

Différenciation *in situ* des sporocarpes de *Stemonitis axifera* (Bull.) Macbr.

Yolande DALPE^a, Michel CORBEIL^b & Christiane CORBEIL^c

^aCRECO, Agriculture et agroalimentaire Canada Ottawa
dalpey@agr.gc.ca

^bGrenville-sur-la-Rouge Québec Canada
michel_corbeil@sympatico.ca

Résumé – Le suivi en milieu naturel de la différenciation des sporocarpes de *Stemonitis axifera* a permis de détailler par une séquence de macrophotographies réalisée sur une période de 24 heures les étapes de leur développement. Une vingtaine d'heures sont requises pour la complète maturation des plasmodes en sporocarpes, dont 8 heures pour l'induction des sporanges, le développement des columelles et des stipes, 6 heures pour leur maturation et 6 heures pour la libération des spores.

Mycetozoa / *Stemonitis* / sporocarpes / différenciation

Abstract – Under natural environment, the differentiation of *Stemonitis axifera* sporocarps has been observed on a 24 hours period. A macrophotography sequence details the development stages from early plasmodia to spore dispersion. About twenty hours were required for the completion of sporocarp maturation, including eight hours for the induction of sporangia and the columella and stalk development, 6 more hours for the pigmentation and maturation of sporocarps and another 6 hours till the spore discharge.

Mycetozoa / *Stemonitis* / sporocarps / differentiation

INTRODUCTION

La différenciation en sporocarpes de plasmodes de « Myxomycetes » a été à ce jour décrite chez plusieurs espèces, notamment divers représentants de la classe des Myxogastria à laquelle appartient le genre *Stemonitis* (Kirk *et al.*, 2008 ; www.indexfungorum.org). Dans plusieurs cas, la réalisation et la description du cycle vital se sont effectuées en conditions *in vitro* sur milieu de culture artificiel (Alexopoulos, 1959, 1961; McManus, 1961; Indira, 1971; Clark *et al.*, 2004) et occasionnellement sur substrat naturel ayant été récoltés et incubés en laboratoire (Gray, 1938). Chez les Stémonitales du genre *Stemonitis*, la différenciation des sporocarpes a été décrite à ce jour, à partir d'observations en laboratoires, chez les espèces *S. flavogenita* E. Jahu (Alexopoulos, 1959; Collins, 1979 ; Hu & Clark, 1985), *S. herbatica* Peck (Indira, 1971), *S. fusca* Roth (Gray, 1938; Alexopoulos, 1961) et *S. splendens* Rostaf (Liao, 1986).

Le genre *Stemonitis* compte environ 85 espèces distribuées mondialement. Les deux espèces les plus répandues dans les forêts de climat tempéré sont *Stemonitis fusca* et *S. axifera* (Stephenson, 2007). Elles partagent des habitats similaires, se retrouvent sur les troncs d'arbre en décomposition et fructifient du printemps à l'automne privilégiant les périodes d'humidité élevée et les habitats humides et ombragés. Les espèces du genre *Stemonitis* se caractérisent par des sporanges en forme de plume dont le rachis filiforme de couleur foncée porte le capillitium chargé de spores. En nature, les plasmodes de *Stemonitis* se différencient généralement dans des cavités du bois en décomposition pour ensuite migrer à la lumière avant de différencier leurs fructifications. Ils se fixent alors au substrat par leur hypothalle et différencient des sporanges, regroupés en sporocarpes. Bien que de dimensions réduites les plasmodes et les sporocarpes peuvent se détecter à l'œil nu, mais leur observation détaillée nécessite l'usage d'une loupe.

La découverte, la récolte et l'observation des Mycetozoa, bien que fréquentes, demeurent généralement ponctuelles dans le temps. Le suivi au fil des heures du développement des sporocarpes dans leur milieu naturel ne semble encore jamais avoir été détaillé photographiquement. Le présent document présente donc, par le biais de photographies prises en séquences, les étapes de la différenciation des sporocarpes de *Stemonitis axifera*. Les observations macroscopiques compilées révèlent, au fil des heures, la morphologie adoptée par l'espèce du stade plasmode à l'ébauche de la différenciation des sporanges jusqu'à la maturation des sporocarpes.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Photographie

Les prises de vues ont été effectuées avec une caméra digitale Canon EOS Digital Rebel XT utilisée en mode manuel, sans trépied, avec lentille de 60 mm, 1/200 secondes, avec flash Macro Twin Lite MT-24ex external E-TTL et une résolution d'image de 3456X2304 Kb. Les observations et prises de vues ont été réalisées sur une période de 24 h 30 minutes à des intervalles allant de 45 minutes à environ 4 h selon le rythme de développement des sporanges.

Localité, habitat et conditions environnementales

Les sporocarpes ont été observés à Grenville-sur-la Rouge, Québec Canada le 11 juin 2007 dans une forêt mixte située à 187 m d'altitude, sur sol argileux humidifié par l'écoulement des eaux de collines adjacentes et l'apport des sources souterraines. La flore forestière se compose majoritairement du pin blanc (*Pinus strobus*), accompagné du mélèze laricin (*Larix laricina*), de l'érable à sucre (*Acer saccharum*), de l'érable rouge (*Acer rubrum*), du hêtre à grandes feuilles (*Fagus grandifolia*), du peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*), du frêne blanc (*Fraxinus americana*) et de l'ostryer de Virginie (*Ostrya virginiana*). La décomposition avancée du substrat ligneux sur lequel fructifie *S. axifera* ne permet pas son identification précise.

Identification fongique

Les spores et le capillitium prélevés de sporanges matures ont été montés sur lame dans le milieu PVLG (Polyvinyl acide lactique-glycerol) (Omar *et al.*, 1979), observés et photographiés en microscopie optique 1000X (Nikon E800) et comparés aux spores de spécimens de référence de l'herbier national de mycologie du Canada (DAOM 131955).

RÉSULTATS

Description des stades de développement des sporocarpes

Le suivi du développement des sporocarpes de *S. axifera* révèle des détails inédits sur la morphologie sporangiale et ce dès les premières heures suivant le stade plasmode (stade 1) jusqu'à la dispersion des spores (stade 6). La différenciation des sporocarpes peut se diviser en 6 stades successifs.

Stade 1. Agglomérat du plasmode : Le plasmode prend la forme d'un agglomérat blanc, à surface brillante et lisse, d'apparence visqueuse, couvrant chacun des surfaces de 4-6 mm² (fig. 1).

Stade 2. Primordium de sporange : Quatre heures après la première observation de plasmode, leur surface se différencie en petites sphères blanches (1,5-2 mm diam.), opaques et accolées qui constituent les primordiums des sporanges (fig. 2).

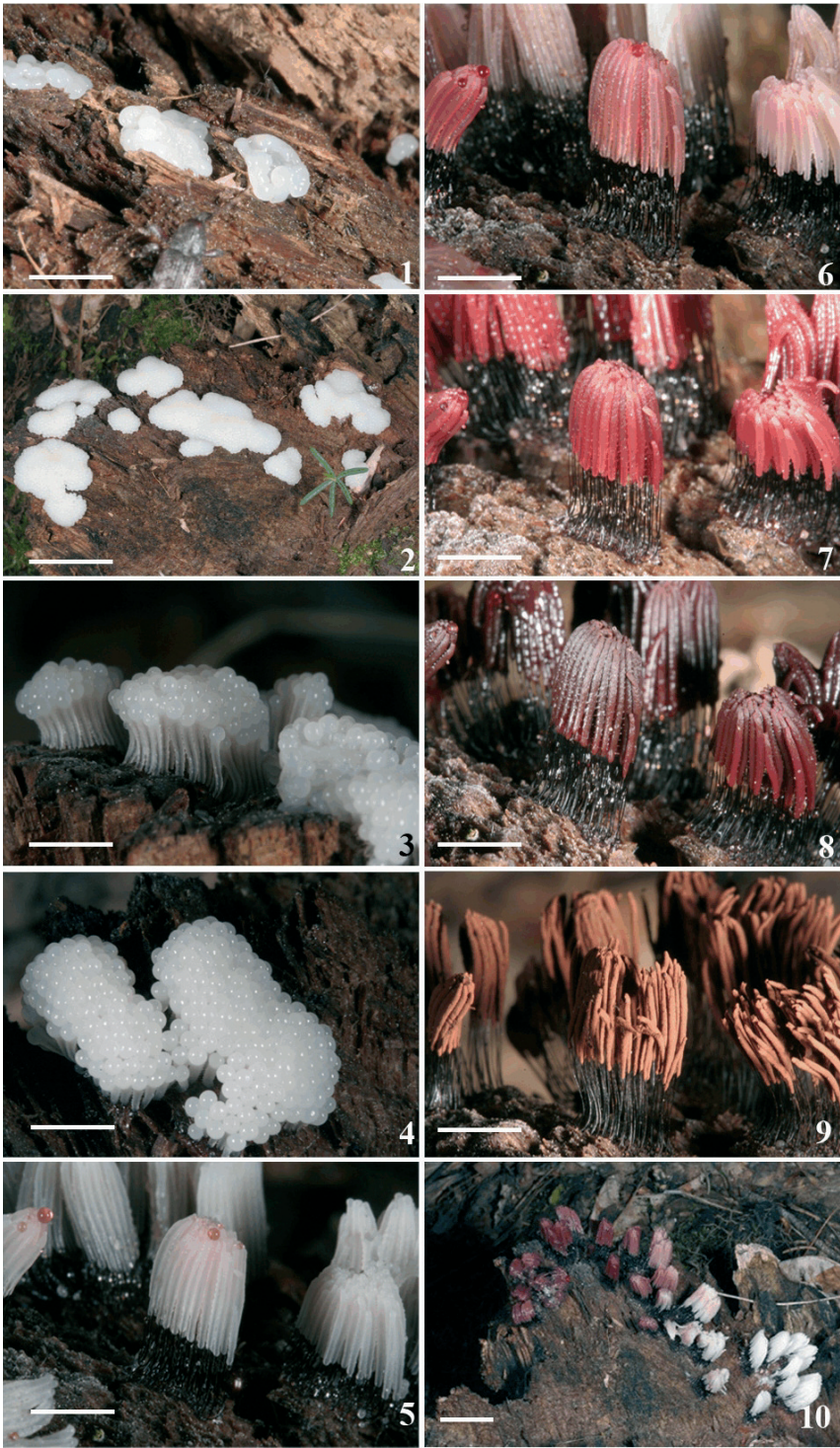
Stade 3. Élongation du primordium de sporange : Durant les 2 heures qui suivent, les sphères blanches se gonflent (3-4 mm diam.), se séparent graduellement les unes des autres, s'élèvent au-dessus du substrat ligneux en une base cylindrique blanche (4-8 × 0,5-10 mm diam), visqueuse, de même texture que les primordiums et à la surface nettement ornée d'ondulations lâches (figs 3-4). Une ébauche de columelle apparaît en un filet noirâtre au centre de chacun des cylindres qui forment les primordium (fig. 3).

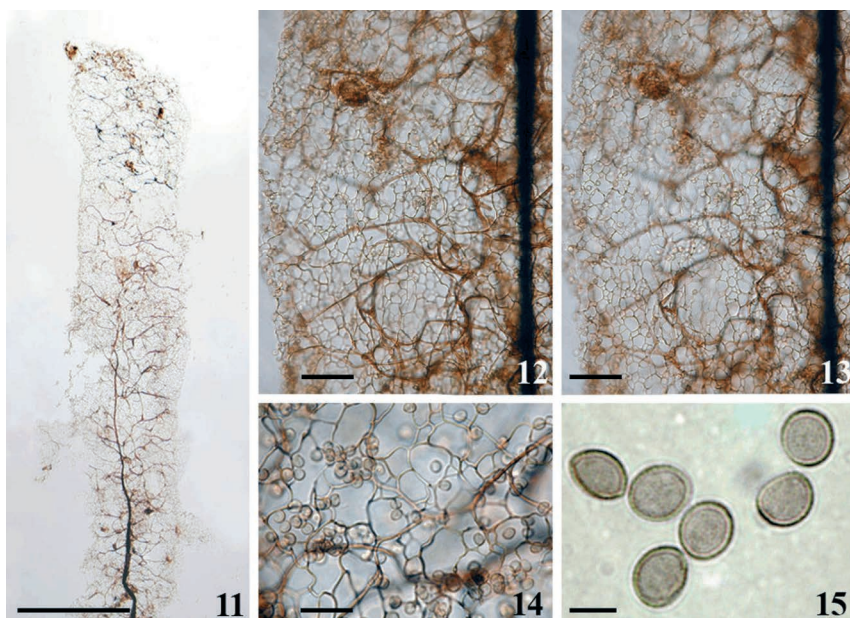
Stade 4. Différenciation du stipe : Durant les 2 heures suivantes, les primordium cylindriques, toujours blancs et visqueux, continuent leur élongation. Les ondulations à leur surface demeurent apparentes (fig. 5). À leur base un court pied foncé (3-5 mm de long, < 1 mm diam.) s'allonge en un stipe le long duquel des résidus blancs visqueux du primordium de sporange restent accolés (fig. 5). Les sporocarpes possèdent alors la morphologie de base typique des *Stemonitis* avec leurs sporanges cylindriques au sommet d'un stipe foncé.

Stade 5. Maturation des sporanges : Durant les 6-8 heures suivantes, les sporanges blanc brillant se teinteront graduellement en rose, saumon, rouge clair, rouge foncé à brun foncé (figs 6-8) au fur à mesure de la différenciation du capillitium et des spores. Durant ce temps le stipe s'allonge pour atteindre 7-9 mm de hauteur, soit environ la moitié de la longueur du futur capillitium.

Stade 6. Dispersion des spores : Une fois à maturité, les sporanges libèrent leurs spores, au gré du mouvement et du vent pour ne laisser, en quelque 4-6 heures, que des sporocarpes d'une teinte brun clair transparent au capillitium déchargé de spores (fig. 9).

Le processus entier s'est effectuée en 18 à 20 heures sous les conditions environnementales ambiantes qui prévalaient au moment des observations. Chez les sporocarpes observés, la différenciation et la maturation des sporanges d'un même sporocarpe se sont avérées synchronisées. Toutefois des variations dans le temps de maturation ont été observées entre des sporocarpes adjacents (fig. 10).





Description macroscopique de l'espèce

Les spécimens observés en séquence durant leur développement présentent à maturité la morphologie typique de l'espèce *Stemonitis axifera*. Les sporocarpes de 15-20 mm de hauteur couvrent des surfaces de 10-50 mm de

◀

Figs 1-10. *S. axifera*. **1.** Aphanoplasmodium avant la différenciation des sporanges, Échelle = 5 mm. Aphanoplasmodia before the differentiation of sporangia, Scale bar = 5 mm. **2.** Ébauche de différenciation de sporanges, Échelle = 10 mm. Beginning of the differentiation of sporangia, Scale bar = 10 mm. **3-4.** Élongation de sporanges, apex globuleux, base cylindrique ornée d'ondulations et columelle en formation, Échelle = 15 mm. Sporangia elongation with globose apex, with cylindrical base ornamented with surface undulations and columella in development, Scale bar = 15 mm. **5.** Sporocarpes avec différenciation du stipe et début de pigmentation rosée du futur capillitium, Échelle = 15 mm. Sporocarpes showing stalk differentiation and first appearance of the pinkish pigmentation of the future capillitium. Scale bar = 15 mm. **6-8.** Sporocarpes en maturation avec pigmentation des sporanges du rosé-saumon au brun, Échelle = 15 mm. Sporocarpes under maturation stages with gradual pigmentation from pink-salmon to brown, Scale bar = 15 mm. **9.** Sporocarpes à maturité, Échelle = 15 mm. Sporocarpes at maturity, Scale bar = 15 mm. **10.** Sporocarpes à différents stades de maturation, Échelle = 20 mm. General view of sporocarpes at different stages of maturity, Scale bar = 20 mm.

Figs 11-15. Microscope optique. Compound microscope. **11.** Apex d'un sporange et amincissement de l'extrémité d'une columelle, Échelle = 100 µm. Apical section of a sporangia showing the thinning of the columella apex, Scale bar = 100 µm. **12-13.** Section de columelle montrant les fines mèches de surface du capillitium, Échelle = 100 µm. Section of a columella showing the fine meshes of the capillitium surface, Scale bar = 100 µm. **14.** Vue rapprochée du capillitium avec spores, Échelle = 30 µm. Close view of capillitium and spores arrangement, Scale bar = 30 µm. **15.** Spores de *S. axifera* à surface finement verruqueuse, Échelle = 5 µm. Spores of *S. axifera* with fine verrucose ornamentations at surface, Scale bar = 5 µm.

diamètre et poussent en touffes compactes de 30-80 sporanges. Les sporanges cylindriques, 14-18 μm de long, arrondis à l'apex et rétrécis à la base, brun rouille à brun foncé, sont portées par une columelle filiforme (1 μm de diamètre), amincie à la base, 1,5-6 μm de longueur, noir brillant, flexible et se prolongeant dans le capillitium. La columelle se termine à 100-150 μm de l'apex en des ramifications de plus en plus ténues (fig. 11). Le réseau du capillitium brun pâle est formé de fins cordons angulaires de 5,0-34,0 μm de diamètre sans extrémités libres (figs 12-13). À la surface du sporange, le capillitium forme une résille faite de fines mèches aux orifices angulaires de 9,0 à 45,0 μm de côté et aux bordures pigmentées en brun foncé de 1,0-1,5 μm d'épaisseur (figs 12-13). Le capillitium porte des spores brun rosâtre pâle, sphériques, de 5,0-7,5 μm de diamètre, à surface finement verruqueuse (figs 14-15).

DISCUSSION

Selon Clark (1995), l'obtention en laboratoire du cycle vital d'espèces de *Stemonitales* a été réalisée sur une quinzaine d'espèces dont seulement quatre du genre *Stemonitis*. Ainsi, les observations sur le développement de leurs sporocarpes demeurent encore aujourd'hui très limitées, tant à partir de cultures obtenues *in vitro* en laboratoire et d'autant plus en milieu naturel. Les descriptions originales des espèces informent majoritairement sur le port, la forme, les dimensions et la pigmentation des sporanges et sporocarpes, ainsi que sur les détails microscopiques du capillitium et des spores. Les quelques mentions qui concernent le plasmode se résument habituellement à sa couleur et il y est rarement fait mention des caractères juvéniles des sporocarpes. Les sporocarpes des myxomycètes à plasmode subissent au cours de leur développement des transformations drastiques de leur morphologie, tant dans leur forme que dans leurs couleurs, ce qui complique leur identification formelle sur le terrain. L'observation macroscopique du plasmode en milieu naturel et les séquences de son développement jusqu'à la maturité des sporanges n'ont, à ce jour, fait l'objet que d'un nombre très restreint de publications (Gray, 1938; Indira, 1971).

Les données présentées ici sur la séquence de développement du *Stemonitis axifera* révèlent qu'une période d'environ 20 heures suffit à la maturation du plasmode jusqu'à la dispersion des spores, soit environ 8 heures pour la différenciation des sporanges, 6 heures pour leur maturation et environ 6 heures supplémentaires pour la dispersion des spores. La différenciation et la maturation des sporocarpes de *S. fusca* tels que relaté par Bisby (1914), n'a requis, lors de ses observations, qu'une douzaine d'heures dont deux seulement pour la pigmentation et la maturation des sporanges. Les conditions environnementales du moment influencent très probablement la rapidité du processus de différenciation. Selon Gray (1938), la lumière ne s'avère pas requise pour l'induction des sporanges de *Stemonitis*. Dans le cas présent, la maturation des sporanges ayant démarré en période diurne pour se poursuivre durant toute la nuit et le jour suivant, il n'est pas possible d'estimer l'influence de la lumière sur la différenciation. De plus, selon Eliasson (1981), aucune corrélation ne semble exister entre les conditions de température et de précipitation, et l'abondance soudaine de ces organismes en nature.

Les observations fines et inédites du développement du plasmode (figs 2-6) permettent de subdiviser la différenciation des sporanges en six stades. Le développement débute par des agglomérats du plasmode (stade 1). Indira (1971) décrit pour *S. herbatica* un plasmode de type coralloïde, une morphologie jamais décrite et non plus observée chez les spécimens de *S. axifera* étudiés. À ce stade, *S. axifera* montre des plasmodes à surface ondulée, difforme et irrégulière, visqueuse, mais jamais coralloïde (fig. 1). La première transformation détectable du plasmode se traduit par l'apparition en surface des agglomérats de globules uniformément distribués (stade 2, fig. 2). Les stades 2 et 3 du primordium et de l'élongation de sporanges (figs 3-4) procèdent par l'allongement des globules qui adoptent rapidement la forme cylindrique typique des *Stemonitis*. Ces stades ont été précédemment illustrés par Gray (1938) pour *S. fusca*. À ces stades, une zone foncée au centre du sporange allongé présage la différenciation de la columelle (fig. 3) (Keller & Snell, 2002). Chaque sporange se couvre d'ondulations en surface qui demeurent détectables jusqu'à leur maturation (figs 3-8). Ces ondulations de surface ont déjà été mentionnées par Bisby (1914) chez *S. fusca* et considérées une résultante de la tension à laquelle sont soumises les masses visqueuses des sporanges. Ce n'est qu'une fois que les structures cylindriques atteignent des longueurs comparables aux futurs capillitium que se différencie le stipe (stade 4, fig. 5). Son élongation se poursuit tout au long de la maturation des sporanges (stade 5, figs 5-8).

Au niveau macroscopique, *S. axifera* se distingue difficilement de *S. fusca*, l'espèce la plus apparentée et fréquente dans les habitats tempérés. Toutefois, au niveau microscopique, la distinction entre les deux espèces se trouve facilitée par la présence, chez *S. axifera*, d'une columelle qui s'amincit graduellement vers l'apex du sporange et s'y termine en fines ramifications (fig. 11), alors qu'elle se prolonge presque jusqu'au sommet du sporange chez *S. fusca*. *S. axifera* différencie des spores lisses ou à ornementation fine de plus faible dimension (5,0-7,5 µm) que celles de *S. fusca* (7,5-10,0 µm) dont la surface est réticulée ou finement épineuse. Le stipe des sporanges de *S. axifera* atteint entre le tiers et la moitié de la longueur du sporange alors qu'il dépasse rarement le quart de sa longueur chez *S. fusca*.

Les macrophotographies présentées dans ce travail, illustrent en détail les stades de développement des sporanges et sporocarpes de *S. axifera*. Étant donné la grande variabilité morphologique adoptée par ces organismes au cours de leur différenciation, l'illustration en séquence des différentes morphologies empruntées par les sporanges et les sporocarpes s'avère un outil de référence utile aux naturalistes de terrain pour l'identification *in situ* de *S. axifera*.

RÉFÉRENCES

- ALEXOPOULOS C.J., 1959 — The laboratory cultivation of *Stemonitis*. *American Journal of Botany* 46: 140-142.
 ALEXOPOULOS C.J., 1961 — Spore to spore culture on agar of *Stemonitis fusca*. *American Midland Naturalist* 65: 246.
 BISBY G.R., 1914 — Some observations on the formation of the capillitium and the development of *Physarella mirabilis* Peck and *Stemonitis fusca* Roth. *American Journal of Botany* 1: 274-288.
 CLARK J., 1995 — Myxomycete reproductive systems: Additional informations. *Mycologia* 87: 779-786.
 CLARK J., HASKINS E.F. & STEPHENSON S.L., 2004 — Culture and reproductive systems of 11 species of Mycetozoans. *Mycologia* 96: 36-40.

- COLLINS O.R., 1979 — Myxomycetes biosystematics: some recent developments and future research opportunities. *Botanical Review* 45: 145-201.
- ELIASSON U., 1981 — Patterns of occurrence of Myxomycetes in a spruce forest in South Sweden. *Holarctic Ecology* 4: 20-31.
- GRAY W.D., 1938 — The effect of light on the fruiting of Myxomycetes. *American Journal of Botany* 25: 511-522.
- HU F.S. & CLARK J., 1985 — Growth of *Stemonitis flavogenita* and *Didymium iridis* on axenic peptone-yeast extract agar supplemented with heat-killed bacteria. *Mycological Society of America Newsletter* 35: 30.
- INDIRA P.U., 1971 — The life-cycle of *Stemonitis herbatica*. II. *Transactions of the British Mycological Society* 56: 251-259.
- KELLER S.W. & SNELL K.L., 2002 — Feeding activities of slugs on Myxomycetes and macrofungi. *Mycologia* 94: 757-760.
- KIRK P.M., CANNON P.F., MINTER D.W. & STALPERS J.A., 2008 — Dictionary of the Fungi, 10th Edition 2008. CBS, The Netherlands 640 pp.
- LIAO Y.M., 1986 — Occurrence and life cycle of *Stemonitis splendens* on the logs of shiitake. *Journal of Agricultural Research China* 35: 511-520.
- MCMANUS Sr M.A., 1961 — Culture of *Stemonitis fusca* on glass. *American Journal of Botany* 48: 582-588.
- OMAR M.B., BOLLAND L. & HEATHER W.A., 1979 — A permanent mounting medium for fungi. *Bulletin of the British Mycological Society* 13: 31-32.
- STEPHENSON S.L., 2007 — Distribution and ecology of Myxomycetes in temperate forests. 1. Patterns of occurrence in the Upland forests of Southwestern Virginia. *Canadian Journal of Botany* 66: 2187-2207.