Étude ultrastructurale de *Palavascia sphaeromae*
(Trichomycète Eccrinale)
parasite du proctodeum de *Sphaeroma serratum*
(Crustacé Isopode)

par J.-F. MANIER

Laboratoire d'Ichthyologie et de Parasitologie Générale, Université des Sciences et Techniques
du Languedoc, place Eugène-Bataillon, F 34060 Montpellier Cedex

Résumé.

Pour la première fois, tous les stades de développement de *Palavascia sphaeromae* parasite du proctodeum de *Sphaeroma serratum* sont étudiés au microscope électronique. La formation du « pavillon », des enveloppes, des cloisons est suivie. Dans l'apex enroulé des thalles mûrs, les cloisons forment deux catégories de sporanges unispores produisant deux types de spores : spore type 1, multinucléées germant sur place plusieurs microthalles ; spore type 2, d'abord uni- puis quadrinucléées, seuls éléments de propagation de l'espèce. Cette étude prouve que les *Palavasciae* s'intègrent bien dans l'ordre des Eccrinales. Elle est l'occasion d'une nouvelle discussion sur les liens phylétiques pouvant exister entre les Eccrinales et les trois autres ordres de Trichomycètes.

Summary.

Ultrastructural study of *Palavascia sphaeromae* (Trichomycetes Eccrinales) parasite of the proctodeum of *Sphaeroma serratum* (Crustacea Isopoda).

All stages of development of *Palavascia sphaeromae* parasite of the proctodeum of *Sphaeroma serratum*, are studied for the first time under the electron microscope. The formation of the holdfast, cell walls and septa is followed. In the coiled apex of the mature thalli, the septa form two categories of unispore sporangia leading to two types of spores. Type 1, a multinucleate spore giving birth *in situ* to several microthalli. Type 2, a uninucleate at first and then quadrinucleate spore, representing the only propagative elements of the species. This study proves that the *Palavasciae* are well integrated among the Eccrinales order. It also opens a new discussion concerning the phyletic affinities that can exist between the Eccrinales and the other three orders of Trichomycetes.

Accepté le 9 juillet 1979.

L'intestin postérieur d'Isopodes Sphaeromidae s'est révélé, à plusieurs reprises, abondamment infecté par des Eccrinales Palavasciae.

Les Palavasciae Duboscq, Léger et Tuzet, 1948, ex Manier et Lichtwardt 1968 avec le seul genre *Palavascia* Tuzet et Manier, 1947, ex Lichtwardt, 1964 et les trois espèces *P. philosciae* Tuzet et Manier, 1947, ex Manier et Lichtwardt, 1968, parasite de *Philoscia couchii* Kin, *P. sphaeromae* Tuzet et Manier, 1948, ex Manier, 1968, parasite de *Sphaeroma serratum* Fabr., *P. beaufortae* Lichtwardt, 1961, parasite de *Sphaeroma quadridentatum* Say, constituent une famille originale parmi les Trichomycètes Duboscq, Léger et Tuzet, 1948, Eccrinales Léger et Duboscq, 1929. C'est la raison qui nous a incité à reprendre leur étude au microscope électronique en utilisant *P. sphaeromae*.

Les Eccrinales ont fait l'objet d'un nombre peu élevé d'études ultra-structurales (Tuzet et Manier, 1967 ; Grizel, 1971 ; Manier et Grizel, 1972 ; Moss, 1972-1975). Ces études permettent déjà d'établir quelques comparaisons avec les caractères ultra-structuraux de représentants des trois autres ordres de Trichomycètes : Amoebidiales Léger et Duboscq, 1929 ecto- et endo-parasites de petits Arthropodes dulçaquicoles (Whisler et Fuller, 1968) ; Asellariales Manier 1950, ex Manier et Lichtwardt, 1978 parasites de Crustacés Isopodes et d'Insectes Collembolles (Manier 1973 ; Moss, 1975) ; Harpellales Lichtwardt et Manier, 1978 parasites de larves aquatiques d'Insectes (Manier et Coste-Mathiez, 1968 ; Moss 1972-1975 ; Reichle et Lichtwardt, 1972). Des problèmes phylétiques tant au sein de la classe des Trichomycètes qu'entre cette classe et d'autres Fungi ont déjà été abordés grâce à l'observation des ultrastructures (Moss et Young, 1978), mais de nouvelles études ne sont pas inutiles pour étayer ces premiers résultats ; tel est un des buts de ce travail.

Matériel et techniques

Les *Sphaeroma serratum* parasités par *Palavascia sphaeroma* ont été récoltés en bordure de l'étang de Thau à Balaruc (Hérault) France. A chaque stade de leur développement, les sphéromes sont susceptibles d'héberger des *Palavascia* dans leur proctodeum. Le champignon effectue tout son cycle aussi bien dans des animaux indifférenciés que dans des femelles ou des mâles âgés. La phase de reproduction du thallophyte correspond en général à la crise physiologique qui accompagne l'exuviation du Crustacé. L'intestin postérieur infecté se dégage aisément quand, après avoir sectionné la tête de l'Isopode, une traction est exercée sur le telson. Les intestins parasités ont été traités en vue d'une observation au microscope électronique. Les pièces ont été fixées à environ 4 °C dans le mélange de Palade (acide osmique 2 p. 100 dans le tampon véronal), déshydratation à l'éthanol et inclusion dans le Spurr. Les coupes ultrafines, après mordantage dans l'acétate d'Uranyle alcoolique, ont été contrastées par les sels de Plomb selon Reynolds. Le microscope Carl Zeiss EM 9 A a été utilisé pour les observations.

Données de la microscopie photonique

Le cycle de *Palavascia sphaeroma* (Pl. 1).

Des spores infectantes de *P. sphaeromae* sont avalées par *Sphaeroma serratum* avec les aliments. Elles se fixent solidement par une ventouse adhésive, le « pavillon ». L'accrochage se fait de préférence dans la région antérieure de l'intestin postérieur. Le « pavillon » est brusquement formé, la spore est d'emblée attachée à la cuticule proctodéale et ne peut plus être entraînée avec les résidus de la digestion. Tout le thallophyte se développe entre la spore génératrice persistante et le « pavillon » (Pl. 1, A, B). Pendant la période végétative *P. sphaeromae* est une longue cellule multinucléée rectiligne ou légèrement incurvée, de 2 à 5 mm de long, 30 à 45 μ m de large dans la région proximale, 18 à 35 μ m dans la partie distale. Au cours de l'allongement du parasite son apex se rapproche de plus en plus de la région anale de l'hôte. La période de reproduction est annoncée par une courbure de l'apex du champignon (Pl. 1, F) suivie de l'apparition, dans cette région, de cloisons parallèles perpendiculaires au grand axe de la cellule (Pl. 1, C). A l'approche de la mue du Sphérome, ces cloisons individualisent deux types de sporanges unisporés. Des sporanges à sporangiospores à peu près isodiamétriques plurinucléées (sporanges et sporangiospores du type 1) qui donnent naissance sur place, sans se dégager du sporange, à plusieurs microthalles mesurant 5 à 6 μ de diamètre dans la région proximale, 2 à 4 μ à l'extrémité libre (Pl. 1, C) (1). Les microthalles se divisent sur toute leur longueur plus ou moins régulièrement pour former des articles uninucléés ou microspores à rôle énigmatique (Pl. 1, D). Des sporanges à sporangiospores plus larges que hautes, uninucléées, (sporanges et sporangiospores du type 2) qui se transforment à maturité en spores durables quadrinucléées de 20 à 35 μ m $\times$ 9 à 14 μ m rejetées à l'extérieur avec la mue de l'Isopode (Pl. 1, E). Ces spores sont les seuls éléments de propagation de l'espèce. Les sporangiospores à microthalles sont moins nombreuses et plus proximales que les sporangiospores durables ; elles s'intercalent parfois entre deux longues séries de spores durables. L'apex contenant les spores décrit un ou deux tours de spire ; les spores durables ne demeurent pas régulièrement empilées les unes au-dessus des autres, elles glissent et se chevauchent. La longue portion de thalle ne sporulant pas dégénère. A chaque mue le Sphérome se débarrasse de la totalité des *Palavascia* sans que ceux-ci n'aient jamais occasionné ni occlusion intestinale ni septicémie.

(1) D'autres Eccrinales (*Astreptonema* Hauptleish, 1895 ; *Alacrinella* Manier et Ormières, 1961, ex Manier 1968 ; *Ramacrinella* Manier et Ormières, 1961, ex Manier 1968) forment des microthalles, mais ceux-ci naissent à partir des sporangiospores dégagées des sporanges qui se fixent directement sur l'intestin et se développent indépendamment.

PLANCHE I

Données de la microscopie électronique

Développement végétatif de *P. sphaeroma*

Ce stade de croissance peut se diviser en deux temps : la courte phase de fixation de la spore, la formation du long thalle s'étirant entre le « pavillon » et le vestige sporal.

— *Accrochage de la spore à la cuticule proctodéale de l'hôte (Pl. III, A).*

La spore qui se fixe dans le proctodeum est dégagée de l'enveloppe externe qui l'entourait dans le sporange et dont nous aurons à reparler. Avant de se fixer elle est déjà orientée, un de ses pôles étant perforé d'une plage de pores au travers desquels s'épanchera la substance constitutive du « pavillon » (Pl. VI, D). Au moment de son accrochage la spore encore très dense est limitée par une enveloppe à trois couches : une pellicule externe opaque ; une couche fibrillaire de 200 à 250 nm dont les fibrilles s'orientent pour former deux stratifications. Seule la pellicule externe est continue au niveau du « pavillon », c'est elle qui est criblée de pores. Les deux zones internes s'effilochent puis s'interrompent à ce niveau, ne constituant plus une barrière. La membrane plasmique se déprime, s'enfonce en une lentille concave dans la région du « pavillon ». Il se crée ainsi entre elle et la couche percée de pores, une poche où s'accumulent les produits de sécrétion avant d'aller former la ventouse adhésive. Le pôle où se forme le « pavillon » est une région de forte activité métabolique. Le chondriome est abondant ; des sphérules denses se dépolymérisent ; différents organites bordés d'une membrane (vacuoles, vésicules golgiennes, diverticules du réticulum endoplasmique) soudent leur membrane au plasmalemma dont les contours sont tourmentés et déversent à l'extérieur leur contenu pour former l'organe adhésif. Le « pavillon » en forme de pied de coupe, pince l'intestin l'attirant à la manière d'une ventouse

Pl. I. — *Palavascia sphaeromae*. A à E : microscopie photonique. F : microscopie à balayage

A. — Spores venant de se fixer, jeunes thalles.

B. — Jeune thalle.

C. — Extrémité de thalle recourbée montrant la spore génératrice et trois sporangiospores commençant à germer des microthalles.

D. — Thallophte à apex enroulé contenant plusieurs sporangiospores, microthalles bien développés remplis de microspores.

E. — Thalle au terme de son développement : nombreuses spores durables, microthalles (pointe de flèche), région proximale du thalle toujours solidement attachée par le « pavillon » mais dégénérante.

F. — Intestin déchiré pour laisser apparaître l'apex des *Palavascia* se recourbant (flèche) et allant se reproduire ou déjà en sporulation.

C.in : cuticule intestinale ; msp : microspore ; mth : microthalle ; Mth : Macrothalle ; P : « pavillon » de fixation ; Sp : spore génératrice ; Ssp : sporangiospore ; V : vacuome.

sans toutefois attaquer la cuticule proctodéale. Une substance muqueuse environne le « pavillon » et la base du thalle, engluant des débris alimentaires (Pl. III, A).

— *Croissance du parasite.*

Elle s'accompagne obligatoirement d'une extension de l'enveloppe, d'une multiplication des organites.

Le « pavillon » se forme brusquement, par contre le matériel nécessaire à l'accroissement de l'enveloppe s'élabore durant toute la durée de l'allongement. Les mécanismes assurant la genèse de la ventouse de fixation et des enveloppes sont cependant comparables. Des vésicules golgiennes, des vacuoles, des diverticules du réticulum endoplasmique, déversent leur contenu à l'extérieur de l'enceinte limitée par la membrane plasmique selon un phénomène inverse à celui d'une pinocytose (Pl. II, C). Ces différents organites raccordent leur membrane à la membrane plasmique dont la surface augmente. La désintégration de corps denses, très largement répandus dans le cytoplasme, est aussi à l'origine des substances déversées dans l'enveloppe. Ces corps denses, de formes irrégulières, se brisent par l'apparition de failles électroniquement transparentes. L'enveloppe qui est en continuité avec l'enveloppe sporale est, comme elle, constituée de trois couches : une mince zone externe dense, une zone fibrillaire divisée en deux strates (Pl. II, A, A'). L'épaisseur de l'enveloppe varie de 100 à 850 nm selon la taille, l'âge, le niveau du thalle. La substance fibrillaire constituant l'enveloppe peut être déformée au niveau de granules de sécrétion et d'organites dégénérésents englobés (Pl. II, B). Entre les couches fibrillaires et la membrane plasmique chargée, une zone transparente plus ou moins importante est souvent à considérer comme un décollement, un artefact.

Durant la phase végétative le centre de la cellule est en général occupé par un important vacuome qui repousse pariétalement la masse cytoplasmique chargée d'organites. Les vacuoles centrales limitées par une membrane protéinique sécrétante, s'accroissent par adjonction de vésicules, de vacuoles de plus petites tailles. Des spérules denses se transformant en corps multi-vésiculaires transparents participent aussi au développement du vacuome (Pl. II, D).

Pl. II. — *Palavascia sphaeromae*

A. — Demi section longitudinale d'un thalle végétatif.

A'. — Détail de l'enveloppe à trois couches (flèches).

B. — Enveloppe enrobant des nodules de sécrétion et des organites dégénérésents.

C. — Genèse de l'enveloppe et accroissement de la surface de la membrane plasmique. Apport de matériel granulo-fibrillaire par le réticulum endoplasmique, les vésicules golgiennes, des sphérules denses se dépolymérisant (formation de failles).

D. — Genèse du vacuome avec le concours des membranes et des sécrétions de corps denses se transformant en corps multivésiculaires.

C.d.f. : corps denses, dépolymérisation par apparition de failles ; C.d.v. : corps denses donnant des corps multivésiculaires ; En : enveloppe ; G : appareil de Golgi ; M : mitochondrie ; M.p : membrane plasmique ; N : noyau ; n : nucléole ; O.d : organite dégénérésent ; Sc : sécrétion ; R.e : réticulum endoplasmique ; V : vacuome.

PLANCHE II

Les noyaux assez polymorphes mesurent environ 3 μm de diamètre. Ils contiennent un gros nucléole. Leur chromatine est soit pulvérulente et régulièrement répartie, soit réunie en mottes. L'enveloppe nucléaire est conservée durant la multiplication nucléaire qui ne fait intervenir ni centriole ni fuseau de division. Une prolifération membranaire assure la séparation de chaque noyau en deux masses qui s'écartent l'une de l'autre.

Un abondant réticulum endoplasmique lisse ou granulaire serpente entre différents organites : nombreuses mitochondries étirées en longs rubans parallèles au grand axe de la cellule, appareil de Golgi constitué par des assemblages de vésicules, sphérules denses se transformant en corps multivésiculaires, organites polymorphes se brisant lors de leur dépolymérisation, flaques lipidiques, granules glucidiques, vacuoles, ribosomes isolés ou groupés en polysomes (*Pl. II*). A l'approche de la période de reproduction, l'abondance de ces organismes s'accroît ; le nombre, le volume des vacuoles diminuent au niveau de l'apex enroulé du thallophyte.

Reproduction de *Palavascia sphaeromae*

L'apparition de cloisons parallèles plates ou courbes dans la portion distale enroulée du champignon marque le début de la phase de reproduction (*Pl. IV, A*). Ces séparations sont en continuité avec la couche fibrillaire interne de l'enveloppe du thalle. Des vésicules claires contenant un matériel finement granuleux soudent leur membrane au plasmalemma et déversent leur contenu pour édifier progressivement le septum. Celui-ci se referme en repoussant devant lui la membrane plasmique et son obturation finit par être totale. Une surabondance de matériel fibrillaire non seulement ferme le pore mais constitue un volumineux bouchon obturateur lenticulaire central. La membrane plasmique recouvre de chaque côté totalement la cloison et la lentille médiane (*Pl. IV, B*). Une barrière sépare complètement deux sporanges successifs. Les enveloppes sporangiales ne se distinguent pas de la paroi interne du thalle et des cloisons (*Pl. IV, C - Pl. VI, A*). Les sporanges contiennent deux types de spores.

Pl. III. — *Palavascia sphaeromae*

A. — « Pavillon » de fixation, paroi intestinale soulevée à son niveau. Interruption de l'enveloppe excepté au niveau de la mince couche externe qui se perfore (petites flèches blanches). Noter la projection de la membrane plasmique et l'élaboration de sécrétion (pointe de flèche).

B. — Sporangiospores multinucléées (type 1), cloison limitant deux sporanges consécutifs. Début de germination d'un microthalle.

C. — Microthalle avec microspores.

C.d.f. : corps dense, dépolymérisation par formation de failles ; C.in : cuticule intestinale ; Cl : cloison ; En : enveloppe du thallophyte ; En.sp : enveloppe sporale ; E.in : épithélium intestinal ; Ep.l : épaississement lenticulaire dans la région médiane des cloisons ; M : mitochondrie ; M.gl : manchon gluant empâtant la base du thalle et le « pavillon » ; M.p : membrane plasmique ; Mth : macrothalle ; mth : microthalle ; N : noyau ; n : nucléole ; Sp.m : spore multinucléée.

PLANCHE III

Sporangiospores du type 1.

La masse cytoplasmique isolée est d'abord recouverte seulement par la membrane plasmique. Une enveloppe sporale propre se dépose ensuite, sa genèse rappelle celle des cloisons. Elle mesure 250 à 300 nm d'épaisseur, est formée d'une mince couche externe parfois peu distincte et d'une zone fibrillaire à deux strates. Tout en continuant à occuper la quasi totalité du sporange la spore arrondit ses contours au cours de sa maturation. Les noyaux nucléolés se multiplient dans une masse cytoplasmique riche en ribosomes, mitochondries, corps denses, sphérules lipidiques, réticulum endoplasmique granulaire; à l'origine les vacuoles sont petites et peu nombreuses. Plus tard de nouvelles vacuoles apparaissent, augmentent de volume et confluent pour engendrer un vaste vacuome central (Pl. IV, C). Les sporangiospores montrent alors une zone pariétale dense avec différents organites et des vacuoles centrales à contenu faiblement granuleux englobant quelques reliquats d'organites. La pression osmotique du vacuome aide à l'émergence des microthalles. Ceux-ci au début de leur formation exercent une pression sur les enveloppes confondues du thalle et du sporange qui se rompent (Pl. III, B - Pl. V, A). Les microthalles sont protégés par une expansion de l'enveloppe de la sporangiospore. Pendant leur phase de croissance (avant l'apparition des cloisons) les noyaux se multiplient activement dans une masse cytoplasmique rappelant celle de la zone pariétale dense de la sporangiospore par l'abondance des ribosomes, des mitochondries, du réticulum endoplasmique. Les cloisons apparaissent entre deux masses nucléaires venant de se diviser (Pl. V, B). Comme dans le cas des macrothalles, l'obturation de la cloison est progressive et totale (Pl. V, B, D); une grosse formation lenticulaire occupe le centre du septum (Pl. V, C). Le cloisonnement individualise des microsporangies contenant chacun une microspore uninucléée limitée par une membrane plasmique irrégulière formant des digitations (Pl. III, C - Pl. V, D). Les microspores à noyaux polymorphes, à mitochondries globuleuses garnies de longues crêtes parallèles projetées dans une matrice opaque, sont surtout caractérisées par un volumineux vacuome rempli de délicates formations fibrillaires (Pl. III, C). Ces vacuoles peuvent déverser leur contenu entre la membrane plasmique et l'enveloppe du microthalle sans constituer une enveloppe sporale organisée. Après la germination des microthalles la macrosporangiospore épuisée ne contient plus que des vacuoles et un petit nombre d'organites souvent lysés.

 Pl. IV. — *Palavascia sphaeromae*

A. — Deux sporanges uninucléés (type 2) qui se transformeront en spores durables.

B. — Portion de cloison individualisant les sporanges. Noter les organites contribuant à l'élaboration du septum. La coupe passe par le centre épaissi et totalement obturé de la cloison; la membrane plasmique est continue à ce niveau.

C. — Sporangiospore multinucléée (type 1) à l'origine des microthalles. Remarquer l'importance du vacuome central.

Cl: cloison; En: enveloppe du thallophyte; En.sp: enveloppe sporale; Ep.l: épaississement lenticulaire dans la région médiane des cloisons; M.p: membrane plasmique; Mth: macrothalle; mth: microthalle; N: noyau; n: nucléole; V: vacuome.

PLANCHE IV

PLANCHE V — *Palavascia sphaeromae*

A. — Sporangiospore multinucléée (type 1) germant deux microthalles. Noter les points de rupture de l'enveloppe du thallophyte (flèches).

B. — Formation de la cloison dans un microthalle. La cloison se referme comme un diaphragme.

C. — Obturation totale de la cloison du microthalle, épaississement lenticulaire central.

D. — Microthalle.

Cl : cloison ; En : enveloppe du thallophyte ; En.sp : enveloppe sporale ; Ep.l : épaississement lenticulaire dans la région médiane des cloisons ; M : mitochondrie ; M.p : membrane plasmique ; mth : microthalle ; N : noyau ; n : nucléole.

PLANCHE VI — *Palavascia sphaeromae*

A. — Disposition des spores dans l'apex enroulé du champignon. Noter la faible épaisseur des cloisons qui se déforment sous la pression des spores. Un des septums montre encore le gonflement médian (flèche). Chaque spore est protégée par une épaisse enveloppe externe plissée et par une enveloppe interne plus étroite.

B. — A un plus fort grossissement, image de l'obturateur lenticulaire qui occupe le centre des cloisons.

C. — Spore durable retenue dans le sporange et dans sa double enveloppe. A un de ses pôles l'enveloppe interne est criblée de pores (points de flèche).

D. — Détail du pôle sporal au niveau duquel l'enveloppe interne est transformée en un champ poreux.

Ch.p : champ poreux ; Cl : cloison ; En : enveloppe du thallophyte ; En.sp 1 : enveloppe sporale externe ; En.sp 2 : enveloppe sporale interne ; Ep.l : épaississement lenticulaire obstruant le centre des cloisons ; M.p : membrane plasmique ; N : noyau.

Sporangiospores du type 2.

Des cloisons plus minces que celles séparant les sporangiospores du type 1 isolent des îlots cytoplasmiques plus larges que hauts qui occupent tout le sporange et sont déprimés au niveau de l'obturation du pore septal (Pl. IV, A, B). Au début de leur genèse les sporangiospores du type 2 sont limités par la membrane plasmique, un abondant vacuome leur confère une texture plus lâche que celle des spores 1. Pendant la maturation un complexe d'enveloppes s'édifie avec le concours de vacuoles à contenu clair, des vésicules golgiennes, du réticulum endoplasmique ; tous ces organites véhiculent des produits de sécrétion. Cet ensemble protecteur est composé d'une enveloppe externe d'où s'échappera ultérieurement la spore et d'une enveloppe sporale proprement dite (Pl. VI, C, D). L'enveloppe externe est constituée d'une zone dense et d'une strate fibrillaire sous-jacente lâche. Une région très perméable aux électrons, d'une épaisseur variable pouvant faire l'objet de décollement, sépare les deux enveloppes. L'enveloppe sporale proprement dite est constituée d'une zone externe dense et d'une zone fibrillaire. La spore retenue dans le sporange est déjà polarisée ; à un de ses pôles son enveloppe sporale proprement dite est criblée de pores. La formation des enveloppes est accompagnée d'une densification du contenu cellulaire ; les organites se contractent, se tassent, les vacuoles diminuent de nombre et de taille. En même temps la spore change de forme, s'ovalise, l'enveloppe externe se plisse autour d'elle. Ce plissement, surtout visible dans la couche marginale dense, se traduit par une plus grande concentration des fibrilles dans la zone interne. Les spores mûres ne sont plus disposées parallèlement les unes aux autres, elles glissent tout en restant prisonnières des sporanges ; en effet, les minces cloisons résistent mais se déforment (Pl. VI, A). Le mouvement d'enroulement de l'apex de *P. sphaeromae* favorise ce chevauchement.

Discussion - Conclusion

Cette étude ultrastructurale fournit de nouveaux critères confirmant l'appartenance de la très particulière famille des Palavasciae à l'ordre des Eccrinales. Les observations faites sont aussi l'occasion de rediscuter des liens pouvant exister entre les Eccrinales et les autres ordres de Trichomycètes.

Peu de conclusions peuvent être tirées de l'étude du noyau et de ses divisions. Pour *Palavascia sphaeromae* comme pour beaucoup de Trichomycètes (observations personnelles) la division nucléaire ne semble faire intervenir ni centriole ni fuseau, l'enveloppe du noyau persiste, prolifère et subdivise chaque masse nucléaire. Cependant une étude au microscope photonique (Moss, 1974) fait état, chez l'Harpellale *Stachylina grandispora* Lichtwardt, 1972, d'une division mitotique avec apparition de chromosomes.

Un appareil de Golgi existe chez les Eccrinales, comme vient de le confirmer l'étude de *P. sphaeromae*. Les Amoebidiales sont aussi équipées de vésicules golgiennes

groupées en glomérules, par contre, Harpellales et Asellariales semblent dépourvues de ces organites sécréteurs.

Le « pavillon » qui fixe le thalle des Eccrinales, des Amoebidiales et de quelques Harpellales est-il un bon critère systématique ?

Différentes études ultrastructurales réservées aux Eccrinales (Grizel, 1971 ; Manier et Grizel, 1972 ; Moss, 1972-1975) montrent que chez *Astreptonema gammari* (Léger et Duboscq, 1906) Manier, 1964, chez *Taeniellopsis susplugasi* Manier, 1950 ex Manier, 1969, chez *Eccrinidus flexilis* (Léger et Duboscq, 1906) Manier, 1969, le mécanisme de la formation du « pavillon » est identique à celui de *Palavascia sphaeromae*. Au niveau du pôle de fixation, seule la couche externe de l'enveloppe persiste et elle est criblée de pores. Le pôle proximal révèle une grande activité métabolique ; différents organites soudent leur membrane au plasmalemma et déversent leur contenu au travers des pores de l'enveloppe pour former le « pavillon ».

La genèse du « pavillon » chez les Amoebidiales est assez comparable à celle des Eccrinales (cf. Whisler et Fuller, 1968) mais les pores traversent toute l'enveloppe sporale et on trouve un champ poreux à chaque pôle dont un seul sert de crible à la substance du « pavillon ».

Reichle et Lichtwardt (1972) décrivent une structure très particulière de la ventouse de fixation de l'Harpellale *Harpella melusinae* Léger et Duboscq, 1929. Une cloison sépare l'organe d'accrochage de la masse cytoplasmique. Sous cette cloison deux parties de densités différentes constituent le « pavillon ». En outre, dans la région basale l'enveloppe cellulaire forme 30 à 40 digitations qui sont enrobées dans un matériel gluant compact.

Dans tous les cas évoqués le « pavillon » ne pénètre pas la cuticule de l'hôte. Par contre, Moss (1972) décrit chez deux Harpellales Legeriomycetaceae Pouzar, 1972 un « pavillon » qui est une simple modification de l'enveloppe cellulaire s'enfonçant dans des striations de la membrane périthroïque de l'hôte. Les relations hôte-parasite sont plus étroites que dans les exemples précédents.

La forme du « pavillon », variable suivant les ordres, pourrait aider à une discrimination systématique mais, l'absence ou la présence de cette ventouse dans des genres voisins (Harpellales) rend le critère aléatoire.

Les Eccrinales forment des cloisons uniquement au moment de la reproduction ; les septums des Harpellales et des Asellariales apparaissent dès la phase végétative et se multiplient à maturité pendant la sporulation. Les cloisons de tous les Trichomycètes sont constituées par un matériel en continuité avec la couche interne de l'enveloppe. Elles se ferment progressivement à la façon d'un diaphragme.

Chez l'Eccrinale *Astreptonema gammari* (Léger et Duboscq, 1932) Manier, 1964 étudiée par Moss (1975) comme chez *Palavascia sphaeromae*, la région centrale de la cloison est comblée par un important matériel fibrillaire ; cloison et tampon médian sont entièrement recouverts par la membrane plasmique, la séparation entre deux sporanges adjacents est complète.

Par contre, dans le cas des Asellariales (Manier, 1973 ; Moss, 1975) et des Harpellales (Manier et Coste-Mathiez, 1968 ; Manier, 1973 ; Moss 1972-1975 ; Moss et

Lichtwardt, 1976) la cloison demeure pourvue d'un pore central ; tous deux sont recouverts par la membrane plasmique mais un bouchon interrompt le courant cytoplasmique entre les deux cellules. Ce type de cloison se retrouve chez des représentants de la famille de Kickxellaceae aussi Moss et Young (1978) ont proposé un rapprochement phylétique entre Kickxellales, Harpellales et Asellariales.

Les sporanges des Eccrinales *A. gamamri* et *P. sphaeromae* ne se distinguent pas des cloisons et de l'enveloppe du thallophyte. Pour *P. sphaeromae* les spores du type 1 sont protégées par une enveloppe qui s'étend au moment de la germination pour recouvrir les microthalles. Les spores du type 2 sont recouvertes par une double enveloppe ; rejetées avec la mue du Sphérome elles quittent la loge sporangiale et se dégagent de l'enveloppe externe. A ce moment Lichtwardt (1973) signale la présence d'expansions sporales externes « horn-like appendages » qui pourraient correspondre aux reliquats de l'enveloppe externe.

Les critères ultrastructuraux ne sont pas toujours faciles à coordonner et à utiliser à des fins systématiques et phylétiques ; aussi d'autres techniques ont été employées pour tenter de mieux résoudre les problèmes posés par les Trichomycètes.

Une étape importante dans la compréhension de cette classe a été potentiellement atteinte quand ces thallophytes ont pu être cultivés *in vitro*. Malheureusement, pour le moment, seules Amoebidiales (Whisler 1960-1961-1962) et quelques Harpellales (Farr et Lichtwardt, 1964 ; Lichtwardt 1964 *b* ; El Buni et Lichtwardt, 1976 *a, b*) ont proliféré en culture. Toute tentative de culture d'Eccrinales et d'Asellariales a été vouée à l'échec. L'abondance du matériel fourni par des cultures a permis d'entreprendre des études chimiques et sérologiques et de confronter les résultats ainsi obtenus avec les données structurales et ultrastructurales acquises.

La composition chimique de l'enveloppe isolée de *Amoebidium parasiticum* Cienkowski, 1861 a été donnée par Whisler (1963), Trotter et Whisler (1965) ; celle de *Smittium culisetae* Lichtwardt, 1964 par Sangar et Dugan (1973). Ces analyses jointes à celles faites par Whisler en s'adressant à des Eccrinales (*Enterrobryus* sp.) et à des Harpellales (*Pteromaktron protrudens* Whisler, 1963) extraits de l'intestin de leur hôte, laissent perplexes et ne permettent pas de résoudre le problème des affinités.

Par contre les conclusions d'études sérologiques réalisées par Sangar et coll. (1972) vont dans le sens de celles déduites d'observations morphologiques. Il n'y a pas de relation immunologique entre Amoebidiales et Harpellales mais des affinités immunologiques existent entre deux Kickxellaceae *Linderina pennispora* et *Dispacomyces acuminosporus* et plusieurs espèces de *Smittium* (Harpellales).

Une récente analyse de stérols synthétisés par des Trichomycètes se développant en culture a été faite par Starr et coll. (1979). Si elle confirme l'hétérogénéité de la classe, elle jette un certain trouble en ce qui concerne les relations entre Harpellales et Kickxellales établies précédemment sur des données morphologiques.

Cette étude confirme l'appartenance des *Palavasciae* à l'ordre des Eccrinales. Le concours d'analyses morphologiques (structurales et ultrastructurales), chimiques, sérologiques, prouvent l'hétérogénéité de la classe des Trichomycètes. De nouvelles

études auront à confirmer le rapprochement Harpellale-Asellariale et Kickxellales. Les Amoebidiales, les Eccrinales sont des groupes particuliers dont les affinités demeurent à rechercher.

Bibliographie

- Clark T. B., Kellen W. R., Lindegren J. E. (1963) : Axenic culture of two Trichomycetes from Californian Mosquitoes. *Nature*, 197, 208-209.
- Duboscq O., Léger L., Tuzet O. (1948) : Contribution à la connaissance des Eccrinides. *Arch. Zool. Exper. Gen., Fr.*, 86, 29-144.
- El Buni A. M., Lichtwardt R. W. (1976 a) : Asexual sporulation and mycelial growth in axenic cultures of *Smittium* spp (Trichomycetes). *Mycologia*, 69, 559-572.
- El Buni A. M., Lichtwardt R. W. (1976 b) : Spore germination in axenic cultures of *Smittium* spp (Trichomycetes). *Mycologia*, 68, 573-582.
- Farr D. F., Lichtwardt R. W. (1957) : Some cultural and ultrastructural aspects of *Smittium culisetæ* (Trichomycetes) from Mosquito larvae. *Mycologia*, 59, 172-182.
- Grizel H. (1971) : Le parasitisme chez les Amphipodes de la région de Montpellier. *Thèse Dr. Spécial. U.S.T.L. Montpellier*, 125 p.
- Léger L., Duboscq O. (1929 a) : *Eccrinoides hennequyi* n.g. n.sp. et la systématique des Eccrinides. *Arch. Anat. Micros., Fr.*, 25, 309-324.
- Léger L., Duboscq O. (1929 b) : L'évolution des *Paramoebidium*, nouveau genre d'Eccrinides, parasite des larves aquatiques d'Insectes. *C.R. Acad. Sci., Fr.*, 189, 75-77.
- Lichtwardt R. W. (1961) : A *Palavascia* (Eccrinales) from the marine Isopod *Sphaeroma quadridentatum* SAY. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.*, 77, 242-249.
- Lichtwardt R. W. (1964 a) : Validation of the genus *Palavascia* (Trichomycetes) *Mycologia*, 56, 318-319.
- Lichtwardt R. W. (1964 b) : Axenic culture of two new species of branched Trichomycetes. *Am. J. Bot.*, 51, 836-842.
- Lichtwardt R. W. (1973) : The Trichomycetes : what are their relationships. *Mycologia*, 55, 1-20.
- Lichtwardt R. W., Manier J.-F. (1978) : Validation of the Harpellales and Asellariales. *Mycotaxon*, 7, 441-442.
- Manier J.-F. (1950) : Recherches sur les Trichomycètes. *Ann. Sci. Nat., Bot.*, 11^e sér., 11, 53-162.
- Manier J.-F. (1968) : Validation de Trichomycètes par leur diagnose latine. *Ann. Sci. Nat. Bot.*, 12^e sér., 9, 93-108.
- Manier J.-F. (1969) : Trichomycètes de France. *Ann. Sci. Nat., Bot.*, 12^e sér., 10, 565-672.
- Manier J.-F. (1973) : Quelques aspects ultrastructuraux du Trichomycète Asellariale, *Asellaria ligiae* Tuzet et Manier, 1950, ex Manier, 1968. *C.R. Acad. Sci., Paris*, 276, sér. D, 3429-3431.
- Manier J.-F., Coste-Mathiez F. (1968) : L'ultrastructure du filament de la spore de *Smittium mucronatum* Manier et Mathiez, 1965 (Trichomycète, Harpellale). *C.R. Acad. Sci.*, 266, 341-342.
- Manier J.-F., Grizel H. (1972) : L'ultrastructure de l'enveloppe et du « pavillon » des Trichomycètes Eccrinales. *C.R. Acad. Sci.*, 274, 1159-1160.
- Manier J.-F., Lichtwardt R. W. (1968) : Révision de la systématique des Trichomycètes. *Ann. Sci. Nat., Bot.*, 12^e sér., 9, 519-532.
- Moss S. T. (1972) : Occurrence, cell structure and taxonomy of the Trichomycetes with special reference to electron microscope studies of *Stachylina*. *Thèse, Ph. D., Univ. Reading G.B.*, 340 p.
- Moss S. T. (1974) : A note on the nuclear cytology of *Stachylina grandispora* (Trichomycètes, Harpellales). *Mycologia*, 66, 173-178.
- Moss S. T. (1975) : Septal structure in the Trichomycetes with special reference to *Astreptonema gammari* (Eccrinales). *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 65, 115-127.
- Moss S. T., Lichtwardt R. W. (1976) : Development of trichospores and their appendages in *Genistellospora homothallica* and other Harpellales and fine structural evidence for the sporangial nature of trichospores. *Canad. T. Bot.*, 54, 2346-64.

- Moss, S. T., Young W. K. (1978) : Phyletic considerations of the Harpellales and Asellariales (Trichomycetes Zygomycotina) and the Kickxellales (Zygomycetes, Zygomycotina). *Mycologia*, 70, 944-963.
- Reichle R. E., Lichtwardt R. W. (1972) : Fine structure of the Trichomycete, *Harpella melusine* from Black-Fly guts. *Arch. Mikrobiol.*, 81, 103-125.
- Sangar V. K., Dugan P. R. (1973) : Chemical composition of the cell wall of *Smittium culisetæ* (Trichomycetes). *Mycologia*, 65, 421-431.
- Sangar V. K., Lichtwardt R. W., Kirsch J. A. W., Lester R. N. (1972) : Immunological studies on the fungal genus *Smittium* (Trichomycetes). *Mycologia*, 64, 342-358.
- Starr A. M., Lichtwardt R. W., Mc Chesney J. O., Baer T. A. (1979) : Sterols synthesized by cultured Trichomycetes. *Arch. Microbiol.*, 120, 185-189.
- Trotter M. J., Whisler H. C. (1965) : Chemical composition of the cell wall of *Amoebidium parasiticum*. *Canad. J. Bot.*, 43, 869-876.
- Tuzet O., Manier J.-F. (1947) : *Palavascia philoscii* n.g. n.sp., Entophyte eccliforme parasite de *Philoscia couchii* Kin. *C.R. Acad. Sci.*, 224, 1854-1856.
- Tuzet O., Manier J.-F. (1948) : La reproduction sexuée chez *Palavascia philoscii* Tuzet et Manier et chez *Palavascia sphaeromae*; nouvelle espèce de Palavasciées parasite de *Sphaeromae serratum* F. *C.R. Acad. Sci.*, 226, 2177-2178.
- Tuzet O., Manier J.-F. (1967) : *Enterobryus oxidi* Lichtwardt, Trichomycete Eccrinale parasite du Myriapode Diplopode *Oxidus gracilis* (Koch). (Cycle, ultrastructure). *Protistologica*, 3, 413-421.
- Whisler H. C. (1960) : Pure culture of the Trichomycete, *Amoebidium parasiticum*. *Nature*, 186, 732-733.
- Whisler H. C. (1961) : Cultural studies of the Trichomycetes. *Thesis University of California*. Berkeley, Ca., 148 p.
- Whisler H. C. (1962) : Culture and nutrition of *Amoebidium parasiticum*. *Am. J. Bot.*, 49, 193-199.
- Whisler H. C. (1963) : Observations on some new and unusual enterophilous Phycomycetes. *Canad. J. Bot.*, 41, 887-900.
- Whisler H. C., Fuller M. S. (1968) : Preliminary observations on the holdfast of *Amoebidium parasiticum*. *Mycologia*, 60, 1068-1079.
- Young T. W. K. (1969) : Ultrastructure of aerial hyphae in *Linderina pennisporea*. *Ann. Bot.*, 33, 211-216.
-