

Phygt

MYCOLOGIE. — *Mise en évidence, dans les extraits de thalle, d'un facteur morphogène responsable de l'apparition des sclérotés du Corticium rolfsii. (Sacc.) Curzi.* Note (\*) de MM. **Jean-Paul Geiger** et **Maurice Goujon**, présentée par M. Roger Heim.

Un facteur morphogène est présent dans les extraits de mycélium et de sclérotés. Son activité proportionnelle à sa concentration peut être mesurée par le nombre de sclérotés dont il induit la formation chez une souche incapable de l'élaborer en quantité notable. Comme nous l'avions déjà supposé (2), il conditionne à la fois la date d'apparition des sclérotés et leur nombre total. Ses propriétés sont conformes à l'hypothèse d'après laquelle il serait de nature protéique.

Après avoir mis en évidence l'existence d'un facteur morphogène (1) et précisé les modalités de sa synthèse (2), il paraissait logique de tenter de l'isoler et, tout d'abord, de l'extraire des thalles du *C. rolfsii*. Nous avons donc essayé, simultanément, de montrer sa présence dans les extraits de mycélium et de sclérotés en utilisant la technique suivante.

Après 12 jours de culture, des thalles développés en fioles de Roux, sur bouillon de pomme de terre glucosé, à la température du laboratoire ( $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ ), sont lavés soigneusement à l'eau distillée. Les sclérotés et les filaments sont séparés, mis en suspension dans cinq fois leur poids de bouillon de pomme de terre glucosé et broyés, à la température de la glace fondante, pendant 20 mn. Chacune des liqueurs ainsi obtenues est centrifugée puis filtrée pour être enfin recueillie dans un récipient stérile. Elle est ensuite incorporée en quantités variables à du milieu liquide froid que l'onensemence immédiatement après sa répartition en boîtes de Pétri. L'ensemble des opérations se déroule en moins de 24 h. Le tableau I, qui rassemble les résultats de cet essai, montre que les extraits, obtenus à partir du seul mycélium, réduisent significativement le temps qui s'écoule avant l'apparition des initiums et augmentent le nombre total des sclérotés formés.

TABLEAU I

Action des extraits de thalle sur la morphogénèse des sclérotés

| Pourcentage d'extrait ajouté au milieu ..... | 0              | 10              | 25              | 50              |
|--|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Nature de l'extrait :                        |                |                 |                 |                 |
| Extrait mycélien .....                       | 6,6 (299 ± 47) | 5,6 (333 ± 85)  | 5,3 (393 ± 96)  | 5,2 (447 ± 108) |
| Extrait de scl. ....                         |                | 7,2 (320 ± 111) | 6,4 (308 ± 124) | 7,3 (249 ± 144) |

Les nombres fournis par le tableau représentent le temps moyen en jours qui s'écoule entre le semis et l'apparition des premiers initiums. Ceux qui sont dans les parenthèses correspondent au nombre moyen de sclérotés formés par boîte à l'issue d'un mois de culture. Chaque mesure est la moyenne obtenue à partir de 100 boîtes.

En revanche, les extraits obtenus à partir des sclérotés paraissent totalement inopérants. Ceci implique soit que ces organes ne contiennent pas le facteur mor-

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

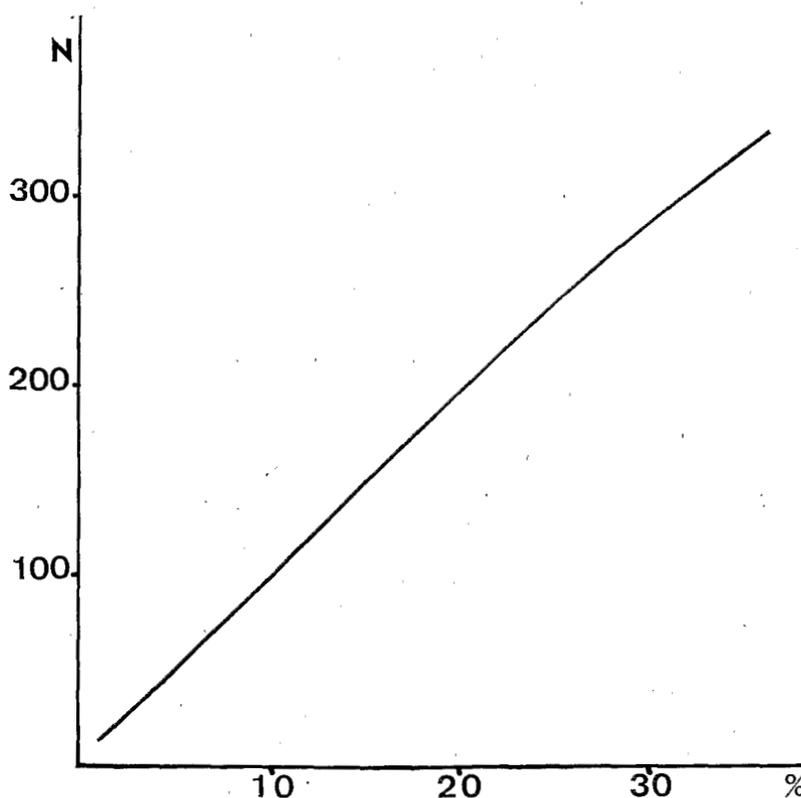
15 OCT. 1970

Collection de Référence

n° 14409

phogène, soit qu'ils libèrent lors du broyage des substances capables de s'opposer à son action.

Comme les liqueurs obtenues à partir des sclérotés brunissent très vite et que des tests effectués avec de la DOPA permettent de constater qu'elles possèdent une forte activité polyphénoloxydasique, nous avons soupçonné que des polyphénols apparus dans les broyats pouvaient rendre compte de l'absence de réponse. Pour éliminer ces éventuels inhibiteurs, nous avons utilisé, après Loomis et Bataile (<sup>3</sup>), le Polyvinylpyrrolidone insoluble (Polyclar AT) que nous avons mêlé aux sclérotés, à égalité de poids, lors du broyage, et nous avons évalué le pouvoir morphogène des extraits ainsi obtenus. Nous sommes ainsi parvenus à obtenir régulièrement des résultats analogues à ceux que fournissent les extraits de mycélium.



Nombre de sclérotés formés par la souche m 33 en fonction de la concentration du milieu en extraits de sclérotés. Le nombre de sclérotés, N, a été porté en ordonnée et le pourcentage, en volume, d'extrait contenu par le substrat, en abscisse.

Si le facteur morphogène réduit de façon nette le temps qui s'écoule avant l'apparition des sclérotés, le fait qu'il augmente leur nombre total est moins bien démontré. C'est seulement lorsqu'on fait agir les extraits mycéliens à la concentration de 50 % en volume que son activité, dans ce domaine, est significative. Ceci est très probablement dû à son élaboration progressive par les témoins. En effet, le nombre de sclérotés formés ne peut être déterminé par la quantité disponible de

substance morphogène puisque les thalles capables d'édifier ces organes la synthétisent durant toute leur vie (<sup>2</sup>). Nous avons tenté de tourner la difficulté en utilisant une souche incapable de produire le facteur morphogène.

En traitant à l'acide nitreux de petits fragments de filaments obtenus par broyage de thalle, nous avons pu obtenir des séries de mutants dont l'un, F 16, fructifie régulièrement sur bouillon de pomme de terre gélosé. Par la suite, nous avons semé isolément des basidiospores produites par F 16 et nous avons constaté que certaines des souches auxquelles elles donnent naissance produisent des sclérotés de façon inconstante et toujours en nombre très réduit. Parmi celles-ci, l'une d'elle : m 33, s'est avérée sensible aux extraits de sclérotés et de mycéliums provenant de nos divers isolats.

La courbe de la figure montre clairement que le nombre total de sclérotés formés par m 33 est directement proportionnel, au moins pour les faibles concentrations, à la quantité d'extrait incorporée au milieu de culture. De plus l'activité, sur m 33, du facteur morphogène synthétisé par des isolats différents de celui qui lui a donné naissance permet de supposer que ce facteur n'est pas spécifique de chacun d'eux. Cette hypothèse a été aisément démontrée par des essais effectués avec dix isolats, recueillis sur des plantes et dans des régions géographiques très différentes, au cours desquels nous avons pu constater que chacun d'entre eux réagit aux extraits provenant de tous les autres. Il apparaît donc que la souche m 33, sensible à toutes les liqueurs que nous savons efficaces, constitue un matériel correct pour éprouver l'activité morphogène d'une substance quelconque. Nous l'avons donc utilisée pour évaluer celle d'extraits que nous savons actifs, après leur avoir fait subir différents traitements. Au cours de cet essai nous avons utilisé simultanément des liqueurs provenant de broyage, en présence de « Polyclar AT », de sclérotés, mis en suspension soit dans du bouillon de pomme de terre glucosé, soit dans un tampon Tris-HCl, 0,05 M, pH = 7,4, additionné d'Ascorbate  $10^{-3}$  M et de  $MgCl_2$   $10^{-3}$  M. Ces liqueurs ont été incorporées dans la proportion de 20 % en volume à du milieu frais après avoir subi, dans un cas une dialyse de 24 h contre le diluant utilisé pour chacune d'entre elles (D) ou un chauffage de 5 mn à 100° (I). Les témoins étaient constitués par des boîtes emplies d'un milieu contenant 20 % d'extrait frais (T<sub>1</sub>) et par des boîtes contenant du bouillon de pomme de terre glucosé pur (T). Le tableau II,

TABLEAU II

*Nombre de sclérotés formés par m 33 en présence d'extraits chauffés ou dialysés*

| Traitement .....                           | T | T <sub>1</sub> | D   | I   |
|--|---|----------------|-----|-----|
| Diluant :                                  |   |                |     |     |
| Tris-HCl + Ascorbate + MgCl <sub>2</sub> . | 1 | 190            | 178 | 114 |
| Bouillon de pomme de terre glucosé .....   |   | 96             | 116 | 0   |

Les nombres de sclérotés représentent les moyennes de huit boîtes après un mois de culture. T est le témoin privé d'extrait, T<sub>1</sub> contient 20 % d'extrait frais, D, 20 % d'extrait dialysé et I, 20 % d'extrait traité à 100 °C pendant 5 mn.

qui résume les résultats de cette expérience, montre que le facteur morphogène n'est pas ou est peu dialysable et que, s'il est détruit par la chaleur en l'absence de tampon, il lui résiste en présence de Tris-HCl.

Il apparaît donc que le facteur morphogène est présent dans les extraits de thalles et de sclérotés, ce qui confirme les résultats de Gondo et coll. (4). Ainsi que nous en avons émis l'hypothèse (2), ce facteur conditionne à la fois la date d'apparition des sclérotés et leur nombre. Comme de nombreuses protéines (3) il est inactivé par les polyphénols et par la chaleur, tout au moins en milieu non tamponné. Enfin, comme le prouvent les expériences de dialyse, ses molécules sont de grande taille. Ces différents caractères s'ajoutent aux résultats obtenus avec divers inhibiteurs de synthèse (2) pour militer en faveur de l'hypothèse d'après laquelle sa nature serait protéique.

(\*) Séance du 1<sup>er</sup> juin 1970.

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

(2) M. GOUJON, *Comptes rendus*, 269, Série D, 1969, p. 2195.

(3) W. D. LOOMIS et J. BATAILLE, *Phytochemistry*, 5, 1966, p. 423-438.

(4) M. GONDO, M. ARIMURA et H. KIHARA, Résumé in : *Rev. of Appl. Mycol.*, 48, 1969, p. 619.

(Laboratoire de Morphologie Expérimentale Végétale associé au C. N. R. S.,  
Faculté des Sciences, 91-Orsay, Essonne ;  
Laboratoire de Phytopathologie du Centre ORSTOM d'Adiopodoumé,  
B. P. n° 20, Abidjan, Côte-d'Ivoire.)