où
- $t = b$  pour la germinabilité dans le milieu minimum
  - $t = c$  pour la mélanisation
  - $y =$  pour-cent de spores germées, resp. mélanisées
  - $x =$  âge de la culture, en jours

Plus la culture est jeune, plus les conditions réelles doivent être proches de celles supposées ci-dessus, le vieillissement devant inévitablement conduire au ralentissement, puis à l'arrêt de la formation des spores.

En appliquant à la fonction (1) ci-dessus les valeurs des deux premières mesures du % de germination en fonction de l'âge de la culture (38% en 7 jours, 74% en 13 jours) nous obtenons pour  $a$  et  $b$  les valeurs suivantes:

$$a = 2,7$$

$$b = 2,7$$

En appliquant à cette fonction la valeur de  $a$  obtenue ci-dessus et la valeur de la première mesure non nulle du % de mélanisation (42% en 13 jours), nous obtenons:

$$c = 5,9$$

Les graphes de la fonction (1) pour les paramètres calculés ci-dessus sont représentés à la fig. 1 (trait fin). Ils correspondent assez bien à ceux des résultats expérimentaux.

On peut ainsi admettre que les conditions réelles ne sont pas trop éloignées des suppositions idéales ci-dessus; nous estimons donc comme suit le déroulement de la maturation:

- apparition des premières spores: moins de trois jours après la mise en culture.
- germinabilité des spores dans le milieu minimum: acquise moins de trois jours après leur formation.
- mélanisation de la paroi: apparaît environ 6 jours après la formation de la spore.

### 3. Emission des spores

Faes et Staehelin (1935) ont fort bien observé l'émission des spores par les pycnides de *C. diplodiella*: lorsque celles-ci sont immergées dans l'eau, les cellules se gonflent et, par turgescence, la masse de spores jaillit par l'ostiole. Même sans immersion des pycnides, nous avons observé qu'une certaine quantité de spores est expulsée par l'ostiole après un certain temps de culture, probablement parce que le volume de la masse sporale dépasse alors celui de la pycnide.

Si les fructifications se vident sous l'effet de la turgescence, l'immersion dans des solutions hypertoniques ne devrait pas provoquer ce phénomène.

Des cultures de *C. diplodiella* sur milieu F-T (Aragno, 1973) sont recouvertes pendant 30 minutes de 2 ml de solutions de NaCl à différentes concentrations (4 cultures par concentration). On agite toutes les cinq minutes, sans racler la surface, puis on prélève les suspensions ainsi obtenues. On mesure la concentration dans un compte-globules de Thoma ( $2 \cdot 10^{-4}$  ml). L'expérience est répétée deux fois, les résultats sont ramenés à : quantité de spores ayant diffusé dans l'eau distillée = 100.

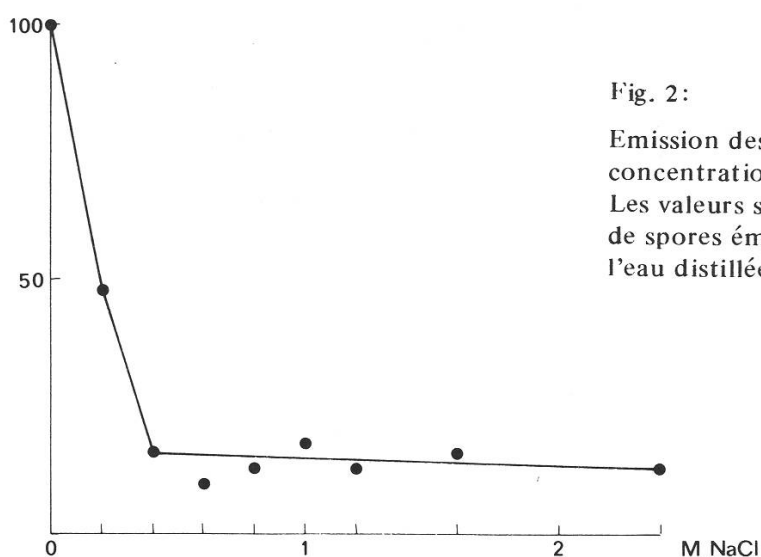


Fig. 2:

Emission des spores, en fonction de la concentration en NaCl du milieu d'immersion. Les valeurs sont ramenées à 100 = nombre de spores émises après immersion dans l'eau distillée.

Résultats: fig. 2. Le nombre de spores émises par la culture diminue fortement entre 0 et 0,4% NaCl. A partir de cette concentration, il se maintient entre 10 et 20% du nombre de spores émises dans l'eau distillée.

On peut distinguer ici deux phénomènes:

- 1) Emission „active“, dépendante de la concentration de NaCl, intéressant ici 80–90% des spores en suspension dans l'eau distillée.
- 2) Mise en suspension passive indépendante de la concentration en NaCl. Il s'agit ici probablement de spores déjà sorties des pycnides au moment de l'immersion.

La „turgescence des cellules“ supposée par Faes et Staehelin (1935) ne se manifesterait donc qu'au-dessous de la concentration de 0,4% NaCl, qui serait alors à peu près isotonique. Mais, de quelles cellules s'agit-il? De celles de la paroi pycnidiale, des spores elles-mêmes? Le mucus dans lequel baignent les spores ne serait-il pas susceptible de se gonfler en présence d'une solution hypotonique? Ce problème n'est pas résolu.

#### 4. Manifestations morphologiques du processus de la germination

Classiquement, on distingue deux phases morphologiques dans le déroulement de la germination des spores de champignons: le gonflement, puis la protrusion de l'hyphe germinative.

##### 4.1 Le gonflement

Le gonflement est souvent peu marqué chez les conidies des Deutéromycètes. Nous l'avons estimé, chez *C. diplodiella*, par la mesure des axes des spores. L'observation directe, sous le microscope, ne permettant pas un nombre suffisant de mesures dans un court espace de temps, nous avons photographié les spores, puis mesuré leurs dimensions sur les photographies.

*Méthode de germination:* goutte pendante, en chambre humide.

*Milieu de germination:*

- a) Moût 20% dans du tampon glycine-HCl 50 mM, pH 3,5.
- b) tampon ci-dessus, seul.

Pour chaque valeur, on mesure les dimensions de plus de 300 spores. On établit la moyenne ( $\mu$ ) et l'écart-type de la moyenne ( $\sigma_M$ ). Toute valeur B hors de l'intervalle  $A \pm 3 \sigma_M$  sera considérée comme significativement différente de A, avec une probabilité supérieure ou égale à 0,995.

Résultats: fig. 3. Le gonflement se manifeste par une augmentation progressive du petit axe. La longueur du grand axe ne varie pas sensiblement. Notons que la mesure du grand axe est sujette à caution. En effet, on mesure, non sa vraie grandeur, mais sa projection sur le plan d'observation. En goutte pendante, les spores se rassemblent à la face inférieure de la goutte, leur grand axe tend à être parallèle à cette face. L'agitation (lors du transport de la chambre humide,



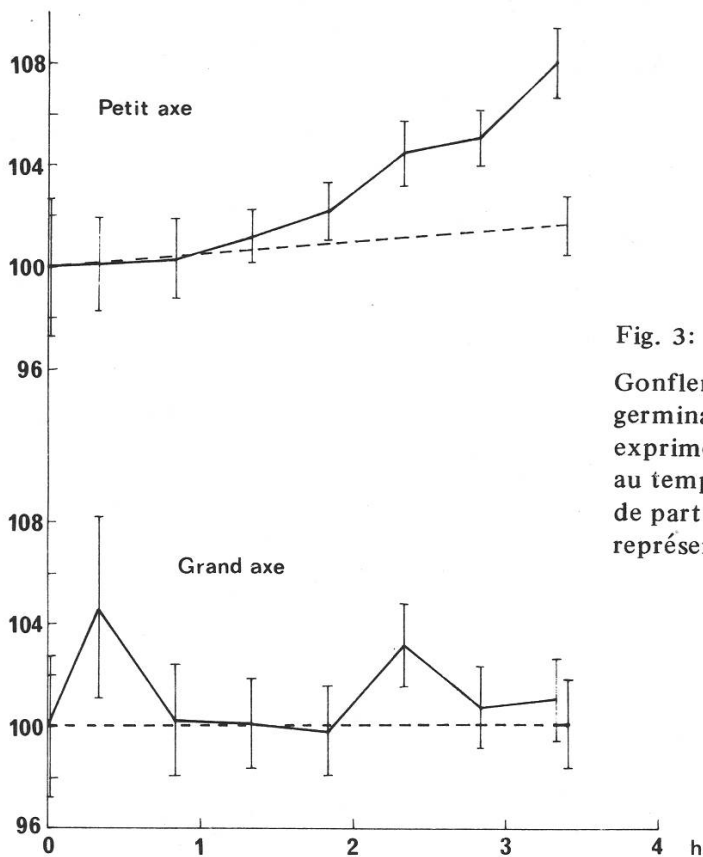


Fig. 3:

Gonflement des spores lors de la germination. Les dimensions sont exprimées en % des dimensions des spores au temps  $t = 0$ . Les intervalles indiqués de part et d'autre de chaque dimension représentent  $\pm 3 \sigma_M$ .

par exemple) peut modifier cet ordre, et donc la moyenne mesurée. Ceci explique probablement les variations discontinues mesurées dans notre expérience.

Il n'en est pas de même du petit axe, qui est toujours vu en vraie grandeur, la spore ayant à peu près la forme d'un ellipsoïde de révolution.

Si, lors du gonflement, seul le petit axe varie, son augmentation en 3 h 20, de 8% environ, se traduit par un changement de volume de 16%, ce qui est relativement peu. Passé ce délai, de nombreuses spores ont germé, et on ne peut plus mesurer le gonflement.

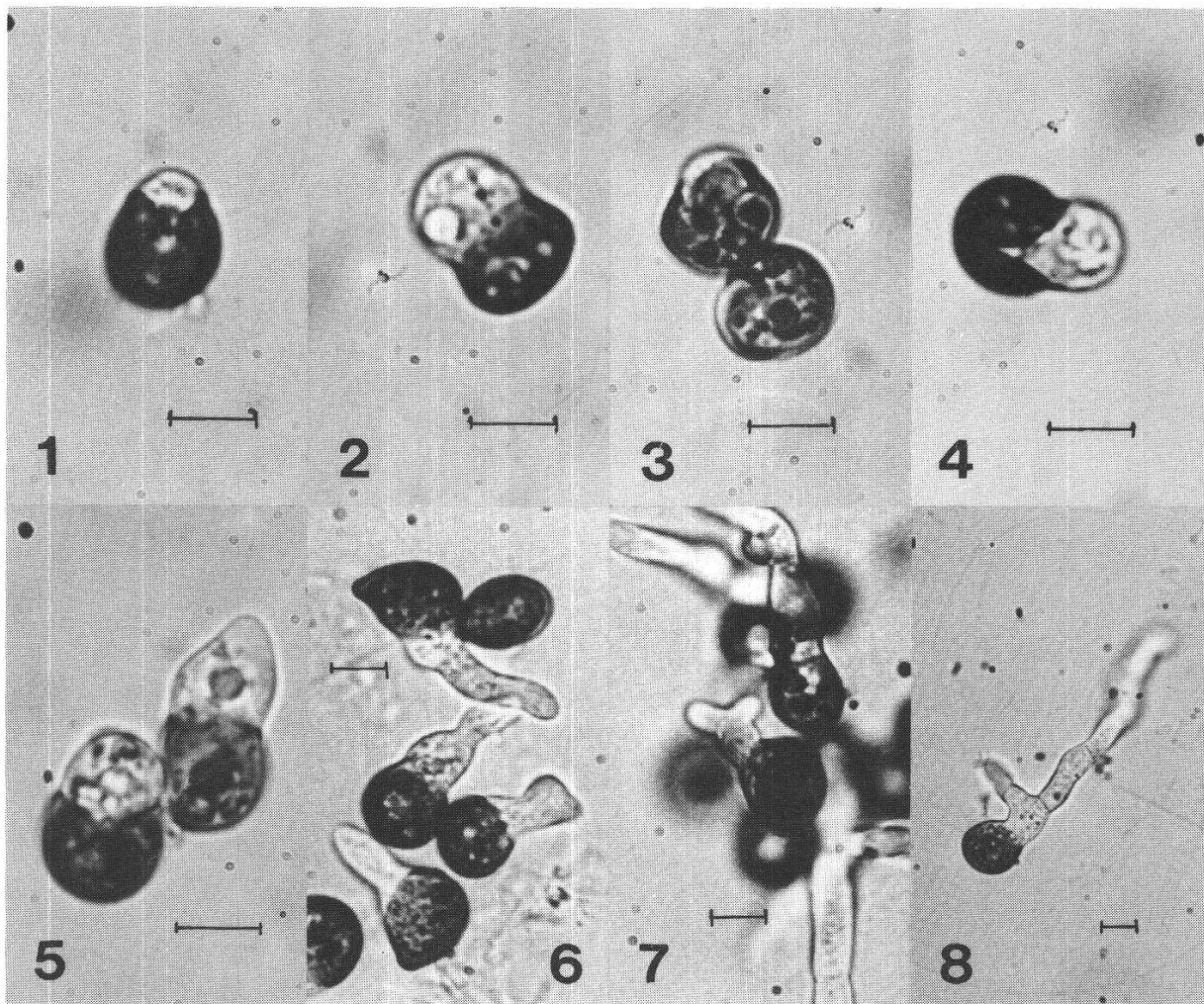
Dans le tampon seul, et dans le même temps, on n'observe pas d'augmentation significative du petit axe des spores. Le gonflement est donc lié à l'activation, et il n'y a pas d'hydratation passive.

#### 4.2 La protrusion du tube germinatif

Nous n'avons jamais noté de pore germinatif, ni même de lieu préférentiel pour la protrusion du tube, chez les spores de *C. diplodiella*. L'hyphe germinative peut apparaître à l'extrémité du grand axe (pl. III, 1) aussi bien que latéralement (pl. III, 2).

La première manifestation est une déchirure de la paroi pigmentée (pl. III, 3). La paroi sous-jacente est hyaline. C'est à partir de ce stade que nous considérons, dans nos comptages, une spore comme germée.

Le volume de la cellule s'accroît alors dans une notable proportion, et il se forme une ampoule (pl. III, 4 et 5) désignée comme „spore secondaire“ par Istvanffi (1902). A 37°C, la germination s'arrête là. A une température inférieure, l'apex se différencie rapidement (pl. III, 5 et 6). On observe, quoique rarement, la différenciation de deux apex à partir de l'ampoule initiale (pl. III, 7 et 8).



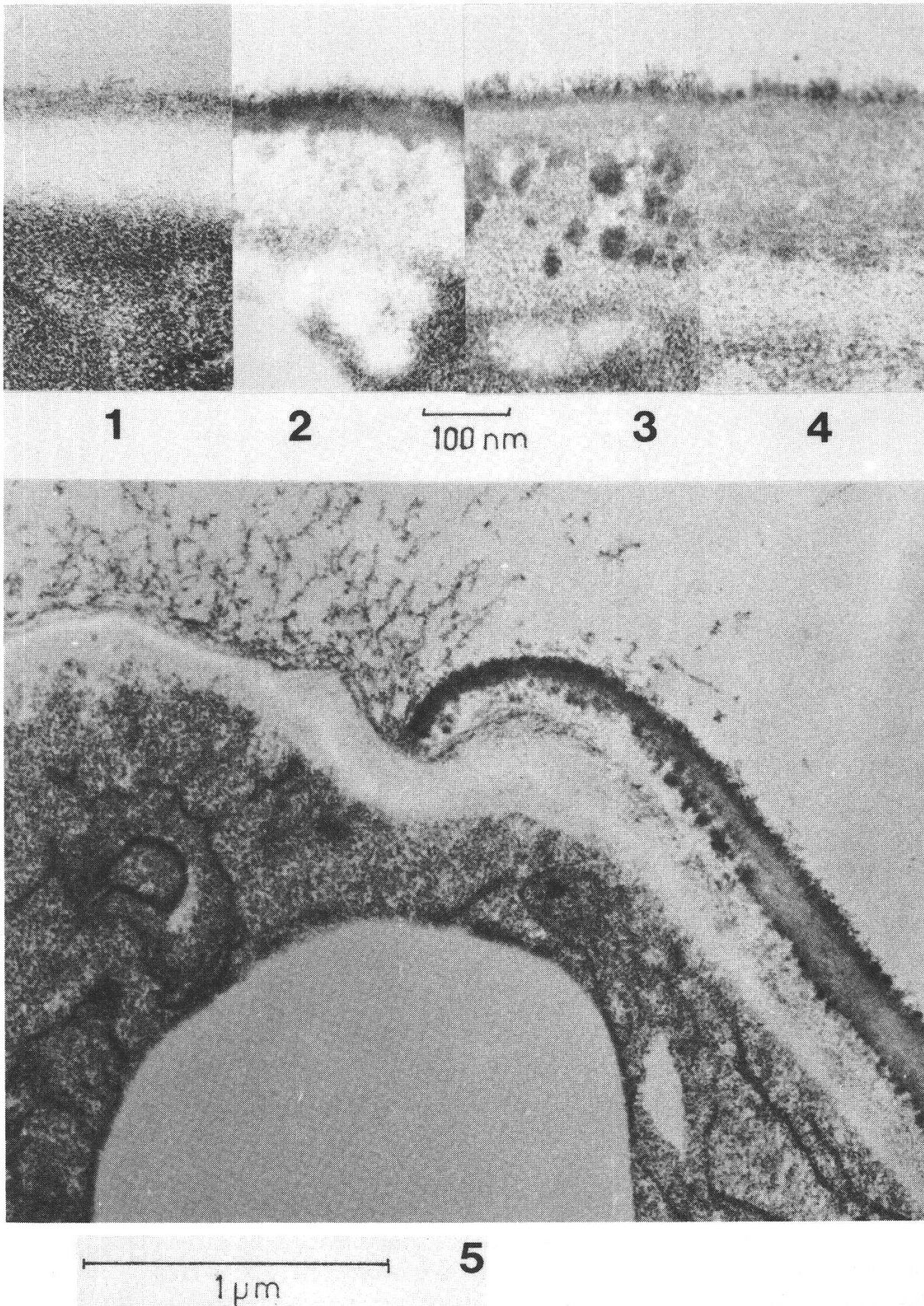
**Planche III:**

**Germination.** 1: apparition du tube germinatif à l'extrémité du grand axe de la spore; 2: apparition du tube germinatif en position latérale; 3: début de la protrusion du tube germinatif; 4 et 5: formation de l'ampoule germinative; l'ampoule de la spore de droite de la photo No 5 commence à se différencier en un apex; 6: croissance apicale plus avancée; 7 et 8: différenciation de deux apex sur une ampoule. La longueur des traits noirs représente 10  $\mu\text{m}$ .

**5. Etude ultrastructurale de la paroi sporale, lors de la maturation et de la germination**

**5.1 Maturation**

On distingue deux couches dans la paroi des jeunes spores non pigmentées (pl. IV, 1 et fig. 4, 1). La couche externe (A) est mince (30–40 nm en moyenne chez les spores très jeunes), d'apparence floconneuse et très opaque aux électrons. La couche sous-jacente (B) est tout d'abord transparente aux électrons. Son épaisseur (110–140 nm chez les plus jeunes) augmente avec l'âge. En même temps, il s'y dépose des inclusions plus opaques qui tendent à s'accumuler vers l'extérieur



**Planche IV:**

**Ultrastructure.** 1: paroi d'une spore très jeune, non mélanisée; 2-3: parois de spores en voie de maturation; 4: paroi d'une spore mûre; 5: spore en germination (détail), explication: voir pl. V.



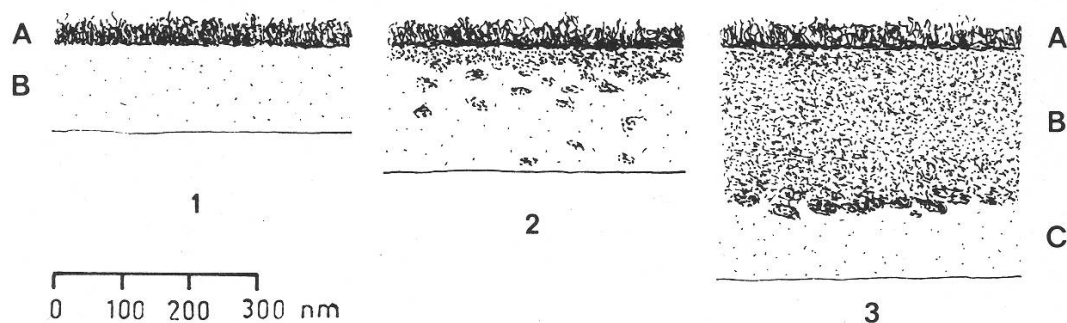


Fig. 4:

Diagramme représentant l'évolution de l'ultrastructure de la paroi sporale de *C. diplodiella* lors de la maturation. 1: spore très jeune, non pigmentée; 2: spore en voie de maturation; 3: spore mûre.

(pl. IV, 2 et 3, fig. 4, 2). Elles finissent par fusionner pour former une couche d'apparence plus ou moins homogène chez la spore mûre (pl. IV, 4 et fig. 4, 3). Chez celle-ci, on observe en outre une couche interne (C), hyaline. Il s'agit probablement de la face interne de la couche précédente, épaissie, qui reste transparente aux électrons.

La paroi de la spore mûre dormante (pl. IV, 4 et fig. 4, 3) présente donc trois couches distinctes:

- une couche externe, A, de 30–40 nm, floconneuse, très opaque aux électrons.
- une couche moyenne, B, de 200–260 nm, moins opaque.
- une couche interne, C, hyaline, de 80–135 nm.

Ces couches ressemblent, par leur nature et leur mode de formation, à celles décrites par Reisinger (1972) chez diverses espèces de Dématiées, en particulier *Dendryphiella vinosa* (Reisinger et Guedenet, 1968).

Il n'est pas démontré que le matériel opaque aux électrons s'accumulant dans la couche moyenne correspond au pigment apparaissant lors de la maturation. Vu la coïncidence des deux phénomènes, on peut toutefois considérer cette hypothèse comme très plausible.

## 5.2 Germination

Comme nous l'avons déjà vu en microscopie optique, la „couche externe mélanisée“ (comprenant ici les couches A et B) est rompue lors de la protrusion du tube germinatif (pl. IV, 5 et V). Vu la continuité de la couche A à proximité du point de rupture, l'amincissement de la couche B ne peut être dû à l'étirement, et on doit admettre que celle-ci est dégradée.

Au premier regard, il semble que la couche C se prolonge pour former le tube germinatif. En fait, nous observons, dans le tube germinatif et à son voisinage, une nouvelle couche (D), plus hyaline que C, de 40 nm environ. Dans l'apex, elle occupe l'extérieur de la paroi. Elle se trouve, dans la spore, à l'intérieur de la couche C. Elle n'y paraît pas continue, et n'est pas visible à l'opposé du tube germinatif.

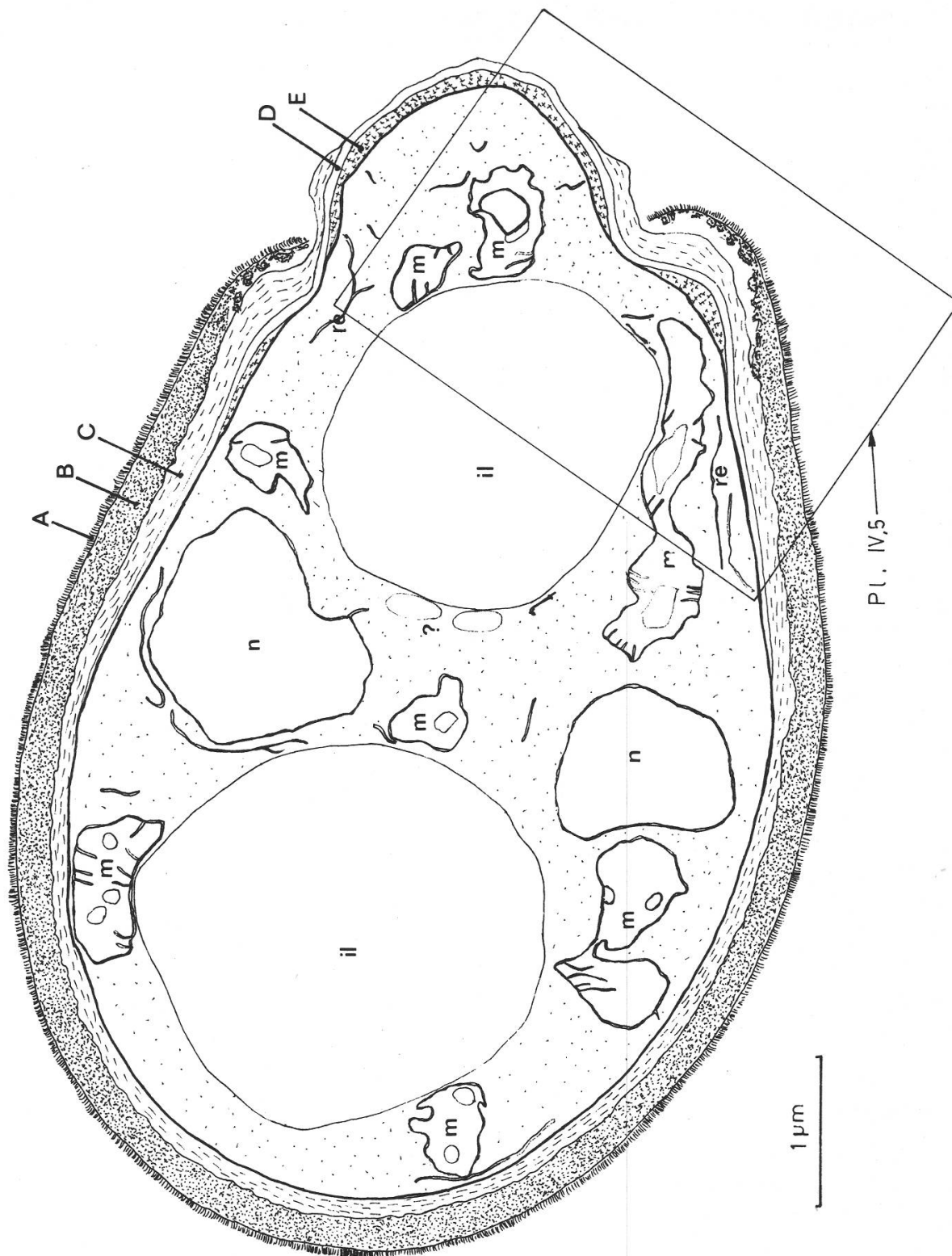


Planche V:

Dessin d'une coupe d'une spore de *C. diplodiella* en germination. A, B, C: couches de la paroi sporale; D, E: couches néoformées du tube germinatif; m: mitochondries; n: noyaux; il: inclusions lipidiques; re: réticulum endoplasmique.



A l'intérieur de cette couche très hyaline, on observe une strate discontinue, E, de même apparence que C, localisée au niveau du tube germinatif et à son voisinage. La couche C s'interrompt en revanche en bordure de ce tube.

Nous pensons que les couches D et E sont deux couches néoformées lors de la germination, et représentent le début de la formation de la paroi du mycélium végétatif. Le tube germinatif se formerait alors par protrusion à travers la couche C des deux couches D et E, et ne serait pas une extension, par intussusception, de la couche C.

## Discussion

Turian (1969) distingue trois stades dans la germination: un stade physiologique d'activation, suivi d'un stade morphologique isodiamétrique (gonflement) et d'un stade morphologique polaire (différenciation apicale). Chez *C. diplodiella*, le gonflement est peu marqué. Avant la rupture de la paroi, on peut distinguer un premier stade morphologique polaire, qui se manifeste par la différenciation de la paroi végétative (D + E) dans la région du point d'émergence, et par la lyse de la couche B (pl. IV, 5 et V).

Suite à la rupture de la paroi sporale, il se forme une ampoule germinative, que l'on peut considérer comme un second stade morphologique isodiamétrique. A partir de celle-ci vont se différencier un ou deux axes de croissance mycélienne (second stade morphologique polaire). Cette dernière différenciation n'a pas lieu à 37<sup>0</sup> C et est fortement inhibée par le D-malate (Aragno, 1973).

La paroi sporale de *C. diplodiella* présente deux couches à l'état immature (non pigmenté) et trois à maturité. Nous avons utilisé la terminologie de Reisinger (1972) qui désigne des couches analogues chez les Dématiées par les lettres A, B et C; en effet, la terminologie classique (cuticule, épispore, endospore, ou bien paroi primaire, paroi secondaire) a été établie d'après des observations en microscopie photonique, et ne peut être sans autre appliquée à l'ultrastructure. Il est intéressant de noter que les pycnidiospores mélanisées d'une autre Sphéropsidale, *Botryodiplodia theobromae* Pat. présentent une structure analogue des parois des spores jeunes et matures (Ekundayo et Haskins, 1969).

On peut émettre deux hypothèses sur le mode de formation des couches B et C de la spore mûre:

- 1) La couche B de la jeune spore s'imprègne vers l'extérieur de substances opaques aux électrons, tout en s'accroissant vers l'intérieur. A maturité, la partie interne non imprégnée de ces substances forme la couche C.
- 2) La substance formant la couche B de la spore mûre s'intercale entre les deux couches de la jeune spore, repoussant ainsi la couche hyaline vers l'intérieur.

La formation des parois du tube germinatif a donné lieu à de nombreux travaux. Bartnicki-Garcia (1968) distingue trois types:

- I. La paroi végétative dérive directement de l'extension de la paroi sporale, ou de l'une de ses couches internes.
- II. Formation *de novo* de paroi cellulaire sur un protoplaste nu (Phycomycètes aquatiques, zoospores).
- III. Formation *de novo* d'une paroi végétative sous la paroi sporale.

A cette époque, on connaissait, germant selon le type I, des *Fungi imperfecti* (*Botrytis*, *Aspergillus*), des Ascomycètes (*Neurospora*, ascospores et conidies) et des Urédinées (*Melampsora*). Les zygomycètes étudiés (*Rhizopus*, *Cunninghamella*, *Gilbertella*, *Mucor*) germent selon le type III, ainsi qu'éventuellement *Fusarium culmorum* (Marchant, 1966) quoique les résultats de cet auteur soient mis en doute par Bartnicki-Garcia (op. cit.).

Depuis, la formation d'une nouvelle paroi lors de la germination a été observée chez d'autres Deutéromycètes, en particulier chez *Aspergillus nidulans* (Border et Trinci, 1970), *Botrytis cinerea* (Gull et Trinci, 1971, en contradiction avec Hawker et Hendy, 1963) et *Helminthosporium spiciferum* (Reisinger, 1972). L'observation précise de la formation ou non d'une nouvelle paroi lors de la germination peut dépendre du mode de fixation choisi (Border et Trinci, 1970). Les travaux antérieurs concluant à la continuité de la paroi du tube germinatif avec la paroi interne de la spore devraient être repris en utilisant la fixation préconisée par ces auteurs.

Chez *C. diplodiella* (pl. IV, 5 et V), la paroi du tube est néoformée à l'intérieur de la spore, bistratée, localisée au voisinage de la zone d'émergence. Il s'agit donc du type III de Bartnicki-Garcia.

Comme nous l'avons observé en microscopie optique, il semble qu'il n'y ait pas de structure germinative préformée, le tube pouvant apparaître aussi bien en position apicale que latérale. Toutefois, l'aspect de la couche B au voisinage du point d'émergence suggère une lyse enzymatique. En outre, la paroi du tube ne se forme, dans la spore, qu'au voisinage de ce point. La localisation du point d'émergence ne se fait donc pas au hasard d'une rupture de la paroi, mais doit être déterminée avant.

### Conclusions générales

L'étude de la germination des pycnidiospores de *C. diplodiella* (Aragno, 1973, 1974 et le présent travail) nous aura permis de résoudre en partie les problèmes posés au départ.

Les conditions optimales de la germination correspondent bien aux propriétés du milieu offert par la pulpe des raisins en voie de maturation. Le caractère parasitaire s'exprime principalement par la nécessité d'un activateur spécifique pour

briser la dormance, l'acide L(+)tartrique, qui est un composant caractéristique de l'hôte. Le processus de la germination a été divisé en un certain nombre de phases, morphologiques et physiologiques. Si le mécanisme de l'activation n'a pas été élucidé, nous avons mis en évidence certaines de ses propriétés intéressantes, telles son indépendance vis-à-vis de l'oxygène et sa sensibilité différentielle vis-à-vis de divers inhibiteurs métaboliques.

Nous espérons, par notre modeste contribution, avoir apporté un peu de lumière sur le phénomène de la germination chez le champignon du Coître. Nous croyons que *C. diplodiella* est un matériel digne d'études plus poussées. La simplicité, la spécificité et l'unicité du mode d'activation permettent de poser clairement le problème du passage de l'état dormant à la vie végétative chez cette espèce, dont la germination est un bon exemple de relation „simple“ entre un parasite et son hôte.

## Résumé

Lors de son individualisation, la pycnidiospore de *C. diplodiella* ne renferme qu'un noyau. Une culture monosporee sera donc génétiquement homogène.

Lors de la maturation des spores, la germinabilité en présence d'acide tartrique est acquise en moins de trois jours, et la mélanisation de la paroi en 6 jours environ.

Une partie des spores est émise spontanément hors des pycnides. Toutefois l'immersion dans une solution de concentration inférieure à 0,4% NaCl provoque une émission beaucoup plus importante, atteignant son maximum dans l'eau distillée.

Morphologiquement, la germination se manifeste par un gonflement peu marqué de la spore (15% du volume environ), suivi de la protrusion du tube germinatif. Celui-ci forme tout d'abord une ampoule, à partir de laquelle se différencient un, voire deux axes de croissance apicale.

La paroi des jeunes spores est bistratée, alors qu'elle présente trois couches à maturité. Lors de la germination, la paroi du tube est néoformée à l'intérieur de la paroi sporale, dans la zone de rupture de celle-ci.

## Summary

The pycnidiospore of *C. diplodiella* contains only one nucleus at formation. Hence, a single spore culture will be genetically homogeneous.

In the maturation process, germinability in tartaric acid is acquired in less than three days, melanization in about six days.

A part of the spores is spontaneously discharged out of the pycnidia. Immersion in diluted NaCl solutions (less than 0,4%) leads to a more important discharge which is maximum in distilled water.

Morphologically, germination begins by a weak swelling (about 15% in volume) followed by the germ-tube protrusion. The latter forms first an ampulla which originates one, sometimes two axes of apical growth.

The young spore wall consists of two layers, the mature one of three layers. During the germination, the tube wall is newly formed within the spore wall, in the rupture zone.

### Zusammenfassung

Die Pyknosporen von *Coniella diplodiella* enthalten während ihrer Bildung nur einen Kern; eine Einsporkultur ist deshalb genetisch homogen.

Während der Sporenreifung wird die Keimfähigkeit in Weinsäure in weniger als drei Tagen erreicht; die Melanisierung der Sporenwand benötigt etwa 6 Tage. Ein Teil der Sporen wird spontan aus den Pyknidien ausgeschieden; in einer NaCl-Lösung von weniger als 0,4% ist die Sporenausscheidung viel grösser und in destilliertem Wasser am grössten.

Die Keimung macht sich morphologisch durch eine geringe Quellung der Spore (ca. 15% des Volumens) bemerkbar, gefolgt vom Austritt des Keimschlauches. Dieser hat zunächst die Form einer Blase, aus der sich eine bis zwei Achsen apikalen Wachstums entwickeln.

Die Wand der jungen Sporen ist zweischichtig, diejenige der reifen Sporen dreischichtig. Bei der Keimung wird die Wand des Keimschlauches im Innern der Sporenwand in der Bruchzone neu gebildet.

Outre les personnes déjà citées dans la première partie de ce travail, et auxquelles nous réitérons nos remerciements, nous tenons à exprimer ici notre gratitude au prof. F. Manganot et au Dr. O. Reisinger, de l'Université de Nancy, dont les conseils ont été une aide précieuse dans l'interprétation de l'ultrastructure de la paroi sporale.

Notre collègue J. Keller a réalisé les coupes et électromicrographies qui nous ont permis d'étudier quelques aspects ultrastructuraux de la spore de *C. diplodiella*. Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance.

## Bibliographie

- Aragno M. 1967a. Formation et évolution de l'asque chez *Rhytisma acerinum* (Pers.) Fr.  
Bull. Soc. Bot. Suisse 77, 173–186.
- 1967b. Formation des ascospores plurinucléées chez *Sarcoscypha coccinea* (Scop. ex Fr.) Lambotte. Nova Hedw. 14, 571–583.
- 1973. Etude de la germination des pycnidiospores de *Coniella diplodiella* (Speg.) Pet. et Syd., agent du coïtre de la vigne. I. Conditions de la germination. Bull. Soc. Bot. Suisse 83 (3) 223–251.
- 1974. Etude de la germination des pycnidiospores de *Coniella diplodiella* (Speg.) Pet. et Syd., agent du coïtre de la vigne. II. Etude du processus de la germination. Bull. Soc. Bot. Suisse 84 (1) 53–72.
- Bartnicki-Garcia S. 1968. Cell Wall Chemistry, Morphogenesis, and Taxonomy of Fungi.  
Ann. Rev. Microbiol. 22, 87–108.
- Border D. et A.P.J. Trinci, 1970. Fine structure of the germination of *Aspergillus nidulans* conidia. Trans. Brit. Mycol. Soc. 54, 143–152.
- Ekundayo J.A. et R.H. Haskins, 1969. Pycnidium production by *Botryodiplodia theobromae*. II. Development of the pycnidium and fine structure of the maturing pycnospor.  
Can. J. Bot. 47, 1423.
- Faes H. et M. Staehelin, 1935. Le coïtre de la vigne (*Coniothyrium diplodiella*).  
Progr. Agric. et Vitic. 56, 108, 134, 158, 187, 258, 281.
- Gull K. et A.P.J. Trinci, 1971. Fine structure of spore germination in *Botrytis cinerea*.  
J. Gen. Microbiol. 68, 207–220.
- Hawker L.E. et R.J. Hendy, 1963. An electron microscope study of germination of conidia of *Botrytis cinerea*. J. Gen. Microbiol. 33, 43–46.
- Heim P. 1952. Observations sur le noyau des Ascomycètes. Rev. Mycol. 17, 3–38.
- Istvanffi G. 1902. Etudes sur le rot livide de la vigne (*Coniothyrium diplodiella*).  
Ann. Inst. Centr. Ampél. Hongr. 2, 288 pp., Pallas, Budapest.
- Marchant R. 1966. Fine structure and spore germination in *Fusarium culmorum*.  
Ann. Bot. 30, 441–446.
- Reisinger O. 1972. Contribution à l'étude ultrastructurale de l'appareil sporifère chez quelques hyphomycètes à paroi mélanisée. Genèse, modification et décomposition.  
Thèse, Université de Nancy I. 192 pp, 65 pl.
- et J.C. Guedenet, 1968. Morphologie ultrastructurale et critères taxinomiques chez les Deutéromycètes. I. Les parois sporales chez *Dendryphiella vinosa* (Berk. et Curt.) Reisinger. Bull. Soc. Myc. Fr. 84, 19–26.
- Turian G. 1969. Différenciation fongique. Monographies de Physiologie Végétale, 5,  
144 pp. Masson, Paris.

Michel Aragno  
Laboratoire de Cryptogamie  
Institut de Botanique  
11, rue E.-Argand  
CH-2000 Neuchâtel 7