

MYCOLOGIE. — *Nature et synthèse du facteur morphogène responsable de l'apparition des sclérotés chez le Corticium rolfsii (Sacc.) Curzi* (1). Note (*) de M. Maurice Goujon, présentée par M. Roger Heim.

L'incorporation au milieu de culture de divers inhibiteurs à différents stades de développement du thalle montre que le facteur morphogène responsable de la formation des sclérotés est vraisemblablement de nature protéique. Dans nos conditions de culture et en l'absence d'inhibiteurs, sa synthèse commence dès le semis, atteint une concentration minimale efficace à l'issue du troisième jour de développement et se poursuit bien après l'apparition des premiers initiums.

L'existence de substances capables de modifier la morphologie des thalles ou d'induire la formation d'organes particuliers a été constatée chez certains organismes tels que le *Verticillium alboatrum* (2), l'*Ustilago cynodontis* (3) et le *Dictyostelium discoideum* (4). Dans le cas de ce dernier, Hirschberg et coll. (5) ont pu établir que divers inhibiteurs, tels que la cycloheximide et l'actinomycine-D, sont capables d'entraver la synthèse de l'agent morphogène et d'interdire, de ce fait, l'agrégation des myxamibes. Laville (6), par ailleurs, a montré que l'actinomycine-D empêche la multiplication du déterminant d'une modification contagieuse des thalles de l'*Hypomyces haematococcus* et, enfin, Nguyen Van Huong (7) a induit une croissance de type rythmé chez le *Podospora anserina* en traitant par l'actinomycine-D et le chloramphénicol des souches dont la croissance est naturellement continue. On sait que ces divers inhibiteurs agissent à des niveaux différents au cours des synthèses protéiques. Si donc le facteur morphogène, responsable de la formation des sclérotés, que nous avons mis en évidence chez le *Corticium rolfsii* (8) est une protéine, ils doivent, à condition de pénétrer le mycélium de ce Champignon, s'opposer à son élaboration. Nous avons tenté de mettre leur action en évidence en les incorporant dans un bouillon de pomme de terre glucosé et gélosé. Afin d'éviter toute perte d'activité, les inhibiteurs ont été mêlés stérilement au substrat nutritif avant solidification à la température de 60 °C.

TABLEAU

Effets comparés de trois inhibiteurs : délai moyen d'apparition des premières ébauches de sclérotés et nombre moyen de sclérotés par boîte de Pétri

Inhibiteurs (concentration en µg/ml)	Témoin	Chloramphénicol				Actinomycine-D			Cycloheximide		
		100	250	500	1 000	0,4	1	2	0,3	3	30
Délai moyen d'apparition en jours	5,5	6,5	7,5	9	13,5	5,5	5,5	6	6,7	7	—
Nombre moyen de sclérotés par boîte	512	156	52	42	3	466	318	325	160	101	0

Le délai précédant l'apparition des ébauches de sclérotés a été mesuré et le nombre de sclérotés formés a été compté, après 30 jours de culture, sur 100 boîtes de Pétri ensemencées avec 10 isolats différents pour chacune des concentrations de

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

13 FEV. 1970

Collection de Référence

n° 13792

chloramphénicol et de cycloheximide. Dans le cas de l'actinomycine-D il a été utilisé seulement 30 boîtes par série. Les nombres moyens de sclérotés comparés deux à deux (test *t*) diffèrent tous significativement à l'exception de ceux qui correspondent à l'actinomycine-D que l'on ne peut séparer. Cependant dans ce dernier cas les nombres de sclérotés correspondant aux concentrations 1 $\mu\text{g/ml}$ et 2 $\mu\text{g/ml}$ sont inférieurs au témoin de façon hautement significative.

Le tableau qui résume les résultats de cet essai montre que les trois inhibiteurs provoquent une diminution du nombre des sclérotés formés et une augmentation de la durée du délai qui précède leur apparition. Ces effets sont d'autant plus prononcés que les concentrations sont plus fortes : à 30 $\mu\text{g/ml}$ pour la cycloheximide

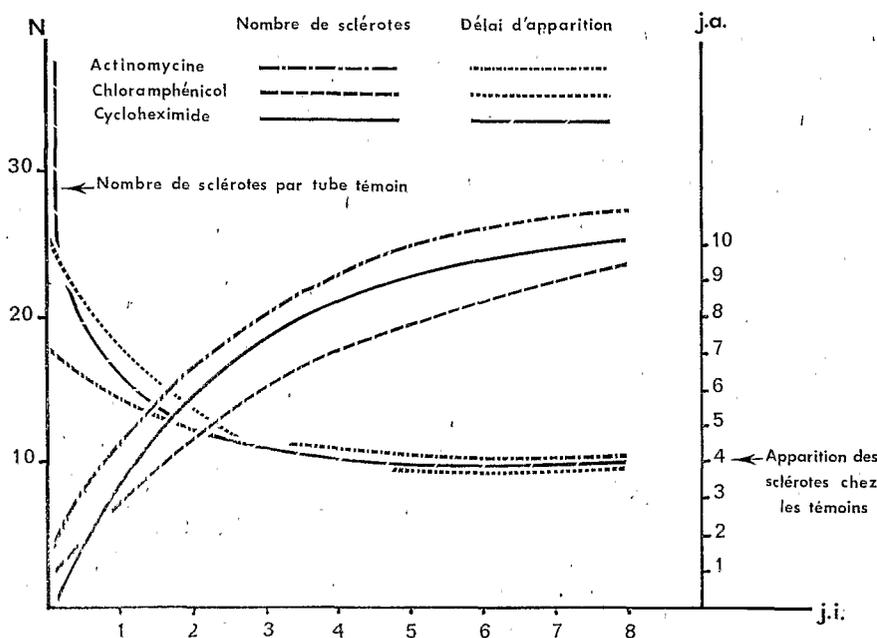


Fig. — Effets des inhibiteurs en fonction de leur date d'introduction

En abscisse (j. i.) le nombre de jours de développement précédant l'apport des inhibiteurs ; en ordonnée, à gauche, le nombre moyen (N) de sclérotés formés par tubes et en ordonnée, à droite, le nombre de jours de culture (j. a.) nécessaire pour qu'apparaissent les premiers initiums.

ou à 1 000 $\mu\text{g/ml}$ pour le chloramphénicol, l'inhibition de la genèse des sclérotés est pratiquement totale. Dans le cas de l'actinomycine-D, ces résultats n'ont pas été recherchés : nous n'avons pas jugé utile, étant donné le coût élevé du produit, d'augmenter sa concentration jusqu'à interdire la formation des sclérotés.

L'examen des thalles traités permet, d'autre part, de mettre en évidence deux phénomènes, particulièrement nets en présence de cycloheximide et de chloramphénicol. En premier lieu le mycélium aérien est beaucoup plus abondant que chez les témoins et, de même que ceux des souches sauvages de *Podospora anserina* soumises à l'action de l'actinomycine-D ou du chloramphénicol (⁷), les thalles de *C. rolfisii* présentent un mode de croissance rythmé. En second lieu, les sclérotés n'appa-

raissent plus à la périphérie, en bordure de la boîte, comme cela est généralement la règle, mais au centre, au voisinage de l'implant. Nous savons que la position périphérique habituelle de ces organes s'explique par l'appel de protoplasme en direction des apex des hyphes *conductrices* qui se produit durant la phase d'élongation mycélienne ⁽¹¹⁾. Or, au niveau de chacun des fronts de vague l'allongement de la majeure partie des filaments *conducteurs* cesse, interrompant ainsi le transit protoplasmique en direction de la marge en cours d'élongation. La localisation centrale des sclérotés en présence d'inhibiteurs résulte donc très probablement du nouveau type de croissance adopté par les thalles.

Ces observations, jointes aux précédentes, montrent clairement que ces trois inhibiteurs capables d'interdire spécifiquement les synthèses protéiques entravent le développement du *C. rolfsii*. Mais interviennent-ils directement en s'opposant à la production d'une substance morphogène ou indirectement en s'opposant à son action ? Pour choisir entre ces deux interprétations, nous avons repris le dispositif que nous avons utilisé, après Schutte ⁽⁹⁾ et Larpent ⁽¹⁰⁾, lors de l'étude des transports de protoplasme ⁽¹¹⁾ : nous avons observé le comportement des thalles lorsqu'ils passent d'un milieu contenant 300 µg/ml de chloramphénicol ou 15 µg de cycloheximide à un milieu privé d'inhibiteur ou inversement. Nous avons pu constater ainsi que dans le cas où le développement du thalle se produit d'abord en l'absence d'inhibiteurs les sclérotés se forment à l'issue d'un délai de 5 à 6 jours, que le second substrat contienne ou non un des deux antibiotiques. En revanche si le début de la croissance s'effectue en présence d'inhibiteurs, l'apparition des sclérotés intervient à l'issue d'un délai de 7 à 9 jours lorsque le second substrat est privé d'antibiotiques et de 8 à 11 jours lorsqu'il en contient. Si l'on précise, de plus, que lors du passage d'un milieu dont tout antibiotique est absent à un milieu dans lequel l'un d'entre eux est présent, les sclérotés s'édifient sur le second en bordure du premier, il apparaît que les inhibiteurs ne s'opposent pas à l'action d'une substance morphogène mais bien à sa synthèse.

Nous avons voulu préciser les conditions dans lesquelles s'effectue cette synthèse en incorporant chloramphénicol, cycloheximide et actinomycine-D au milieu de culture, à différents stades de développement du thalle. Afin de réaliser des séries importantes nous avons effectué nos cultures dans des tubes contenant 2,5 ml de bouillon de pomme de terre glucosé liquide pour les témoins et 2 ml pour les tubes destinés à recevoir les inhibiteurs. Ces derniers, dissous dans le même milieu en proportions convenables pour obtenir la concentration finale désirée (300 µg/ml pour le chloramphénicol, 15 µg/ml pour la cycloheximide et 5 µg/ml pour l'actinomycine-D), étaient injectés stérilement sous le thalle, à l'instant choisi, sous un volume de 0,5 ml. Comme le montrent les courbes de la figure, nous avons pu constater, à la suite de cette expérience, que le délai précédant l'apparition des sclérotés est d'autant plus important et le nombre de ces organes d'autant plus réduit que l'introduction des inhibiteurs est plus précoce. Lorsque ces substances sont incorporées au milieu après le troisième jour de culture, le délai qui précède l'apparition des sclérotés est identique à celui que l'on mesure chez les témoins. En revanche, même lorsque l'injection d'inhibiteurs est effectuée une semaine après le semis, c'est-à-dire après l'apparition

et la maturation des premiers initiums, le nombre total de sclérotés formés demeure inférieur au nombre de sclérotés produits par les témoins. Il apparaît donc qu'une substance morphogène de nature protéique est synthétisée pendant toute la durée de la vie du thalle. Le nombre total des sclérotés formés est fonction de la quantité disponible de cette substance et les premiers initiums ne peuvent apparaître que lorsqu'elle a atteint une concentration minimale. En l'absence d'inhibiteurs et dans nos conditions de culture (température 23-24 °C, alternance naturelle de jour et d'obscurité) ce seuil de concentration est obtenu à l'issue de trois jours de développement.

Or, nous avons montré que les sclérotés ne peuvent apparaître avant l'expiration d'une première phase de développement dont la durée est comprise entre trois et cinq jours ⁽¹²⁾. De plus, nous avons constaté en effectuant des expériences de greffe que les thalles qui contenaient une quantité suffisante de facteurs morphogènes pour induire la formation de sclérotés chez des thalles plus jeunes, normalement incapables d'en produire, devaient être âgés de plus de quatre jours ⁽¹¹⁾. Nous pouvons donc conclure que, selon toutes probabilités, la substance protéique que nous avons mise en évidence et le facteur morphogène ne font qu'un.

(*) Séance du 17 novembre 1969.

(1) Ce travail a été réalisé en liaison avec le laboratoire de Morphologie Expérimentale Végétale de la Faculté des Sciences d'Orsay.

(2) W. H. BRANDT et J. E. REESE, *Amer. J. Bot.*, 51, 9, 1964, p. 922-927.

(3) R. NOZERAN et CHEVALIER, *Comptes rendus*, 260, Série D, 1965, p. 5339.

(4) J. T. BONNER, *The cellular slime molds*, Princeton University Press, 1967.

(5) E. HIRSCHBERG et coll., *Proc. Nat. Acad. Sc. of the U. S. A.*, 61, 1968, p. 316-323.

(6) E. LAVILLE, *Comptes rendus*, 267, Série D, 1968, p. 1936.

(7) NGUYEN VAN HUONG, *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 12^e série, 9, 1967, p. 257.

(8) M. GOUJON, *Comptes rendus*, 267, Série D, 1968, p. 409.

(9) K. H. SCHUTTE, *New Phytol.*, 55, n° 2, 1956, p. 164-182.

(10) J. P. LARPENT, *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 12^e série, 7, 1966, p. 1-130.

(11) M. GOUJON, *Comptes rendus*, 264, Série D, 1967, p. 261.

(12) M. GOUJON, *Comptes rendus*, 264, Série D, 1967, p. 2989.

(Laboratoire de Phytopathologie du Centre O. R. S. T. O. M. d'Adiopodoumé.
B. P. n° 20, Abidjan, Côte-d'Ivoire.)