

Recherches sur la morphogenèse des Neurospora

Autor(en): **Turian, Gilbert**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences [1948-1980]**

Band (Jahr): **18 (1965)**

Heft 2

PDF erstellt am: **08.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-739200>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

RECHERCHES SUR LA MORPHOGENÈSE DES NEUROSPORA

PAR

Gilbert TURIAN

Le mycélium végétatif de la moisissure rouge du pain (*Neurospora sitophila*, « red-bread mold fungus ») ... et des généticiens (BEADLE et TATUM, 1941) peut initier successivement, au cours de son développement complet, trois structures

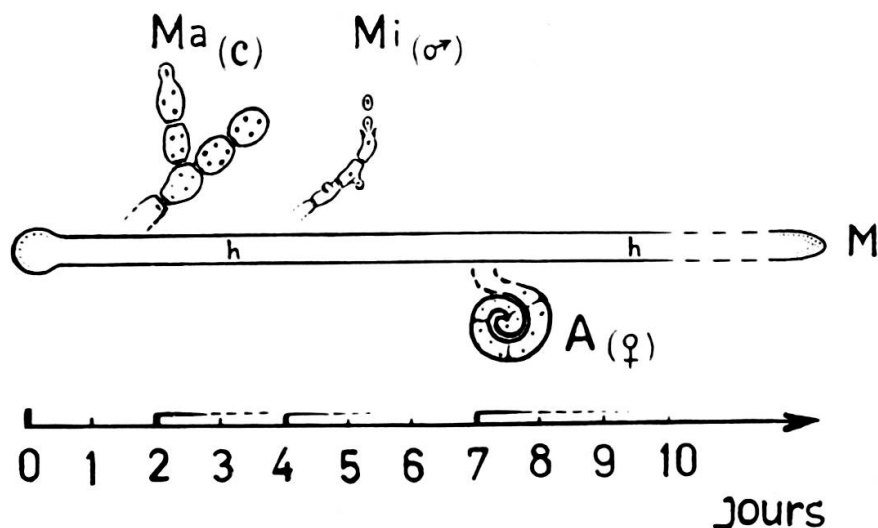


Fig. 1

Schéma de la séquence morphogénétique du *Neurospora crassa* cultivé à partir d'un inoculum conidien (temps 0) placé en conditions de fertilité optima, soit : milieu P + citrate de K (= milieu C) pour la production des macroconidies (Ma) ou conidies (C) puis des microconidies (Mi) (surtout chez souche « fluffy »); milieu P simple pour la différenciation des ascogones (A).

M = mycélium formé d'hyphes (h) restant végétatifs en milieu liquide
P (— nitrate) + citrate d' NH_4 (= milieu M).

typiques illustrant chacune, à l'échelle cellulaire, un phénomène morphogénétique bien caractéristique. Ces trois structures sont, selon leur ordre d'apparition dans les conditions culturales optima (fig. 1): les macroconidies (cellules propagatives, accessoirement mâles), les microconidies (cellules mâles mieux caractérisées) et les ascogones (cellules femelles).

Les cellules-annexes de l'ascogone peuvent poursuivre un développement complexe, débordant le niveau cellulaire pour atteindre celui de l'organe et former le protopérithèce. Ce petit organe pelotonné peut simplement continuer à s'épaissir en bulbille (« sclérote ») ou évoluer, après fécondation de l'ascogone central, en périthèce. L'organe périthécial est lui-même le siège de phénomènes morphogénétiques complexes dont le déroulement, au niveau cellulaire, culmine avec la production des asques à 4 (*N. tetrasperma*) ou 8 ascospores (*N. sitophila* et *N. crassa*).

La naissance de l'une ou l'autre des trois structures reproductrices fondamentales des *Neurospora* peut être partiellement ou totalement bloquée, sans préjudice voire même au bénéfice d'une autre. Cette restriction dans l'expression de la potentialité morphogène totale peut être provoquée soit par l'action du milieu externe, soit par celle du milieu interne, conséquence d'un changement d'ordre génétique. Nous verrons plus bas des exemples d'inhibition de la morphogenèse conidienne ou de la morphogenèse ascogoniale comme effets visibles de modifications apportées au milieu chimique de croissance de *N. crassa*. De même, nous ferons allusion à des mutants morphologiques tels que les aconidiens du type « fluffy » (mycélium floconneux incapable de différencier des macroconidies) ou les souches à divers degrés de stérilité femelle, dont les extrêmes sont incapables de former des ascogones. Enfin, la morphogenèse d'une structure peut même être anticipée, à l'exemple des mutants dits amycéliens (« amyc ») dont la croissance hyphale est court-circuitée par une immédiate différenciation en cellules conidiennes.

Nous envisagerons séparément, dans leur ordre d'apparition sur le mycélium végétatif et sous leur double aspect morphologique et biochimique, les trois structures caractéristiques de la morphogenèse des *Neurospora*.

1. MACROCONIDIES

a) Morphologie

Les macroconidies des *Neurospora* sont leurs spores essentiellement asexuées et plurinucléées, par opposition aux microconidies uninucléées dont les critères de sexualisation mâle sont plus évidents (voir 2a).

Il est paradoxal de devoir constater que le mode de formation des macroconidies est encore mal précisé bien que ces spores soient connues depuis près d'un siècle comme représentant les organes caractéristiques de la reproduction asexuée de l'*Oidium aurantiacum* (GAUTHIER de CLAUBRY, 1871) ou *Monilia sitophila* (Saccardo, 1882), désignations de la forme imparfaite de *Neurospora sitophila* jusqu'à la découverte de sa forme périthéciale (SHEAR et DODGE, 1927). Il est vrai aussi que le nom de conidies attribué aux spores asexuées des *Neurospora* l'a été en méconnaissance partielle de leur mode de formation. En effet, les conidies « sensu stricto » (conidiospores des Aspergillacées) sont, par définition, le produit du bourgeonnement, au niveau d'un

point méristématique, d'un organe spécialisé, la phialide (voir LANGERON, 1945). Si l'on tient compte des faits d'observation microscopique simple, selon lesquels les conidies des *Neurospora* résultent d'un processus de constriction progressive des apex hyphaux suivie de leur désarticulation en articles plurinucléés, on pourra convenir avec MOREAU (1952) que de telles spores correspondent à des arthrospores. Une telle désignation aurait l'avantage de donner une définition plus explicite des faits d'ordre morphogénétique. Il faut cependant remarquer que la définition d'arthrospores s'applique strictement aux cas de constriction-désarticulation d'hyphes *préformés* (= thallospores, VUILLEMIN, 1910) tels qu'ils se présentent aussi chez d'autres champignons sous leur forme imparfaite (*Botrytis*, *Monilia*, etc.). Des observations microscopiques récentes d'hyphes de *Neurospora* en voie de sporulation asexuée nous ont par contre révélé que le mode de formation des macroconidies chez cette moisissure ne se réduit pas au seul schéma de type arthrosporal. Nous avons, en effet, pu observer chez *N. crassa* « in vivo » des phénomènes de bourgeonnement secondaire de macroconidies déjà formées (fig. 1, branche gauche de Ma), se superposant à ceux de constriction centripète de l'hyphe préformé (hyphe parfois dit aérien, voir GRIGG, 1960; type des « wide hyphae », ZALOKAR, 1959a). Le phénomène de bourgeonnement (centrifuge par rapport à l'hyphe initial) correspondrait ainsi à un processus de croissance secondaire (dédifférenciation apicale de la conidie primaire) suivi de différenciation du bourgeon en nouvelle cellule conidienne. Ce phénomène pourrait éventuellement se répéter, en direction opposée à celui de la constriction de type arthrosporal.

Nous n'anticiperons pas davantage ici sur nos observations microscopiques, appuyées par des études avec le dispositif à contraste de phase encore en cours; nous ne voulons que simplement les faire valoir, à l'appui de considérations d'usage au travers d'innombrables publications concernant la génétique et la biochimie des *Neurospora*, pour justifier le maintien du terme conidies pour désigner les spores asexuées plurinucléées (macroconidies) constituant la « poudre orangée » des cultures de *Neurospora* en laboratoire ou dans la nature.

En vue d'une étude plus approfondie du mode de formation des macroconidies des *Neurospora*, la manipulation de divers mutants morphologiques pourra certainement apporter une utile contribution. Ainsi, des cultures du mutant « fluffy » (n° 45a) de *N. crassa*, normalement aconidien à 25°, nous ont permis d'observer sur même milieu synthétique sucré (P, voir plus bas) mais à 37°, des processus de constriction partielle centripète d'hyphes aériens affectant alors un aspect moniliforme; cependant, et contrairement au type sauvage, les constriction, bien que complétées par des ébauches de cloisons de séparation entre les unités moniliformes (pseudo-arthrospores), n'ont pas conduit à la désarticulation et la libération finale de ces dernières en tant que macroconidies indépendantes. De semblables hyphes moniliformes ont aussi été observés dans des cultures à 37° d'un mutant aconidien de *N. sitophila* (« albinistic strain »). Enfin, les phénomènes de bourgeonnement apical des chaînettes

conidiennes se sont manifestés avec une fréquence relativement élevée dans les cultures sur milieu conidiogène (voir p. 375) du mutant cytochrome-déficient C117 de *N. crassa*.

Une meilleure compréhension de la transformation morphogénétique d'un hyphe terminal en un chapelet de conidies requerra en outre une connaissance accrue des changements de la nature chimique et des propriétés physiques et mécaniques de la paroi fongique. On sait déjà que la paroi hyphale des *Neurospora* est riche en chitine (GLASER et BROWN, 1957) et que des changements dans l'équilibre de sa composition (moins de glucose et plus de glucosamine, précurseur de la chitine) peuvent être associés avec certaines aberrations morphologiques des hyphes chez les formes coloniales de *N. crassa* (DETERRA et TATUM, 1963). Le L-sorbose, un agent d'induction chimique des « paramorphes coloniaux » de *Neurospora* (TATUM et coll., 1949), provoque les mêmes changements dans l'équilibre chimique des parois hyphales. Enfin, le m-inositol, comme constituant structural des membranes lipoprotéiques de *Neurospora*, joue un rôle déterminant dans sa morphologie (FULLER et TATUM, 1956).

Le sort des noyaux disséminés dans le siphon cytoplasmique terminal de l'hyphe lors de la conidiogenèse mérite d'être considéré de plus près. On admet généralement que ces noyaux sont distribués passivement, au hasard et en nombre variable (2-8) selon les conditions de nutrition (HUEBSCHMAN, 1952), dans les macroconidies en formation (voir fig. 1). Il n'est cependant pas exclu que des divisions de noyaux interviennent à ce stade, en particulier lors des cas de bourgeonnement conidiogène mentionnés plus haut.

Enfin, l'étude au microscope électronique de conidies mûres de *N. crassa* a récemment permis à M^{me} D^r B. GIBGOT-WEISS (1963-64) d'en décrire les infrastructures, en particulier sur des coupes colorées négativement. Des organites de nature mitochondrienne contiendraient les pigments caroténoïdes caractéristiques des macroconidies. Cette étude, réalisée à la Washington University (St. Louis, U.S.A.), se poursuit en collaboration à Genève, en mettant autant que possible l'accent sur l'évolution des infrastructures hyphales au cours de la conidiogenèse.

b) Biochimie

Les voies métaboliques engagées dans la différenciation biochimique des macroconidies des *Neurospora* ne peuvent être clairement mises en évidence que par rapport à celles à l'œuvre dans le mycélium végétatif et dont elles représentent en fait les premières dérivations survenant dans le développement complet de la moisissure (voir plus haut la séquence morphogénétique).

Il y a donc lieu de rappeler que les voies essentielles du métabolisme ont été décelées dans le mycélium de *Neurospora* (voir COCHRANE, 1958), à savoir: la voie de dégradation glycolytique du sucre (saccharose, glucose, etc.) conduisant à l'acide pyruvique dont 40% au moins est oxydé par la voie du cycle de Krebs (ROTHERY et coll., 1962); le cycle des pentoses interviendrait aussi, pour une part tout au moins

(NICHOLAS et coll., 1954); en revanche, le cycle glyoxylique est presque inexistant dans le mycélium (TURIAN, 1961).

Pour atteindre plus pleinement notre objectif de la mise en évidence de déviations biochimiques associées à la différenciation conidienne, nous avons préféré aux mesures comparées sur une alternative statique, c.à.d. sur des « produits finis » tels que mycélium *versus* conidies mûres (récoltées sur milieu solide, voir OWENS, 1955; ZALOKAR, 1959b), celles réalisées sur l'alternative dynamique mycélium en croissance végétative *versus* mycélium conidiogène (riche de conidies naissantes).

Nous avons donc cherché à formuler des conditions de milieu de culture capables de susciter une telle alternative dynamique chez les *Neurospora*.

Une première solution, de nature purement physique, nous a été offerte (TURIAN, 1960) par la culture sur milieu synthétique liquide (P) de WESTERGAARD et MITCHELL (1947) à 25° (mycélium prédominant, ascogones) *versus* 37° (mycélium fortement conidiogène, pas d'ascogones).

Une deuxième alternative a consisté (TURIAN, 1961) à faire varier la source de C du milieu P à 25°, soit saccharose 2% (mycélium prédominant), soit acétate de Na seul (2%) ou avec un peu de saccharose (0,5% avec acétate 1,5%), ce qui détermine un mince mycélium très conidiogène.

Enfin et solution la plus satisfaisante du point de vue de l'objectif fixé plus haut: alternative azotée en milieu P au saccharose enrichi de citrate (TURIAN, 1964), impliquant l'utilisation soit d'un sel ammoniacal (avec citrate d'ammonium, mycélium pur s'épaississant = M), soit d'un nitrate (épais coussin conidien = C).

De nombreuses analyses biochimiques comparées sur des cellules intactes (respiration), des filtrats de cultures et surtout des extraits mycéliens et conidiens nous ont permis de détecter d'importantes différences d'ordre métabolique entre les deux types de l'alternative morphologique M *vs.* C des *Neurospora*.

En premier lieu, des indications suggérant une carence partielle de fonctionnement du cycle de Krebs dans les conidies sont apparues à la suite de mesures d'une activité réduite de la succino-déshydrogénase (ZALOKAR, 1959b) et de la succino-réductase du cytochrome c (TURIAN, 1960) dans ces organes. Des mesures plus récentes de l'activité succino-déshydrogénasique par la méthode au méthosulfate de phénazine n'ont toutefois pas révélé de différence significative entre mycélium et conidies chez le *N. crassa* (GIBGOT-WEISS, 1964-65). Des mesures comparatives sur ce complexe enzymatique critique du cycle de Krebs se poursuivent actuellement, en faisant usage des diverses méthodes connues et avec la collaboration de M^{me} Dr B. Weiss, sur des préparations de mitochondries isolées des deux types morphologiques M et C de *Neurospora*.

La possibilité d'une faible croissance mycélienne fortement conidiogène de *Neurospora* sur milieu à l'acétate comme seule source de C offrait l'occasion d'une étude de l'activité des enzymes du cycle glyoxylique, considéré comme alternative d'un cycle de Krebs éventuellement déficient dans ces cultures conidiennes. C'est

ainsi qu'isocitratase et malate synthétase ont été mises en évidence dans ces cultures de *Neurospora* (TURIAN, 1961-62). L'isocitratase (isocitrate lyase) de *N. crassa*, dont l'activité est beaucoup plus élevée dans les extraits de cultures sur acétate que sur saccharose ("induction") vient d'être partiellement purifiée (31 fois) dans un travail réalisé en collaboration avec le Dr M. KOBR (1964-65). Dans les mêmes conditions de cultures sur acétate et par comparaison avec les cultures sur saccharose, notre collaborateur et M^{lle} E. Zimmerman ont découvert que l'activité des deux formes de l'isocitrate déshydrogénase (à NAD et NADP) est fortement accrue, à l'instar de l'isocitratase. Une étude détaillée de cette double « induction » est en voie d'achèvement (KOBR et coll., 1965). L'interprétation de ces nouveaux résultats devra naturellement tenir compte du fait que l' α -cétoglutarate s'accumule dans les cellules des *Neurospora* cultivés sur acétate (Turian, 1963) et que, par conséquent, la possibilité subsiste d'un ralentissement « in vivo » de la première partie du cycle de Krebs dans les conidies formées dans ces conditions (ralentissement éventuellement effectif seulement dans les conidies mûres).

Parmi les observations tendant à accréditer l'idée d'une participation à la différenciation conidienne de voies métaboliques alternatives à un cycle de Krebs déficient ou pour le moins ralenti, il faut citer le double effet du malonate lorsqu'il est ajouté au milieu P (saccharose-nitrate): malonate (10^{-1} M) très conidiogène, d'une part et inhibiteur de la succino-déshydrogénase (méthode au bleu de méthylène en tubes de Thunberg) et de la succino-réductase du cytochrome c (sur extraits bruts de cultures de 3 et 6 jours sur milieu au malonate), d'autre part. Ces derniers blocages s'accompagnent d'une « induction » de l'isocitratase (TURIAN, 1963), enzyme-clef de la voie alternative du cycle glyoxylique.

L'inocuité de fortes doses de cyanure (ad 10^{-3} M KCN dans milieux C) à l'égard de la conidiogénèse, phénomène pourtant nettement aérobique, est aussi en faveur de l'hypothèse d'un recours des processus conidiogènes à d'autres voies oxydatives que les voies cytochromiques classiques. La réponse conidiogène très positive du mutant cytochrome-déficient (C117, pas de cytochrome c selon TISSIÈRES et MITCHELL, 1954) sur milieu citrate-nitrate le confirme. Quelles sont alors ces voies alternatives? L'effet négatif du cyanure et la réponse du mutant déficient en cytochrome c, mis en regard de la fluorescence verte des pigments jaunes diffusant dans les filtrats des cultures C, suggèrent une vicariance flavinique pour la respiration terminale des conidies de *Neurospora*.

L'activité du cycle des pentoses a été envisagée (TURIAN, 1962) en rapport avec l'utilisation des sucres en milieu nitraté conidiogène (possibilité de régénération du NADPH requis pour le fonctionnement de la nitrate réductase). Sa première étape enzymatique (glucose-6-phosphate déshydrogénase) est en effet active dans les extraits de mycélium conidiogène (C) bien que sa mesure y soit rendue difficile (après 1-2 minutes) par suite de la présence dans ces extraits d'une active TPNase (NADPase; pour DPNase = NADase conidienne, voir ZALOKAR et COCHRANE, 1956).

En regard d'un rôle conidiogène possible du shunt des pentoses couplé à l'activité de la nitrate réductase, rappelons que l'addition d'un supplément de 10^{-2} M de NH_4Cl au milieu nitrate (C) réprime simultanément nitrate réductase et conidiogénèse (Turian, 1962); par contre, l'addition au milieu ammoniacal (M) de NaHCO_3 , glycolate, glyoxylate ou surtout glycine (10^{-2} M) suffit à le rendre conidiogène pour *N. crassa* (Turian, 1964). Le remplacement du saccharose par un pentose, le d-xylose (2%), dans le milieu M, induit aussi une intense conidiogénèse (de même que l'acétate mais sur faible croissance). Où se trouve dès lors le point commun de ces diverses actions conidiogènes? Nos données expérimentales actuelles nous poussent à le voir au niveau d'un produit commun de transformation de ces divers composés C_2 ou générateurs de C_2 ($\text{C}_5 \rightarrow \text{C}_3 + \text{C}_2$).

La compréhension du mode d'action conidiogène de la famille des corps en C_2 (voir ci-dessus) chez *N. crassa* (et *N. sitophila* mais curieusement pas chez *N. tetrasperma*!) bénéficiera sans doute d'une nouvelle ligne de recherches amorcée avec la mise en évidence d'une intense glycolyse alcoologène (avec traces d'acétaldéhyde et d'acide lactique) dans les filtrats des cultures M (milieu ammoniacal) (résultats inédits, 1964). Des premiers dosages en cours avec l'aide de M^{lle} N. Matikian, il ressort clairement que, comparativement, les cultures C sur milieu nitrate (de même les C sur milieu ammoniacal avec glycine ou xylose) ne produisent que des traces d'éthanol. A l'inverse et fait significatif sur le double plan morphogénétique et biochimique, l'addition de bisulfite (NaHSO_3 0,1%) au milieu C, en immobilisant (« trapping effect ») et accumulant l'acétaldéhyde, renforce le métabolisme dans le sens de la glycolyse et provoque du même coup l'inhibition de la conidiogénèse au profit d'un épaissement mycélien du type des cultures M normales.

Ces observations récentes nous inclinent de plus en plus à considérer l'inhibition de la glycolyse¹ comme l'élément déterminant de la première phase morphogénétique, la conidiogénèse, des *N. crassa* et *sitophila*. En conditions de glycolyse alcoologène, déterminées par le milieu ammoniacal, seule la phase végétative mycélienne prospère; ces conditions apparaissent marquées par la prédominance de la décarboxylation directe du pyruvate, suivie de la réduction immédiate en éthanol de l'acétaldéhyde formée. A noter dans ce sens que la carence en zinc qui déprime l'alcool déshydrogénase (NASON et coll., 1951), ainsi que nous l'avons confirmé par des dosages d'alcool, induit une conidiogénèse partielle sur milieu M carencé. Par contre, il semble que le déclic conidiogène (« trigger » capable de transformer M en C) puisse s'identifier à un facteur d'inhibition glycolytique favorisant l'oxydation du pyruvate (probablement par l'intermédiaire de l'acétaldéhyde, en conformité avec les résultats d'Holton, 1960, et nos mesures d'une appréciable activité de décarboxylase pyruvique dans les extraits C) et en rapport avec le fonctionnement de voies oxydatives plus directes encore telles que le shunt des pentoses.

¹ Milieu M + iodoacétate = effet C! etc... (observations inédites, 1965).

Les considérations précédentes ne doivent naturellement pas faire oublier le rôle prévisible des synthèses d'acides nucléiques en relation avec la conidiogénèse. Le cytoplasme conidien est, en effet, riche en acide ribonucléique (ZALOKAR, 1959b) et des divisions de noyaux, requérant une synthèse préalable d'acide désoxyribonucléique (DNA), sont probables dans les hyphes conidiogènes (voir *la*). C'est dans la perspective d'un tel accroissement de synthèse des acides nucléiques et par conséquent de leurs nécessaires précurseurs puriques et pyrimidiques (sans oublier les pentoses) que nous avons abordé l'étude de la biosynthèse de la glycine chez *Neurospora*. Nous avons montré avec M. G. COMBÉPINE (1963) que cette molécule-clef peut être synthétisée par transamination à partir du glyoxylate et de l' α -alanine. Nous savons d'autre part que le glyoxylate peut être formé de manière endogène par scission de l'isocitrate et que l'activité de l'isocitratase est particulièrement élevée dans les cultures conidiogènes obtenues sur acétate (voir plus haut). Dans les cultures C sur milieu au citrate (isocitratase partiellement réprimée bien qu'encore 2-3 fois plus active que dans extraits M), des indications préliminaires permettent d'envisager la voie des pentoses ($C_5 \rightarrow C_3 +$ (glycolate \rightarrow glyoxylate)) comme alternative de formation du partenaire transaminasique en C_2 de l'alanine endogène. La référence à l'effet conidiogène de la glycine *exogène* signalé plus haut et la prévision d'une interrelation accrue glycine — synthèse bases nucléiques à la conidiogénèse suggèrent en définitive une corrélation positive entre le taux de synthèse *endogène* de la glycine et la potentialité conidiogène des cultures de *Neurospora*.

2. MICROCONIDIES

a) Morphologie

Ces petites spores uninucléées peuvent fonctionner comme spermaties (cellules mâles) chez *N. sitophila* (BACKUS, 1939) bien qu'encore capables de germer. Leur mode de formation a été bien vu par DODGE (1932) qui a décrit leur différenciation par cloisonnement d'une courte ramification hyphale (sorte de stérigmate) se terminant par une collerette après la libération de la première spore (fig. 1). L'ensemble des « stérigmates » compose le plus souvent de petits arbuscules typiques sur les côtés des hyphes-porteurs. La production ou la non production de microconidies est un caractère de souches chez les *Neurospora* (DODGE, 1930, 1932; MOREAU, 1939; BARRATT et GARNJOBST, 1949; GRIGG, 1960).

b) Biochimie

Elle est encore pratiquement inconnue. Elles apparaissent comme peu ou pas pigmentées en comparaison des macroconidies riches en caroténoïdes. Les milieux enrichis en glycine ont généralement accru le nombre des arbuscules à microconidies portés par les mutants a-(macro)-conidiens tels que « fluffy » de *N. crassa* et « albini-

stic » de *N. sitophila*; de même, leur culture à 37° sur milieu P-agarisé (observations inédites). L'activité isocitratasique du mutant « albinistic » cultivé sur milieu P-acétate liquide n'a pas dépassé le 1/3 de celle du type sauvage obtenu dans les mêmes conditions d'« induction » enzymatique (TURIAN et coll., 1962). Enfin, ces cellules de type mâle présentent un rapport nucléo-cytoplasmique élevé et la teneur de leur noyau en DNA serait de $4,6 \times 10^{-14}$ g. (HOROWITZ et MACLEOD, 1960).

3. ASCOGONES

a) Morphologie

Ces organes femelles (A, fig. 1) sont cloisonnés en une série de gros articles pluri-nucléés, à cytoplasme dense (très basophile, observations inédites), formant un peloton caractéristique (MOREAU, 1930; DODGE, 1935). Le peloton ascogonial se prolonge parfois par un filament rectiligne, appelé trichogyne (récepteur des microconidies-spermaties chez *N. sitophila*; BACKUS, 1939) bientôt dégénéré. Un peu plus tard, des filaments végétatifs entourent la formation ascogoniale (stade protopérithèce), laquelle engendre des hyphes ascogènes en prélude à la production du périthèce. Certains mutants morphologiques sont incapables de former des protopérithèces (DODGE, 1946).

b) Biochimie

La genèse des ascogones a été causalement associée à l'activité de la tyrosinase, laquelle se traduit par la mélanisation progressive des jeunes protopérithèces (WESTERGAARD et HIRSCH, 1954). Ce point est actuellement discuté (ESSER, 1964), malgré les observations complémentaires de BARBESGAARD et WAGNER (1959) sur des mutants tyrosinase-négatifs dépourvus d'ascogones. La formation de ces organes femelles est inhibée chez *N. crassa* cultivé à 35° (HIRSCH, 1954). Nous avons aussi observé la stérilité complète de *N. tetrasperma* maintenu à 37° sur milieu P-saccharose (mais avec production de conidies sur mycélium orangé vif). La genèse ascogoniale est également bloquée par culture des *Neurospora* sur milieu P-acétate solide ou liquide (TURIAN et coll., 1962), à l'exception toutefois de la souche « fluffy », particulièrement fertile. L'addition de malonate (10^{-1} M) au milieu P-saccharose provoque, avec la stimulation de la conidiogenèse (voir 1b), une inhibition presque totale de la formation des ascogones de *N. crassa* (rares protopérithèces dans cultures de plus de 10 jours). De même, avec *N. tetrasperma*, le nombre des périthèces plus ou moins mûrs formés en présence de malonate est très restreint. Il semble donc que l'intégrité de fonctionnement du cycle de Krebs soit une condition préalable nécessaire pour que le mycélium puisse donner naissance aux ascogones-protopérithèces-périthèces des *Neurospora*.

En conformité avec les données ci-dessus, nous observons actuellement que la culture de *N. crassa* sur milieu M, favorable à la glycolyse alcoologène et à la crois-

sance mycélienne (voir *lb*), retarde sensiblement l'apparition des ascogones (après 10 jours, avec la chute du taux d'éthanol).

Au cours du développement complet des *Neurospora* et faisant suite au premier effort métabolique et morphogène requis par la formation des conidies, il est à prévoir qu'en plus de la préalable « recharge énergétique » (rôle cycle de Krebs, etc.), d'importants remaniements dans les systèmes protéiques mycéliens préudent à la différenciation des ascogones. De tels remaniements dans les protéines ne seraient pas sans rapports avec l'apparition de l'activité tyrosinase et son expression visible, la mélanisation des ascogones (HOROWITZ et coll., 1961).

Enfin, une élévation du rapport RNA/poids sec (et aussi RNA/DNA) dans les secteurs mycéliens richement générateurs d'ascogones basophiles comparés à des zones mycéliennes restées végétatives (dosages inédits, 1962), est indicatrice de remaniements au niveau des acides nucléiques, sans doute parallèles à ceux des protéines spécifiques.

Nos recherches et celles de nos collaborateurs bénéficient de l'appui du Fonds national suisse de la recherche scientifique, de la Fondation Hoffmann-La Roche et du National Institute of Health (U.S.A.).

*Laboratoire de Microbiologie,
Institut de Botanique générale
de l'Université de Genève.*

BIBLIOGRAPHIE

- BACKUS, M. P., *Bull. Torrey Bot. Club*, 66, 63 (1939).
 BARBESGAARD, P. and WAGNER, S., *Hereditas*, 45, 564 (1959).
 BARRATT, R. W. and GARNJOBST, L., *Genetics*, 34, 351 (1949).
 BEADLE, G. W. and TATUM, E. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 27, 499 (1941).
 COCHRANE, V. W., *Physiology of Fungi*, 524 pp., Wiley, New York (1958).
 DE TERRA, N. and TATUM, E. L., *Amer. J. Bot.*, 50, 669 (1953).
 DODGE, B. O., *Mycologia*, 22, 9 (1930).
 — *Bull. Torrey Bot. Club*, 59, 347 (1932).
 — *Mycologia*, 27, 418 (1935).
 — *Bull. Torrey Bot. Club*, 73, 410 (1946).
 ESSER, K., *Communication orale* (Edimbourg, 1964).
 FULLER, R. C. and TATUM, E. L., *Amer. J. Bot.*, 43, 361 (1956).
 GAUTHIER DE CLAUDE, H. F., *C. R. Acad. Sci.*, 73, 725 (1871).
 GIBGOT-WEISS, B., Ph. D. THESIS, Washington University, St. Louis (1964).
 GLASER, L. and BROWN, D. H., *J. biol. Chem.*, 228, 729 (1957).
 GRIGG, G. W., *J. gen. Microbiol.*, 22, 662 (1960).
 HIRSCH, H. M., *Physiol. Plantarum*, 7, 72 (1954).
 HOLTON, R. W., *Plant Physiol.*, 35, 757 (1960).
 HOROWITZ, N. H. and MACLEOD, H., *Microbiol. Genet. Bull.*, 17, 6 (1960).
 — and FLING, M., MACLEOD, H. and WATANABE, Y., *Cold Spring Harbor Sympos. Quant. Biol.*, 26, 233 (1961).
 HUEBSCHMAN, C., *Mycologia*, 44, 599 (1952).
 KOBR, M., TURIAN, G., and ZIMMERMAN, E., *Arch. Mikrobiol.* (sous presse) (1965).

- LANGERON, M., *Précis de Mycologie*, Masson & C^{ie}, Paris (1945).
- MOREAU, F. et M^{me}, *Rev. gén. Bot.*, 42, 65 (1930).
- *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 86, 12 (1939).
- *Les Champignons*, Encyclop. mycol., 22, 940 pp., Lechevalier Edit., Paris (1952).
- NASON, A., KAPLAN, N. O. and COLOWICK, S. P., *J. biol. Chem.* 188, 397 (1951).
- NICHOLAS, D. J. D., NASON, A. and MCELROY, W. D., *J. biol. Chem.*, 207, 341 (1954).
- OWENS, R. G., *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, 18, 145 (1955).
- ROTHERY, W. G., BOWN, A. W. and BOULTER, D., *The New Phytol.*, 61, 41 (1962).
- SACCARDO, P. A., *Sylloge Fungorum*, 1 (1882).
- SHEAR, C. L. and DODGE, B. O., *J. Agr. Res.*, 34, 1019 (1927).
- TATUM, E. L., BARRATT, R. W. and CUTTER, V. M., *Science*, 109, 509 (1949).
- TISSIÈRES, A. and MITCHELL, H. K., *J. biol. Chem.*, 208, 241 (1954).
- TURIAN, G., *Path. Microbiol.*, 23, 687 (1960).
- *Path. Microbiol.*, 24, 819 (1961).
- *Neurospora Newsletter*, 2, 15 (1962).
- *Path. Microbiol.*, 26, 553 (1963).
- *Nature*, 202, 1240 (1964).
- SEYDOUX, J. and VOLKMANN, D., *Path. Microbiol.*, 25, 737 (1962).
- et COMBÉPINE, G., *Helv. Chim. Acta*, 46, 2453 (1963).
- et KOBR, M., *Biochim. Biophys. Acta*, 99, 179 (1965).
- VUILLEMIN, P., *C. R. Acad. Sci.*, 101, 682 (1910).
- WEISS, B., *J. gen. Microbiol.*, 39, 85 (1965).
- WESTERGAARD, M. and MITCHELL, H. K., *Amer. J. Bot.*, 34, 573 (1947).
- and HIRSCH, H. M., *Sympos. Colston Res. Soc.*, 7, 171 (1954).
- ZALOKAR, M., *Amer. J. Bot.*, 46, 602 (1959 a); *ibid.*, 46, 555 (1959 b).
- and COCHRANE, V. W., *Amer. J. Bot.*, 43, 107 (1956).
-