

PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE. — *Relations entre la morphogenèse de l'appareil végétatif non agrégé du Leptoporus lignosus (Kl.) Heim et le métabolisme respiratoire des filaments caractéristiques des deux phases du développement.* Note (*) de M^{lle} Marie-Josée Bareyre et M. Claude Boisson, présentée par M. Roger Heim.

Au cours de chaque phase du développement des thalles du *L. lignosus*, les filaments mycéliens peuvent se trouver dans deux états qui dépendent des conditions d'oxygénation du milieu environnant. Ces deux modes de fonctionnement correspondent à des différences biochimiques au niveau du métabolisme respiratoire, concernant en particulier les voies de dégradation du glucose.

Le développement *in vitro* du *L. lignosus* s'effectue en deux phases repérables par la nature des filaments qui assurent la croissance radiale de la culture, par la cinétique de la croissance et par les relations différentes existant en arrière du front de croissance entre les parties aérienne et immergée du thalle (¹). Ces filaments sont intramatriciels et à croissance lente au cours de la phase A ; ils donnent naissance par ramification au système aérien dressé puis aux premiers filaments B. Ces derniers sont caractéristiques du deuxième stade du développement. Ils sont superficiels et à élongation rapide ; le système immergé se forme entièrement à la suite de leur ramification. Du fait de leur localisation par rapport au substrat, les filaments A et B se trouvent dans des conditions d'aération très différentes. Prévot (²) a montré en effet que le Rh diminue rapidement à l'intérieur d'un milieu gélosé. C'est pourquoi nous avons effectué une étude comparative du métabolisme respiratoire des filaments A et B. Nous donnerons dans cette Note les premiers résultats obtenus sur les mécanismes de dégradation du glucose. Nous avons mesuré l'intensité respiratoire avec des extraits obtenus par broyage des mycéliums de types A et B, que nous appellerons pour la clarté de l'exposé extraits A et B. Les ions phosphates sont indispensables au fonctionnement de la voie glycolytique mais inhibent celui du shunt des phosphopentoses à des concentrations variant de 0,05 à 0,1 M (³). C'est pourquoi nous avons utilisé des extraits obtenus en présence soit de tampons phosphate 0,05 M de pH = 6,8, soit de tampon *tris* de pH = 7,5. Les premiers servent à évaluer l'intensité respiratoire avec ou sans apport de glucose 0,22 M. Ces mêmes extraits ont également été utilisés après dialyse de 24 à 48 h contre de l'eau distillée glacée dans des boyaux en cellulose (diamètre moyen des pores : 24 Å. Les mesures d'absorption d'oxygène ont été effectuées à 30 °C au respiromètre de Warburg. Les extraits obtenus en présence de tampon *tris* ont permis de déterminer l'activité de la glucose-6-phosphate déshydrogénase par spectrophotométrie (⁴) et de calculer la quantité d'oxygène absorbé pour la transformation du glucose-6-phosphate. On peut donc dans les deux cas exprimer l'intensité respiratoire en microlitres d'oxygène absorbé par milligramme d'azote protéique (NP) des extraits dialysés.

Les résultats illustrés par les courbes de la figure amènent les remarques suivantes :

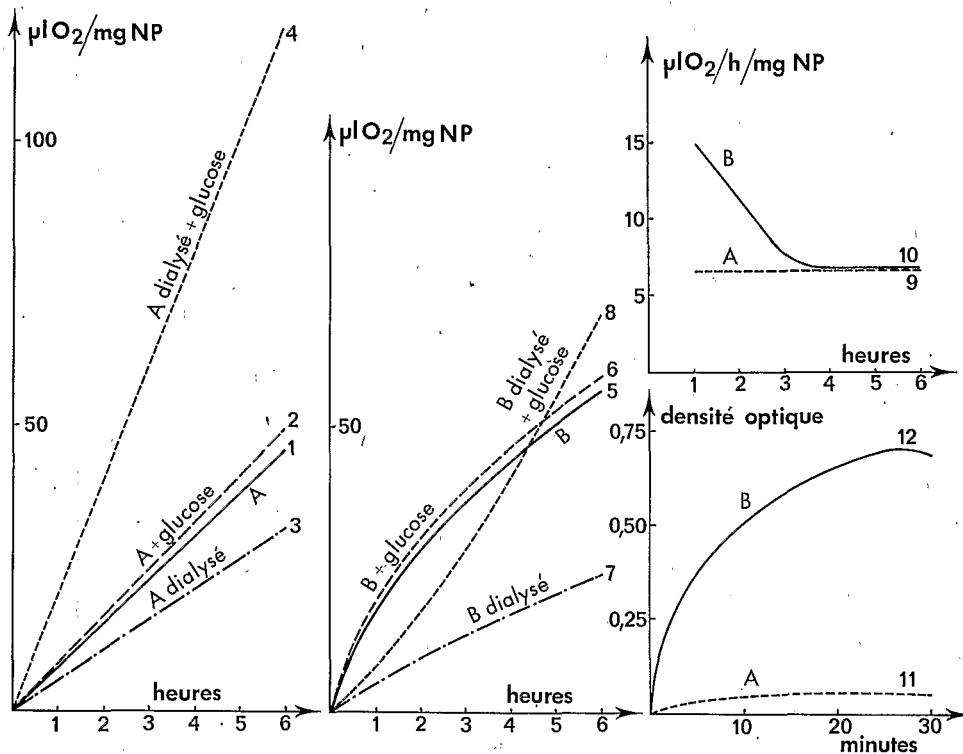
O. R. S. T. O. M.

11 JUN. 1969

Collection de Référence

n° 13266 2/1

a. La respiration endogène des extraits B est plus forte que celle des extraits A (courbes 1 et 5). Les cinétiques sont également différentes : la vitesse de réaction enregistrée avec les extraits B diminue au cours des premières heures du test pour prendre une valeur identique à celle des extraits A qui, elle, reste constante durant toute l'expérience (courbes 9 et 10). La forme de la courbe peut être interprétée en admettant qu'un « facteur favorable » est consommé, facteur qui n'existerait pas dans la forme A. Cette première différence se traduit par une intensité respiratoire maximale beaucoup plus forte pour les extraits B ($15 \mu\text{l O}_2/\text{mg NP}/\text{h}$) que pour les extraits A ($7,1 \mu\text{l O}_2/\text{mg NP}/\text{h}$).



Intensité respiratoire des extraits mycéliens de type A ou B, dans différentes conditions. Courbes 1 à 10 : tests au respiromètre de Warburg ; courbes 11 et 12 : dosage de la glucose-6-phosphate déshydrogénase par spectrophotométrie.

b. L'apport de glucose n'augmente que très faiblement l'intensité respiratoire des extraits bruts, quelle que soit leur nature (courbes 2 et 6).

c. Le comportement des extraits dialysés fait ressortir des différences extrêmement nettes entre les mycéliums de types A et B. Remarquons tout d'abord que la dialyse diminue plus fortement l'intensité respiratoire des extraits B (courbe 7), qui reste constamment inférieure à celle des extraits A (courbe 3). Ce fait pourrait être dû à la disparition du facteur favorable signalé précédemment. Le glucose est métabolisé beaucoup plus fortement par les extraits dialysés (courbes 4 et 8) que par les extraits bruts (courbes 2 et 6), ce qui laisse présager le départ au cours de

la dialyse, soit d'inhibiteurs, soit d'une partie des substrats de la respiration endogène qui, dans les extraits bruts, entreraient en compétition avec les enzymes capables de dégrader le glucose. Ce phénomène est plus marqué pour les extraits A que pour les extraits B. La cinétique de la dégradation du glucose est, là encore, différente : la vitesse de réaction est constante pour les dialysats A alors qu'elle augmente régulièrement pour les dialysats B. Ce dernier point peut être interprété par l'adaptation d'un système enzymatique au substrat glucosé.

d. Les courbes 11 et 12 de la figure montrent une activité importante de la glucose-6-phosphate déshydrogénase dans les extraits B et son absence presque totale dans les extraits A. Les intensités respiratoires maximales obtenues dans ces conditions sont respectivement de 32,0 et 3,9 $\mu\text{l O}^2/\text{mg NP/h}$.

L'ensemble des expériences décrites ci-dessus montre que les différences morphologiques existant entre les filaments caractéristiques de chacune des phases du développement correspondent à des différences biochimiques se manifestant au niveau du métabolisme respiratoire. L'apparition des filaments B qui marque le passage de la première à la deuxième phase du développement coïncide avec la synthèse ou l'activation de systèmes enzymatiques se traduisant par une intensité respiratoire beaucoup plus importante que celle enregistrée avec les filaments intramatriciels A ; cette affirmation est étayée de manière précise pour la glucose-6-phosphate déshydrogénase. Les relations entre différenciation morphologique et différenciation biochimique au niveau des mécanismes de dégradation du glucose ont déjà été étudiées chez les Champignons. Les formes levures du *Blastomyces dermatitidis* et du *B. brasiliensis* consomment cinq à six fois plus d'oxygène que les formes mycéliennes (⁵). La morphologie adoptée par le *Neurospora crassa* en fonction de la source d'azote apportée par le milieu de culture dépend en définitive des activités relatives des deux voies possibles de dégradation du glucose, glycolyse et voie oxydative des phosphopentoses (⁶). Dans les exemples que nous venons de citer, le fonctionnement du mycélium est uniforme à l'intérieur d'un stade morphologique. On s'aperçoit qu'il n'en est pas ainsi pour le *L. lignosus* quand on observe la nature des thalles fils régénérés après bouturage massif d'éléments mycéliens superficiels ou intramatriciels profonds appartenant à chacune des deux phases (⁸). Les filaments aériens dressés nés de la ramification des axes intramatriciels A fonctionnent comme des filaments B ; en revanche, les filaments intramatriciels issus par ramification des éléments superficiels B fonctionnent comme des filaments A. Les états A et B que nous avons caractérisés par leur métabolisme respiratoire ne sont donc pas spécifiques des stades morphologiques A et B respectivement. Le mycélium de la phase A est au début entièrement dans l'état A, puis, après l'apparition du mycélium aérien dressé, il fonctionne pour partie dans l'état A (système immergé) et pour partie dans l'état B (système aérien). Au cours de la phase B, les filaments rampants B et leurs rameaux aériens dressés fonctionnent dans l'état B ; celui-ci est perdu dans les filaments intramatriciels qui se développent en arrière du front de croissance. Finalement, quelle que soit la phase du développement, le système intramatriciel est toujours dans l'état A, le système aérien

dans l'état B. Les résultats de l'étude du métabolisme respiratoire ne permettent pas de déterminer avec précision les voies de dégradation du glucose actives dans les états A et B. On peut cependant les interpréter de la manière suivante : le mycélium intramatriciel métabolise le glucose par la voie glycolytique ; l'activité très faible de la glucose-6-phosphate déshydrogénase permet de penser que la voie des phosphopentoses joue un rôle très limité. C'est en revanche la voie la plus active dans le métabolisme du mycélium superficiel fonctionnant dans l'état B. Cette hypothèse est étayée par les résultats de certaines expériences basées sur des critères morphologiques et interprétés à la lueur des connaissances acquises sur le fonctionnement des deux voies de dégradation du glucose.

a. Le mycélium de type B croît plus rapidement que celui de type A et sa teneur en azote protéique par gramme de matière sèche est une fois et demie plus élevée. Ceci démontre une activité métabolique beaucoup plus intense du mycélium de la deuxième phase. Or, on sait que le shunt des phosphopentoses qui serait actif dans celui-ci assure une réserve d'hydrogène sous forme active de NADPH nécessaire à de nombreuses synthèses, alors que la glycolyse, qui fonctionnerait dans les filaments A, est considérée, du point de vue énergétique comme une voie réalisant une « mise en vieillisse » du fonctionnement cellulaire (8).

b. Certaines expériences montrent que les états A et B correspondent à une adaptation à des conditions particulières en relation avec la pression d'oxygène existant dans le milieu environnant. Ainsi, le délai nécessaire à l'apparition des filaments B est considérablement réduit quand le thalle se développe au contact de l'air, avec le seul mycélium superficiel. En revanche, une culture constituée uniquement par du mycélium intramatriciel, sans contact direct avec l'atmosphère, reste indéfiniment dans l'état A, au moins dans les limites de l'expérience. De même, si on oblige des filaments B à croître à l'intérieur du milieu, ils prennent rapidement les caractéristiques de fonctionnement de l'état A. L'adaptation de l'état B à un environnement bien oxygéné par la mise en fonctionnement de la voie des phosphopentoses est conforme au fait que, chez les Champignons, cette voie métabolique est favorisée quand l'aération est plus forte (9).

(*) Séance du 14 avril 1969.

(1) C. BOISSON, *Comptes rendus*, 266, Série D, 1968, p. 1112.

(2) A. R. PRÉVOT, *Bull. Soc. Philom.*, 208, 1938, p. 394.

(3) P. BOYER, H. LARDY et K. MYRBÄCK, *In The enzymes*, Academic Press, 7, 1963, p. 223.

(4) H. U. BERGMAYER, *Methods of enzymatic analysis*, Academic Press, 1963.

(5) W. J. WICKERSON et G. A. EDWARDS, *J. Gen. Physiol.*, 33, 1949, p. 41.

(6) B. WEISS et G. TURIAN, *J. Gen. Microbiol.*, 44, 1966, p. 407.

(7) C. BOISSON, *Comptes rendus*, 267, Série D, 1968, p. 1435.

(8) P. H. CARTIER, *In Problèmes de métabolisme respiratoire et d'oxydations cellulaires*, Masson, 1963, p. 301.

(9) G. C. AINSWORTH et A. S. SUSSMAN, *In The Fungi*, Academic Press, 1, 1965, p. 261.

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