Nouveaux signes biochimiques de la différenciation sexuelle chez Allomyces

Autor(en): **Chodat, Fernand / Turian, Gilbert**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **65 (1955)**

PDF erstellt am: **29.04.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-45995

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.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Nouveaux signes biochimiques de la différenciation sexuelle chez Allomyces

Par *Fernand Chodat* et *Gilbert Turian*

Institut de botanique générale, Université de Genève

Manuscrit reçu le 4 octobre 1955

D'une façon générale, les tissus où s'affirme la prédominance du sexe femelle présentent un état réducteur plus accentué que les tissus mâles (8, 9, 10, 15).

Les capacités réductrices des gamétanges femelles d'*Allomyces* peuvent être mises en évidence à l'aide de colorants vitaux du type rédox. Parmi ceux-ci, c'est le vert janus, moins facilement réduit (rH_2 plus bas) que le bleu de méthylène, qui nous a donné les meilleurs résultats différentiels.

Pour le démontrer, nous avons utilisé des extrémités hyphales d'*Allomyces javanicus* Kniep, rapidement induites à différencier leurs gamétanges mâles et femelles, selon notre méthode de transfert dans l'eau distillée (16). Rappelons que cette dernière comporte au préalable la culture de la phase gamétophytique d'*Allomyces* en milieu synthétique liquide d'Emerson (4) ou de Machlis (12), boriqué au $^1/_{10\,000}$ (16). Les meilleurs résultats ont été obtenus par transfert dans l'eau distillée de fragments mycéliens stériles prélevés dans des cultures âgées de 6 jours. Le choc causé par un tel changement de milieu provoque la différenciation sexuelle apicale des hyphes en 6 à 7 heures. Des couples de gamétanges âgés de 7 heures ont alors été plongés pendant 5 minutes dans une solution aqueuse de vert janus B au $^1/_{1000}$. Observés ensuite dans une goutte d'eau distillée, ils ont fourni l'image satisfaisante suivante:

coloration bleu verdâtre des petits gamétanges mâles terminaux;
coloration rose pâle des longs gamétanges femelles subterminaux;
coloration vert bleuâtre des hyphes supports et des hyphes stériles.

Cet exemple s'applique au stade de différenciation gamétangiale caractérisé par la distribution homogène des divers organites dans le coenocyte, en particulier des granules lipidiques (figure 1, I). Au stade suivant (stade des initiales gamétiques, selon figure 1, II), ces granules se disposent en couronnes autour des noyaux des énergides-gamètes. A ce stade, nous avons été frappés par le fait que la teinte rose de réduction du vert janus, dans les organes femelles, semble localisée dans les couronnes

de granules. Lorsque apparaissent, entre la couronne lipidique et le noyau central, les premiers amas de ribonucléoprotéine du corps paranucléaire (17), le contraste entre la coloration bleu vert de ces amas basophiles et la teinte rose des granules lipidiques se marque particulièrement.

Il ressort donc de ces premières observations que le pouvoir réducteur spécialement accentué des gamétanges femelles semble être avant tout l'apanage des granules lipidiques. Une telle observation donne l'espoir de pouvoir relier la notion physiologique de pouvoir réducteur à une donnée chimique, le caractère lipidique des granules. Il était donc important de préciser la nature de ces granules lipidiques, à l'aide de quelques tests cytochimiques.

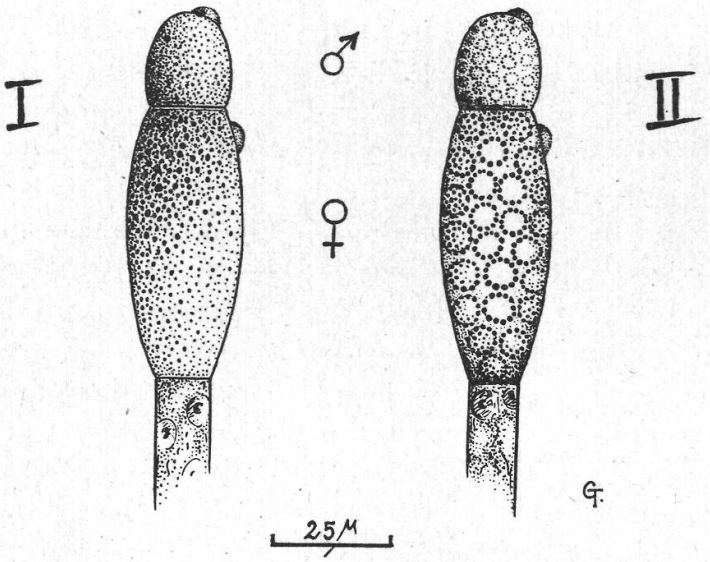

Figure 1
Deux stades de la différenciation cytoplasmique gamétangiale chez *Allomyces javanicus* Kniep, Var. *macrogynus* Emerson.
I. Stade du contenu homogène (granules lipidiques osmiophiles dispersés).
II. Stade des initiales gamétiques (couronnes lipidiques). Fixateur de Champy, 12 heures

Rappelons que tous nos tests ont été réalisés sur les gamétanges au stade des initiales gamétiques afin de pouvoir distinguer sans ambiguïté les granules lipidiques, disposés en couronnes, d'autres granulations intracellulaires, en particulier les granules métachromatiques. En effet, la coloration mixte au Soudan III—bleu de méthylène, suivie de décoloration avec H_2SO_4 à 1 % (méthode de A. Meyer [14]), appliquée à des gamétanges en début de différenciation (stade du contenu homogène) fixés au formol neutre à 10 %, permet de distinguer, dispersés parmi les granules lipidiques soudanophiles, des granulations bleues, de morphologie indistincte, ayant résisté à l'action décolorante de l'acide. Ces granulations (que l'on retrouve dans les gamètes) prennent, d'autre part, une teinte rouge grenat en présence de bleu de toluidine et bleu noir avec le réactif de Neisser utilisé pour la détection des granules métachromatiques du bacille diphtérique (13). Ajoutons qu'au stade des initiales gamétiques, les granules métachromatiques ne sont plus détectables sur le même plan optique que les couronnes de granules lipidiques soudanophiles: ils occu-

pent une position plus centrale que ces dernières, dont la position à la périphérie des gamétanges se prête fort bien à l'observation cytochimique.

Le test de la réduction de l'acide osmique nous a été incidemment fourni par l'utilisation du fixateur de Champy selon Langeron (11). Des gamétanges laissés 12 heures dans ce mélange osmié montrent, après lavage à l'eau distillée, des couronnes de grains se détachant en bistre foncé sur le fond jaunâtre pâle du cytoplasme général. Cette teinte bistre des granules lipidiques vire au brun noir lors d'un lavage secondaire des gamétanges dans de l'alcool à 95 % (voir figure 1). Ces colorations sont révélatrices de la présence de phosphatides (lécithine, etc.) dans les granules; elles sont aussi l'indice d'une faible teneur de ces organites en lipides peu saturés du type oléique (11).

La présence de phosphatides, révélée par le test de réduction de l'acide osmique, nous a donné l'idée de rechercher si certains de ces composés, générateurs de groupes aldéhydiques, du type acétal-phosphatides (plasmalogène de Feulgen et Bersin [5]) ne pourraient pas être responsables du pouvoir réducteur des granules lipidiques. Nous avons donc appliqué, tant sur *Allomyces javanicus* que sur *Allomyces arbusculus,* la réaction plasmale de Feulgen (1, 2, 3, 6, 18). Pour cela, les gamétanges ont été fixés pendant 24 et 72 heures dans:

1. une solution aqueuse saturée de bichlorure de mercure;
2. dans le fixateur de Schaudinn (11), modifié selon Hatch ($HgCl_2$-alcool-acide acétique [7]);
3. dans un mélange alcool-acide acétique (Schaudinn non mercuré).

Après lavage soigneux à l'eau distillée, les gamétanges ont été noyés 1 à 2 heures dans le réactif de Schiff (fuchsine sulfureuse). Enfin, un rapide lavage avec une solution sulfureuse puis de l'eau distillée a précédé les observations microscopiques, soit extemporanées, soit après montage au baume.

La fixation au bichlorure de mercure nous a fourni une nette réaction plasmale positive, spécialement après 72 heures de traitement: les granules lipidiques se détachent en rose violet foncé sur un fond rose pâle. La fixation au Schaudinn fournit des images encore plus nettes, déjà après 12 heures de traitement. Mais la présence d'alcool dans le fixateur (susceptible d'être oxydé par le sublimé) confère un caractère de «réaction pseudoplasmale» (1) à une part de la coloration obtenue. La teinte rose violacé diffuse obtenue après fixation à l'alcool acétique le confirme d'ailleurs. Par contre, un témoin non fixé et traité au réactif de Schiff ne donne aucune coloration violette.

Il était dès lors intéressant de comparer l'intensité de la réaction plasmale (fixation au $HgCl_2$) selon les sexes des gamétanges. Malgré les difficultés d'appréciation de la teinte obtenue, il nous a paru que, d'une

manière générale, l'intensité de la coloration violette est plus accusée dans les gamétanges femelles que dans les organes mâles correspondants (sur le même hyphe). Fait notoire, cette observation se vérifie quelle que soit la position réciproque des gamétanges sur les hyphes fertiles: la réaction plasmale est donc plus intense dans le gamétange femelle terminal d'*Allomyces arbusculus* (espèce hypogyne) et dans le gamétange femelle subterminal d'*Allomyces javanicus* (espèce épigyne). Ajoutons que ce fait présente peut-être une certaine généralité et trouve une première vérification dans une expérience analogue réalisée sur les organes sexuels de *Chara foetida* Braun, plongés 72 heures dans la solution de $HgCl_2$: réaction plasmale positive intense dans les globules huileux de la cavité de l'oosphère (presque nulle dans les cellules d'enveloppe de l'oogone), très faible par contre dans les filaments spermatiques libérés de l'anthéridie.

A l'époque où Joyet-Lavergne (8) a formulé sa règle, il ne lui était pas possible de désigner les substances responsables de la réduction des colorants. La localisation pro parte au niveau des acétal-phosphatides *(Allomyces, Chara)* constitue une précision appréciable. Nos observations permettent, d'autre part, d'expliquer les critiques et contestations dont la proposition de Joyet-Lavergne a fait plusieurs fois l'objet. Les caractéristiques biochimiques du sexe ne sont, en effet, pas nécessairement apparentes, c'est-à-dire décelables sans le secours d'une intervention artificielle (hydrolyse par le $HgCl_2$ dans le cas des acétal-lipides). Il est plus vraisemblable que ces différences réactionnelles soient, dans la plupart des cas, *potentielles*. En conséquence, les épreuves qui se bornent à éprouver directement les différences des intensités réductrices sont souvent destinées à l'insuccès. Le «démasquage» artificiel sera superflu chez les organismes dont les fonctions réductrices ont été physiologiquement dégagées; l'intensité et la durée de ce signe relèvent de l'espèce.

Résumé

Le pouvoir réducteur plus élevé des gamétanges femelles d'*Allomyces javanicus* et *Allomyces arbusculus,* comparé à celui des gamétanges mâles correspondants, a été mis en évidence à l'aide de trois tests:

1. coloration vitale au vert janus. Réduction du colorant localisée au niveau des granules lipidiques;
2. réduction du tétraoxyde d'osmium (dans fixateur de Champy); coloration bistre foncé des granules, indicatrice de phosphatides;
3. réaction plasmale de Feulgen positive et plus intense dans les granules lipidiques des organes femelles, indicatrice de la libération de groupes aldéhydiques réducteurs à partir d'acétal-phosphatides. Confirmation de cette réaction plasmale différentielle dans l'oosphère de *Chara foetida.*

En conclusion, importance du démasquage préalable de certains groupes réducteurs (aldéhydiques en particulier) pour actualiser les potentialités réductrices femelles.

Summary

The higher reducing power of the female gametangia of *Allomyces javanicus* and *Allomyces arbusculus,* compared with the one of the male corresponding organs, has been detected by the use of three methods:

1. vital staining with janus green B. Reduction of the stain localized in the lipid granules;
2. reduction of osmium tetroxide (in Champy's fixative); granules stained dark bistre, indicating phosphatides;
3. Feulgen's plasmal reaction positive and stronger in the lipid granules from the female organs, indicating a liberation of reducing aldehydic groups from acetalphosphatides. Such differential plasmal reaction has been verified in the oosphere from *Chara foetida.*

The authors conclude to the importance of a preliminary unmasking operation of certain reducing groups (aldehydic in particular) in order to demonstrate the female reducing potentialities.

Bibliographie

1. Cain, A. J. On the significance of the plasmal reaction. Quart. J. micr. Sci., **90,** 75, 1949.
2. — The histochemistry of lipoids in animals. Biol. Rev., **25,** 73, 1950.
3. Danielli, J. F. A critical study of techniques for the cytochemical demonstration of aldehydes. Quart. J. micr. Sci., **90,** 67, 1949.
4. Ingraham, J. L., et Emerson, R. Studies of the nutrition and metabolism of the aquatic phycomycete *Allomyces.* Amer. J. Bot., **41,** 146, 1954.
5. Feulgen, R., et Bersin, K. Zur Kenntnis des Plasmalogens. IV. Eine neuartige Gruppe von Phosphatiden (Acetalphosphatide). Hoppe-Seyl. Z., **260,** 217, 1939.
6. — et Voit, K. Über einen weitverbreiteten festen Aldehyd; seine Entstehung aus einer Vorstufe, sein mikrochemischer und mikroskopisch-chemischer Nachweis und die Wege zu seiner präparativen Darstellung. Pflüg. Arch. Ges. Physiol., **206,** 389, 1924.
7. Hatch, W. R. Conjugation and zygote germination in *Allomyces arbuscula.* Ann. Bot., N. S., **2,** 583, 1938.
8. Joyet-Lavergne, Ph. La physico-chimie de la sexualité. Protoplasma-Monographien. V. Borntraeger, Berlin, et Le Soudier, Paris 1931.
9. — Sur les caractères de sexualisation cytoplasmique d'un champignon: *Pythium de Baryanum.* Compt. Rend. Soc. biol., **111,** 588, 1932.

10. Joyet-Lavergne, Ph. Recherches sur les caractères physico-chimiques de la sexualité chez les champignons. Protoplasma, **26,** 1, 1936.
11. Langeron, M. Précis de microscopie. Masson & Cie, Paris 1934.
12. Machlis, L. Growth and nutrition of water molds in the subgenus *Euallomyces*. II. Optimal composition of the minimal medium. Amer. J. Bot., **40,** 450, 1953.
13. Mackie, T. J., et McCartney, J. E. Handbook of practical bacteriology. Livingstone Ltd., Edinburgh 1948.
14. Meyer, A. Die Zelle der Bakterien. Jena, Fischer, 1912.
15. Schopfer, W.-H. Recherches sur la sexualité des champignons. Le problème de la biochimie comparée du sexe. Bull. Soc. bot. Genève, 2e série, **20,** 149, 1928.
16. Turian, G. Culture de la phase gamétophytique d'*Allomyces javanicus* en milieu synthétique liquide. C. R. Acad. Sci., **240,** 1005, 1955.
17. — Sur la nature ribonucléique du corps paranucléaire et ses relations avec la différenciation du sexe chez *Allomyces*. C. R. Acad. Sci., **240,** 2343, 1955.
18. Verne, J. Ann. de physiol. et de physico-chimie biol., **5,** 245, 1929.