



TRAVAUX MYCOLOGIQUES

dédiés à

R. KÜHNER

Numéro spécial du Bulletin de la Société Linnéenne de Lyon
43^e année ————— Février 1974

LOCALISATION INFRASTRUCTURALE DES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES ET ONTOGÉNIE DU DICTYOSOME SIMPLE DE *PAECILOMYCES BERLINENSIS (IMPERFECTI)*

par György-Miklós OLÁH

Résumé. — Localisation des polysaccharides et des protéines soufrées dans les différentes régions du dictyosome simple de ce champignon, et mise en évidence des activités phosphatasiques.

INTRODUCTION

L'entité biologique des Eucaryotes, leur unité cellulaire et leur unité structurale sont un ensemble. La base anatomique des végétaux est la cellule. Il s'agit d'un système ordonné qui est pourvu d'une organisation structurale et infrastructurale complexe, où malgré la complexité, tous les organites, éléments si petits soient-ils, remplissent un rôle spécifique tout en concourant vers le même but : le fonctionnement harmonieux de la cellule.

En dépit des nombreux travaux qui lui ont été consacrés depuis la mise en évidence de son existence, l'appareil de Golgi reste une énigme aussi bien du point de vue du fonctionnement que du point de vue du rôle précis qu'il doit remplir dans l'organisme. On lui attribue en général les fonctions suivantes : enmagasinage, transport et dans certains cas transformations enzymatiques des produits qui ont des destinations diverses dans la cellule. C'est donc un rôle clef que l'appareil de Golgi doit remplir. Selon les données, c'est lui qui dirige la distribution du matériel cellulaire entre le noyau, le reticulum, les vésicules, les lysosomes, le tonoplaste et le plasmalemme. Les dictyosomes sont constants mais soumis à un changement régulier, selon certains auteurs, tandis que selon d'autres, il s'agirait plutôt d'une présence momentanée dans la vie de la cellule. Il apparaît plutôt que l'appareil de Golgi possède une grande souplesse morphologique et biochimique qui lui permet de s'adapter aux circonstances et aux exigences du

moment dans la cellule. Selon BUVAT (1969), son existence ne serait pas permanente, n'aurait qu'une courte durée de vie et subirait un « turn over » plus ou moins rapide.

Même si toutes les énigmes morphologique et physiologique ne sont pas élucidées, l'existence de l'appareil de Golgi dans la cellule des végétaux supérieur ne fait plus de doute, tandis que chez les organismes fongiques qui sont considérés comme des végétaux inférieurs le problème des dictyosomes est loin d'être résolu. Dans de rares cas et chez les espèces appartenant à des unités hiérarchiques différentes, l'existence de l'appareil de Golgi a été signalée. Ces résultats reflètent une hétérogénéité morphologique de l'organite en question en même temps qu'une hétérogénéité dans la systématique des organismes chez lesquels il a été observé. Dans la Sous-classe Oomycètes (*Phytophthora*, *Pythium*, *Peronospora*, *Albugo*), les dictyosomes ressemblent à ceux observés chez les plantes (GROVES et coll. 1968). Chez l'Ascomycète *Neobulgaria pura*, on signale la présence de dictyosomes qui ne possèdent pas de vésicules périphériques caractéristiques. Le même type d'appareil de Golgi a été rapporté dans le cas de l'Hétérobasidiomycète *Puccinia podophylli*. Les formes les plus courantes de dictyosomes ont été observées chez des Protoascomycètes, des *Saccharomyces* par exemple (BURNETT, 1968), ainsi que chez des Myxomycètes (MCMANUS, 1965; et ALDRICH, 1966).

Dans la baside post-méiotique de *Coprinus lagopus*, McLAUGHLIN (1972) observe un dictyosome simple, morphologiquement fort semblable à l'organite que nous avons mis en évidence chez *Paecilomyces berlinensis* (OLAH, 1970). Ce champignon appartient à la classe des Imparfais. Même si la mise en évidence de l'appareil de Golgi chez les organismes fongiques n'a été faite que chez un nombre restreint d'espèces, il ressort d'ores et déjà qu'une grande variation morphologique des dictyosomes se présente chez les champignons, qu'il n'existe pas une uniformité morphologique spécifique pour une classe ou une sous-classe, pas plus que pour désigner ou confirmer la distinction des champignons supérieurs par rapport aux champignons inférieurs.

En outre, si l'appareil de Golgi est un organite essentiel pour le bon fonctionnement de la cellule, sa présence sous forme de « dictyosome simple » ou sous forme de « dictyosome complexe », doit être évidente. Si cet organite sous une forme ou sous une autre n'existe que chez certains représentants des organismes fongiques, chez les champignons où il est absent, quel autre organite cellulaire peut le remplacer ?

Le rôle des « dictyosomes complexes » a été démontré aussi bien chez les plantes (BUVAT et coll., 1969; NORTHCOTE et PICKETT-HEAPS, 1966;

et NORTHCOTE, 1971) que chez d'autres organismes en général, mais le rôle et le comportement physiologique des « dictyosomes simples » n'ont pas encore reçu la même confirmation, pas davantage que leur ontogénie (OLAH, 1970).

La forme simple de l'appareil de Golgi peut-elle remplir les mêmes fonctions que la forme complexe ? Nous avons déjà fait part de la mise en évidence et de l'ontogénie du « dictyosome simple » mais afin de pouvoir préciser davantage le rôle et l'identité exacts de l'organite désigné, il nous fallait attendre les résultats des études de détection d'enzymes spécifiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La souche-type *Paecilomyces berlinensis* Oláh et Ackermann (1969) n° 224/1967, Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation, Université Laval, Québec, a été cultivée sur milieu solide à l'extrait de pomme de terre glucosé (PDA, Difco, Laboratoire, Détroit, Michigan), en boîtes de Petri, à la lumière du jour et à 22° C ($\pm 2^\circ$ C). Les prélèvements ont été effectués à des intervalles appropriés aux techniques utilisées.

A) Technique de fixation au glutaraldéhyde-osmium.

Après une période de 15-18 jours, le diamètre des colonies atteint 40-50 mm en moyenne. A ce moment, la formation des appareils sporifères et la production des spores sont à leur optimum de développement. Les prélèvements sont fait dans des zones de croissance définies, fixés au glutaraldéhyde à 3 % dans le tampon Sørensen à pH 7,3 sous vide et à la température de la glace fondante durant 16 heures ; le rinçage est fait dans le tampon phosphate Sørensen durant 3 heures ; la post-fixation à OsO_4 à 1 % tamponné Sørensen, est faite sous vide, à la température de la glace fondante durant 2 heures ; on poursuit par une déshydratation dans un gradient d'alcool éthylique, suivie d'un passage dans l'oxyde de propylène ; on fait l'imprégnation et l'enrobage dans l'Epon 812. Les tissus enrobés sont coupés à environ 600 Angst. à l'aide d'un Ultratome III LKB, récupérés sur des grilles recouvertes de Formvar, puis colorés à l'acétate d'uranyl (15 minutes) et au citrate de plomb (5 minutes).

B) Technique des fixation en vue de la réaction de Thiéry.

Après la fixation au glutaraldéhyde-acide osmique (voir section A), les spécimens ont été déshydratés et enrobés selon les techniques décrites plus haut. Les coupes sont récupérées sur grilles d'or, puis traitées de la façon suivante : acide périodique à 1 % durant 30 minutes ; lavages soignés

à trois reprises à l'eau bi-distillée. Ensuite, les coupes séjournent pendant 20 heures dans la solution de thiocarbohydrazide à 0.2 % dans l'acide acétique à 20 %. Elles sont ensuite lavées avec soin dans l'acide acétique à 15 %, 10 %, 5 % et 2 % (12 minutes pour chaque concentration). Les grilles sont ensuite plongées dans la solution de protéinate d'argent à 1 % dans l'eau bi-distillée déminéralisée (30 minutes). Cette opération se fait à l'obscurité. On rince 4 minutes à trois reprises.

C) Technique de fixation en vue de la localisation de la cystine.

Après la fixation au glutaraldéhyde-acide osmique (voir technique A), les spécimens ont été déshydratés ainsi que décrit plus haut. Les coupes sont ramassées sur grilles d'or, puis traitées de la façon suivante : les grilles sont plongées dans la solution du réactif pour une durée variable de 30 secondes à 60 minutes à la température de 45° C. Immédiatement après l'incubation, les grilles sont lavées à l'eau bi-distillée, durant 2 minutes.

Réactif pour la coloration des protéines (S-S) :

Solution (A) : nitrate d'argent à 5 %, 5 ml et méthamine à 3 %, 100 ml ;

Solution (B) : acide borique à 1,44 %, 10 ml et borax à 1,9 %, 100 ml,

le réactif final contient 25 ml de solution (A), 5 ml de solution (B), plus 25 ml H₂O bi-distillée. La valeur du pH du réactif complet est de 9,2.

D) Technique cytochimique en vue de localiser l'activité phosphatase acide.

Les échantillons ont été préfixés pendant 45 minutes à 4° C dans du glutaraldéhyde 4 % tamponné à pH 7,3 par le tampon phosphate 0,067 M, puis traités de la façon suivante : deux lavages dans des bains de tampon phosphate (le même que celui utilisé pour la préfixation) à la température du laboratoire durant une heure ; — incubation dans le milieu de Gomori β -glycérophosphate de sodium à la température de 37° C durant 60 minutes à pH 5,0. On arrête la réaction dans la glace concassée. Nouvelles séries de lavages : saccharose 11 à 14 % 2 fois 10 minutes ; — acide acétique à 2 % passage, saccharose à 10 % 10 minutes ; — fixation dans du glutaraldéhyde à 4 %, tampon phosphate 0,067 M à pH 7,3 durant 10 heures à la température de 0° C ; — lavage dans des bains de tampon phosphate 0,067 M pendant 1 heure 1/2 ; — post-fixation OsO₄ à 1 % dans tampon Veronal à pH 7,7 durant une heure à la température du laboratoire avec passage sous vide, — déshydratation à l'éthanol ; — inclusion à l'Epon 812 selon la technique habituelle.

E) *Technique cytochimique en vue de localiser l'activité phosphatase neutre.*

Les échantillons ont été fixés dans du glutaraldéhyde à 4 % dans le tampon phosphate de Sørensen 0,05 M à pH 7,2, 45 minutes à 4° C. Ensuite ils sont soumis aux traitements suivants : — lavage six fois en 2 heures dans des bains de tampon phosphate de Sørensen sucré (saccharose 7,5 %) le dernier bain est une solution de saccharose 7,5 à 12 %, élimination des sels calciques insolubles par traitement au tampon citrate 0,2 M à pH 4,8 pendant 50 minutes ; — lavage dans un bain de solution de saccharose 7,5 à 12 % ; — incubation dans le milieu de Novikoff Goldfischer avec du substrat TPP, à froid pendant 15 heures puis à chaud (37° C) pendant 30 à 60 minutes ; — lavage à froid, par une solution de saccharose 5-12 % ; — post-fixation par l'acide osmique à 1 % dans le tampon phosphate 0,1 M ajusté à pH 7,2 durant 1 heure à froid ; — déshydratation à l'éthanol ; — inclusion à l'Epon 812 selon les techniques habituelles. Les témoins subissent le même traitement, mais leur incubation est faite dans le milieu dépourvu de substrat.

L'observation et la prise des clichés ont été effectuées au microscope électronique A.E.I. 801, à 60 kV.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Dans des travaux antérieurs (OLÁH, 1969, 1970 et 1971) consacrés à l'étude de la morphologie et de l'ultrastructure du *Paecilomyces berlinensis* Oláh et Ackermann, nous avons émis l'hypothèse de l'existence d'un dictyosome simple et nous avons alors proposé un schéma montrant les séquences possibles d'ontogénie de cet organite. Cet appareil de Golgi morphologiquement réduit, s'observe avec une régularité remarquable aussi bien dans le mycélium, dans les différents types de spores que dans la phialide. La première série d'études morphologiques de cet organite cellulaire a été réalisée en utilisant la technique de fixation au glutaraldéhyde-osmium (voir Matériel et Méthodes A).

Nos observations ont permis de constater que la forme en omega Ω est la plus fréquente pour cet organite, bien qu'il ait une très grande souplesse morphologique.

Trois formes fondamentales peuvent être retenues :

a) forme du saccule unique aplati et allongé, avec des vésicules émises aux extrémités. Sa longueur est souvent telle qu'il se confond aisément avec le reticulum endoplasmique lisse (Planche I, figures 2, 3 et 4).

b) forme du saccule unique aplati et court avec des vésicules (Planche I, figures 1 et 4).

c) forme en omega d'un ou plusieurs saccules avec des vésicules aux deux extrémités. Dépendant du plan de coupe, différentes présentations découlant des trois formes de base sont possibles (Planche I, figure 1 ; et Planche II, figures 1, 2, 3 et 4).

Indépendamment de la forme sous laquelle le dictyosome simple se présente, son infrastructure se révèle avec une constance remarquable. Il est délimité par une membrane simple, fort semblable à celle du reticulum endoplasmique. Aussi bien les saccules que les vésicules peuvent être « transparents » ou denses aux électrons. Les saccules sont reliés les uns aux autres par l'intermédiaire de tubules (Planche I, figure 4) présentant la même densité aux électrons que les vésicules. Les premières vésicules, les vg 1, naissent par renflement de l'extrémité des Sg ; les vg suivantes sont émises par bourgeonnement ou étranglement des vg 1. Le nombre des vg est varié d'une à trois, mais il n'est pas rare de trouver des dictyosomes qui possèdent jusqu'à cinq ou six vg consécutives. L'épaisseur des saccules est assez constante, sauf aux extrémités où naissent des vésicules. Dans la partie centrale du Sg, cette épaisseur varie entre 200 et 320 Angström. Le diamètre externe dans la partie médiane du dictyosome simple en forme d'omega varie entre 4 500 et 5 400 angström, tandis que le plus petit diamètre des vésicules varie entre 850 et 1 400 Angström. Chez les autres formes les vg et Sg ont approximativement les mêmes dimensions à l'exception de leur longueur qui peut être variable. Ces mensurations sont légèrement au-dessus de celles de l'appareil de Golgi, observé chez d'autres organismes. La forme des vésicules du dictyosome simple ressemble à celle observée chez les plantes. Ces vésicules sont plus développées vers la face concave, comme chez les végétaux, ainsi que BUVAT (1957) l'a déjà signalé. Les vg présentent la plupart du temps un contenu dense aux électrons, mais cette densité n'est pas homogène, on y trouve une ou plusieurs structures centrales et sphériques bien délimitées, devenant à l'occasion plus contrastées (Planche I, figures 1 et 4). Cette structure garde son intégrité de forme, même quand la membrane des ampoules golgiennes s'est rompue. Notons dès maintenant que cette particule centrale de vg semble avoir un rôle spécifique, tel que les observations cytochimiques nous le laissent présager. Toujours dans la vg et autour de cette particule centrale, on peut déceler l'existence d'une zone réticulée alvéolée (Planche I, figure 1). La membrane de l'appareil de Golgi simple est très mince (20 à 40 Angström) mais tripartite. La continuité de cette membrane est assurée entre les vg jusqu'à la rupture complète de celle-ci (Planche I, figure 4). La membrane entourant les vési-

cules terminales présente des perforations (Planche I, figure 1, et graphique 1).

Lorsque le dictyosome n'est fait que d'un saccule unique aplati et allongé, il n'est pas rare de constater des étranglements réguliers au niveau de la séparation entre les vg. Dans ces cas, un seul reticulum endoplasmique peut donner naissance à de nombreux dictyosomes simples (Planche I, figure 4). Ce processus paraît être clairement différent chez ce champignon confirmant ainsi l'hypothèse de NORTHCOTE (1971) au sujet de la formation de l'appareil de Golgi : « ... les membranes de l'appareil de Golgi se forment à partir du reticulum granuleux qui perd ses granulations et devient enfin les saccules golgiens ». Cette modalité de formation nous paraît probante pour le dictyosome simple avec saccule unique et aplati, allongé ou non, mais ne nous donne pas d'explication sur les raisons qui obligerait les saccules dans cette séquence de formation à se replier et ainsi rapprocher les vg pour engendrer la forme omega. Il nous paraît plus plausible que la forme omega du dictyosome simple proviendrait plutôt du reticulum endoplasmique lisse et circulaire (paraissant hémisphérique en trois dimensions). On remarquera alors les étapes suivantes : formation de l'anneau plus ou moins concentrique du reticulum endoplasmique lisse, dilatation de ces membranes à un endroit déterminé, concentration de matériel au même site, séparation en deux de la ceinture au milieu de cette concentration, qui engendre ainsi les deux premières vésicules vg 1. Un peu plus tard, ces vg s'éloignent les unes des autres ouvrant l'anneau, les vg continuent à éloigner de plus en plus leur partie concave à tel point que celle-ci devient la base du dictyosome en forme d'omega. La multiplication des vésicules se poursuit ensuite sur les deux vg 1. Notons qu'il n'est pas rare de constater le dédoublement de la forme omega du dictyosome simple (Planche II, figures 1, 2 et 3).

Afin de pouvoir élucider davantage le comportement et le rôle que joue le dictyosome simple, nous avons appliqué à notre matériel la méthode de Thiéry. La technique (B) (voir Matériel et Méthodes) est utilisée pour identifier et localiser les substances de nature polysaccharidique (THIÉRY, 1969). La rupture de la chaîne polysaccharidique est obtenue par l'oxydation ménagée due à l'acide périodique qui conduit à la formation de chaînes plus courtes à fonction aldéhydique. Ces fonctions seront occupées par des groupes thio (thiocarbohydrazide) qui réagissent avec le protéinate d'argent pour former des précipités denses aux électrons. Ce procédé nous a permis de localiser ces substances au niveau du dictyosome simple.

Les particules centrales sphériques qui sont logées dans les vg réagissent positivement à la méthode cytochimique de THIÉRY (Planche III, figures 1

et 2). La concentration importante et la localisation des substances de nature polysaccharidique à ce site révèlent un comportement de ces vésicules identique à celui des autres appareils de Golgi, comme cela a été signalé par plusieurs auteurs (COULOMB et COULON, 1971 ; NORTHCOTE, 1971 ; ROLAND et SANDOZ, 1969). Ce contenu granuleux et dense aux électrons n'apparaît pas dans toutes les vg. La membrane du dictyosome présente une réaction positive avec une distribution uniforme des précipités. Il existe également un grand nombre de vg positives, qui se dirigent vers la paroi et se logent entre celle-ci et la membrane plasmique. Ces vésicules sont la plupart du temps volumineuses et possèdent une concentration importante de polysaccharides. Le matériel de base de la construction de la paroi sera transporté par les vg. Ceci confirmerait donc un des rôles du dictyosome simple : le transfert de matériel dans la cellule (Planche III, figure 3).

Dans le but de pouvoir élucider davantage le comportement du dictyosome simple, nous avons appliqué également à notre matériel la technique de la coloration morphologique de Gomori (SWIFT, 1967) (C) (voir Matériel et Méthodes). Cette technique met en évidence la localisation des protéines qui contiennent la cystine. L'hexaméthylène tétramine et le nitrate d'argent à pH 9,2 durant un temps d'incubation ne dépassant pas 60 minutes et à une température de 45° C, permettent la formation de particules métalliques d'argent denses aux électrons. L'augmentation des paramètres engendre la formation de particules de plus en plus grandes, mais pour certaines valeurs de ces paramètres, cette technique permet de démontrer la répartition qualitative de la cystine dans l'infrastructure du dictyosome et de la cellule (Planche IV, figures 1, 2, 3, 4 et 5 ; Planche V, figures 3 et 4).

Par ce processus on peut constater que les protéines avec les ponts S-S, sont bien délimitées dans les vg., mais les précipités n'occupent pas nécessairement le même espace que celui révélé par la réaction de Thiéry.

Les Sg et les vg sont positives en même temps que la membrane entourant l'appareil de Golgi. On note cependant une intensité plus grande dans les vg et à proximité immédiate des Sg. La concentration de ces protéines peut être différente d'une Sg à l'autre (Planche IV, figure 4). A 60 minutes d'incubation, la formation des particules métalliques est encore uniforme et demeurera à un niveau acceptable (Planche V, figures 1 et 2). Il est admis en général que la cystine est très importante au point de vue biologique et qu'elle participe à des synthèses essentielles. Les groupes sulfhydryles seront impliqués dans la perméabilité des membranes pour les cations. La transformation réversible de la cystéine en cystine, s'effectue aisément dans la cellule. La cystéine participe à l'approvisionnement en groupes SH de la paroi cellulaire chez des champignons levuriformes (BURNETT, 1969), et peut être

partiellement responsable du dimorphisme de *Candida albicans*. Ce même auteur souligne que dans la zone de croissance (sommet de l'hyphe, spore en germination, etc.) la quantité des protéines riches en groupe SH est plus importante puisque cet acide aminé joue un rôle important dans le processus de la croissance. On constate une forte concentration de ces protéines dans le tube germinatif des macroconidies du *P. berlinensis* (Planche V, figure 1). Bien que la discussion sur le rôle de la cystéine et de la cystine dans le métabolisme des organismes fongiques ne soit pas le but de ce travail, il nous est possible néanmoins de souligner la distribution de ces protéines dans l'hyphe et dans les spores de *P. berlinensis* (Planche V, figures 1 et 2). La paroi mycélienne répond d'une façon très positive en présentant une structure linéaire avec de très fines granulations du côté externe, et des granulations de plus en plus grandes vers la membrane plasmique. A l'extérieur de la paroi, l'exsudation réagit violemment à cette coloration cytochimique. Nous trouvons dans cette réaction un résultat complémentaire à celui que nous avons obtenu avec la réaction de Thiéry sur les mêmes éléments anatomiques (OLAH, 1972). La zone de mucilage zm, qui entoure les spores, l'hyphe et la phialide est caractérisée par une présence plus faible en substances de nature polysaccharidique qu'en protéines contenant de la cystine. Entre l'exsudation zm et la zone de mucilage d'apparence striée zms, par la technique de Thiéry, se situe une zone de mucilage fibrillé zmf. Cette dernière ne répond pas à la coloration des protéines ; on y trouve un espace « transparent » sans précipité. Ceci nous oblige à conclure que la zmf est constituée chez le *P. berlinensis* par des substances de nature polysaccharidique et exempte de protéines à pont S-S tandis que la zone est de nature polysaccharidique avec une teneur en protéines à pont S-S relativement faible en comparaison avec la zone zm où les protéines à pont S-S priment sur les polysaccharides.

Les structures membranaires du noyau mn, des mitochondries m, du reticulum endoplasmique RE, et du tonoplaste T, sont faiblement positives à cette technique en même temps que le contour des gouttelettes lipidiques L. Le nucléole nu, ainsi que certains sites dans la cellule (*), présentent une accumulation plus importante de cystine (Planche V, figures 1 et 2). Il est donc possible que les vg de l'appareil de Golgi « simple » soient un des sites d'emmagasinement et en même temps un moyen de transport des protéines qui contiennent de la cystine.

Le rôle et l'importance de l'activité phosphatasique acide au sein des vésicules golgiennes ont été le sujet de nombreuses études : POUX (1970), CATESSON et CZANINSKI (1968), COULOMB (1969 et 1971), et autres. Les résultats de ces travaux attribuent aux vésicules golgiennes une activité phosphatasique positive, mais l'intensité de cette activité dépend des besoins

momentanés de la cellule (COULOMB et COULON, 1971). Parallèlement aux autres fonctions existantes (transport des substances de nature polysaccharidique) certaines vésicules golgiennes vont transporter des hydrolases agissant à pH acide, qui participeront dans la formation du système lysosomal. Cette activité peut être détectée grâce à la présence de précipités denses aux électrons, provenant de la réaction entre les phosphatases libérées par l'activité enzymatique et le nitrate de plomb contenu dans le milieu d'incubation. Par cette technique cytochimique, nous avons étudié l'activité phosphatase acide du dictyosome simple (D) (voir Matériel et Méthodes).

Cette activité se situe dans les vésicules, rarement dans les saccules, et sur la membrane de la Sg (Planche VI, figures 2 et 3) (*). Des réactions plus fortement positives ne se signalent que sur les vg près des vacuoles ou dans la formation du système lysosomal (Planche VI, figure 5).

Pour la localisation de l'activité enzymatique neutre (E) (voir Matériel et Méthodes), nous avons utilisé comme substrat la thiamine-pyrophosphate TPP. Les précipités de plomb qui caractérisent cette activité se localisent surtout sur la membrane externe des Sg et des vg, rarement dans les vésicules (Planche VI, figures 1 et 4). Le tonoplaste des vacuoles autophagiques est également marqué par les précipités de plomb (Planche VI, figures 6 et 7). Des vésicules d'origine golgienne de petite taille, sont nombreuses dans les vacuoles situées près de la paroi. Ces vg sont marquées à l'intérieur par des précipités (Planche VI, figure 6). Les vésicules de l'appareil de Golgi simple peuvent être situées entre la paroi et la membrane plasmique. Les précipités de plomb dans ce cas se trouvent localisés sur le Sg et surtout dans les vg (Planche VII, figure 1 traitée et figure 2 non-traitée). Le dictyosome véhicule à ce lieu des enzymes phosphatasiques neutres. Cette enclave qui accueille les vg de ces organites est issue des lomasomes lobés (Planche VII, figure 3).

CONCLUSION

A l'aide des différentes techniques cytochimiques, nous avons pu localiser l'activité enzymatique spécifique caractérisant les fonctions golgiennes et étudier la morphologie de cet organite. Il s'agit d'un fait nouveau, apportant l'éclaircissement d'une part sur l'existence d'un appareil de Golgi morphologiquement différent et plus réduit que tous ceux observés chez d'autres organismes fongiques, végétaux ou animaux. D'autre part nos résultats permettent d'appuyer l'hypothèse selon laquelle l'appareil de Golgi serait originaire du reticulum endoplasmique lisse. Il se révèle également que les

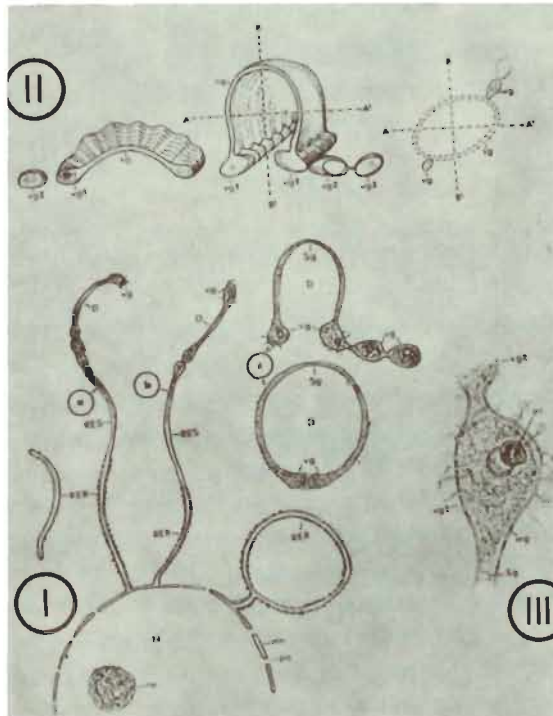
vésicules golgiennes sont munies de pores dans leur membrane et sont pourvues d'une infrastructure spécifique : le « corps central ». Cet élément démontre une activité enzymatique accrue. Même si la structure du « dictyosome simple » est réduite par rapport aux autres dictyosomes, sa taille légèrement plus grande, peut lui conférer une surface sensiblement identique. A la lumière de nos résultats, il nous est possible d'affirmer, que le « dictyosome simple » du *Paecilomyces berlinensis* Oláh et Ackermann, fonctionne sur le même principe de base que les autres types d'appareil de Golgi.

REMERCIEMENTS

L'auteur tient à remercier Mme DESBIENS-LAVOIE, préposée au microscope électronique, et M. Chs-André CHAMBERLAND, technicien au laboratoire de Mycologie, pour leur précieuse collaboration.

ABREVIATIONS UTILISEES DANS LE TEXTE, GRAPHIQUE ET LES PLANCHES

(*)	précipitation
D	dictyosome simple
g	germination
L	lipide ou emplacement lipidique
l	lobe d'origine de membrane plasmique
Ly	lysosome
m	mitochondrie
mg	membrane golgienne
mn	membrane nucléaire
mp	membrane plasmique (plasmalemma)
N	noyau
nu	nucléole
P	paroi
pc	particule centrale sphérique
po	pores de la membrane nucléaire ou de la membrane golgienne
r	structure réticulée dans les vésicules
RES	reticulum endoplasmique lisse
RER	reticulum endoplasmique granuleux
s	septation
Sg	sacculé du dictyosome simple
t	tube reliant les vésicules
T	tonoplaste
V	vacuole
vg, vg 1 et vg (n)	vésicules golgiennes
zm	zone de mucilage lâche
zmf	zone de mucilage fibrillé
zms	zone de mucilage strié



GRAPHIQUE I

Schéma illustrant les séquences possibles d'ontogénie du dictyosome simple observées chez le champignon *P. berlinensis*.

I. — Formation du dictyosome à partir du reticulum endoplasmique lisse et allongé (a) et (b), ainsi que la formation du dictyosome à partir du reticulum endoplasmique lisse et circulaire (c).

II. — Coupe dans le plan A-A' et B-B' des dictyosomes.

III. — Interprétation de l'infrastructure d'une vésicule montrant une particule centrale sphérique délimitée et des perforations dans la membrane golgienne.

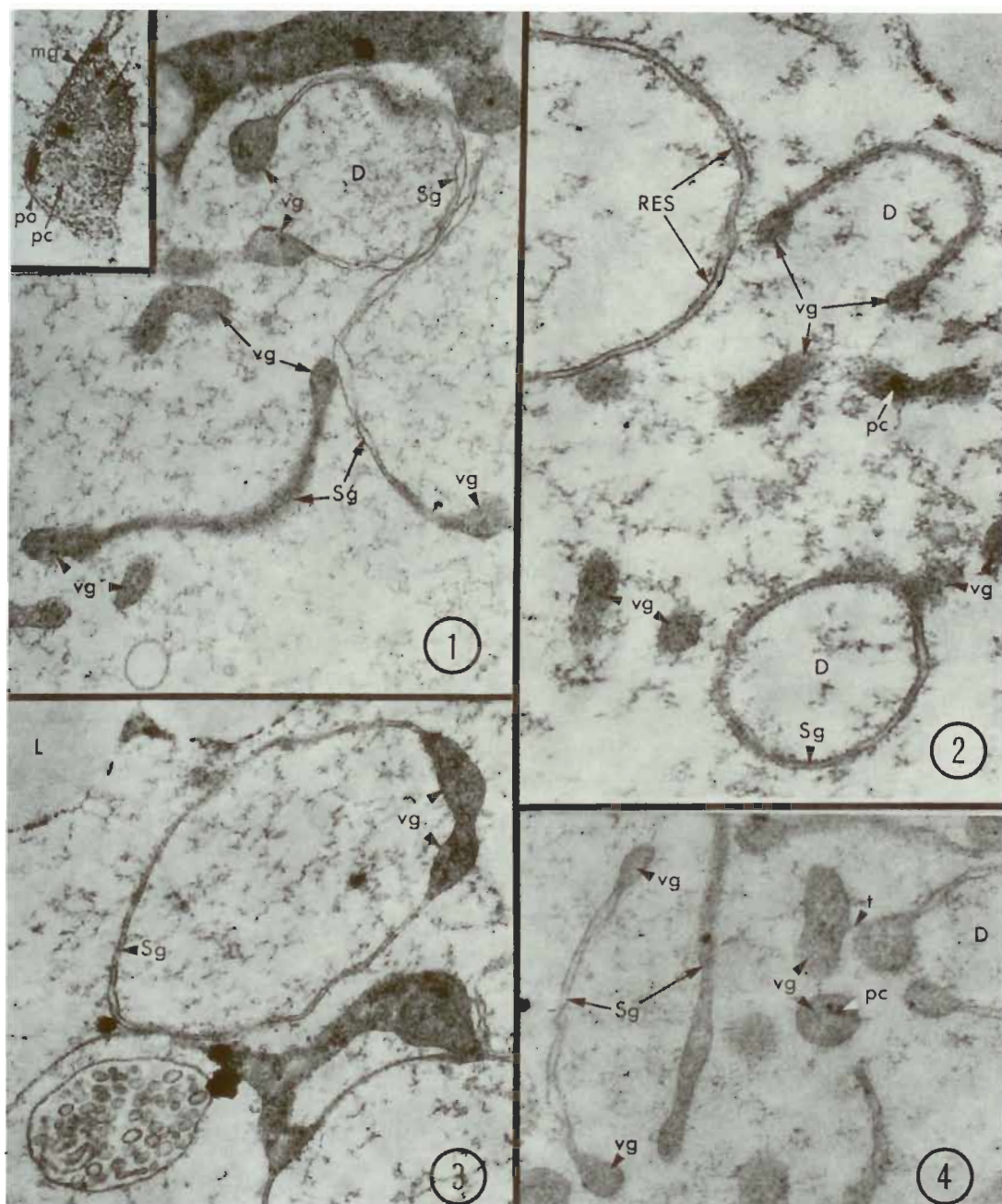


PLANCHE I

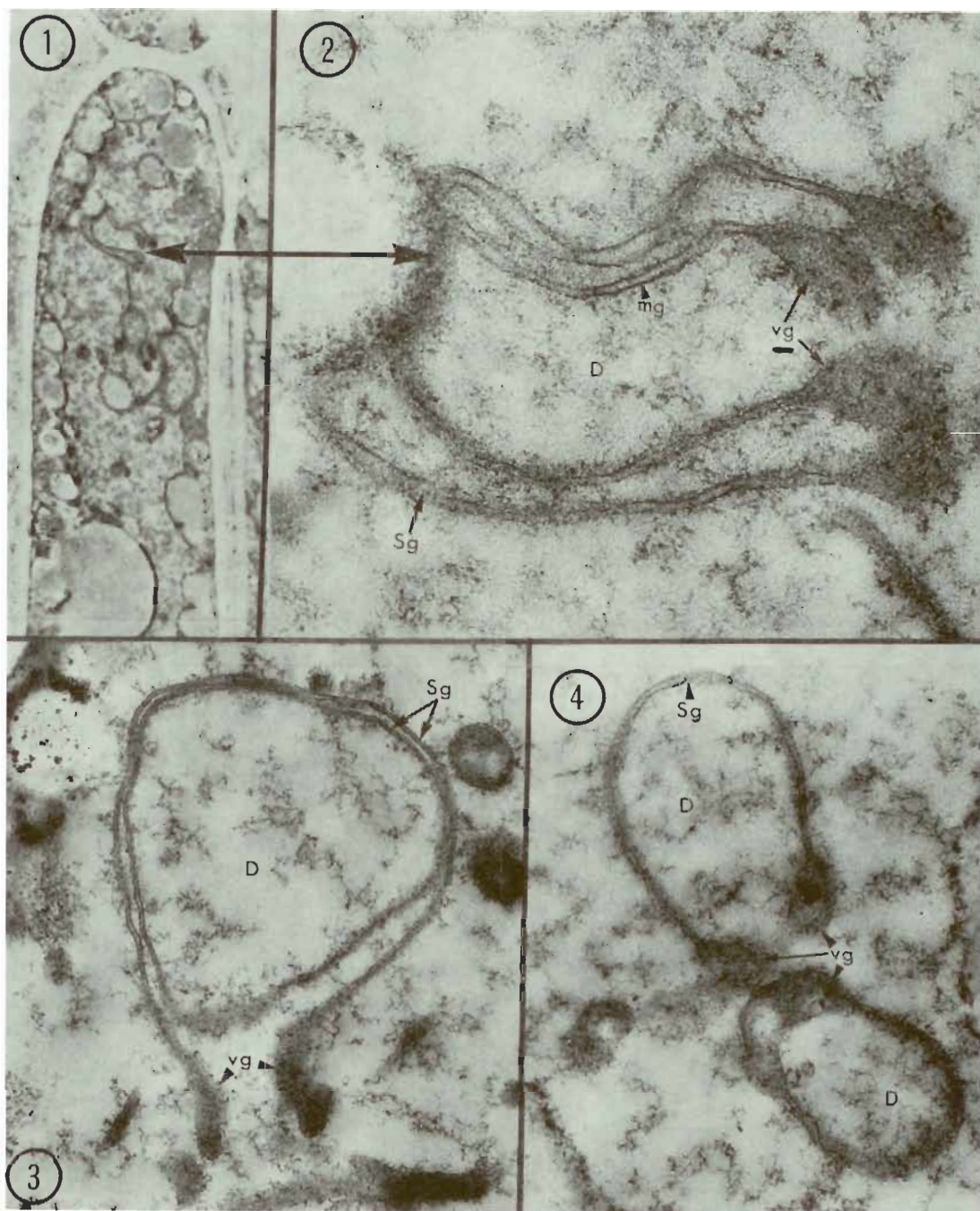


PLANCHE II

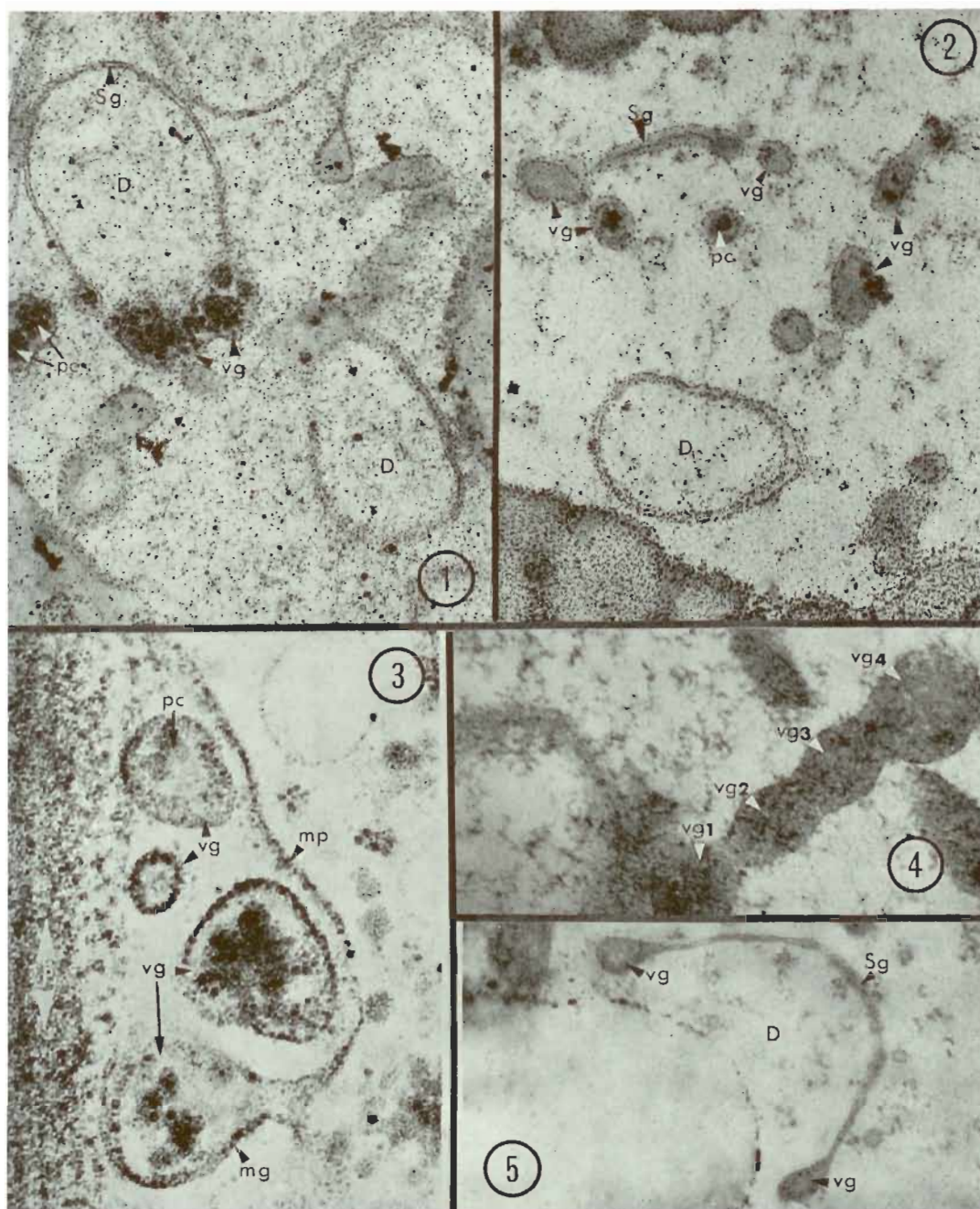


PLANCHE III

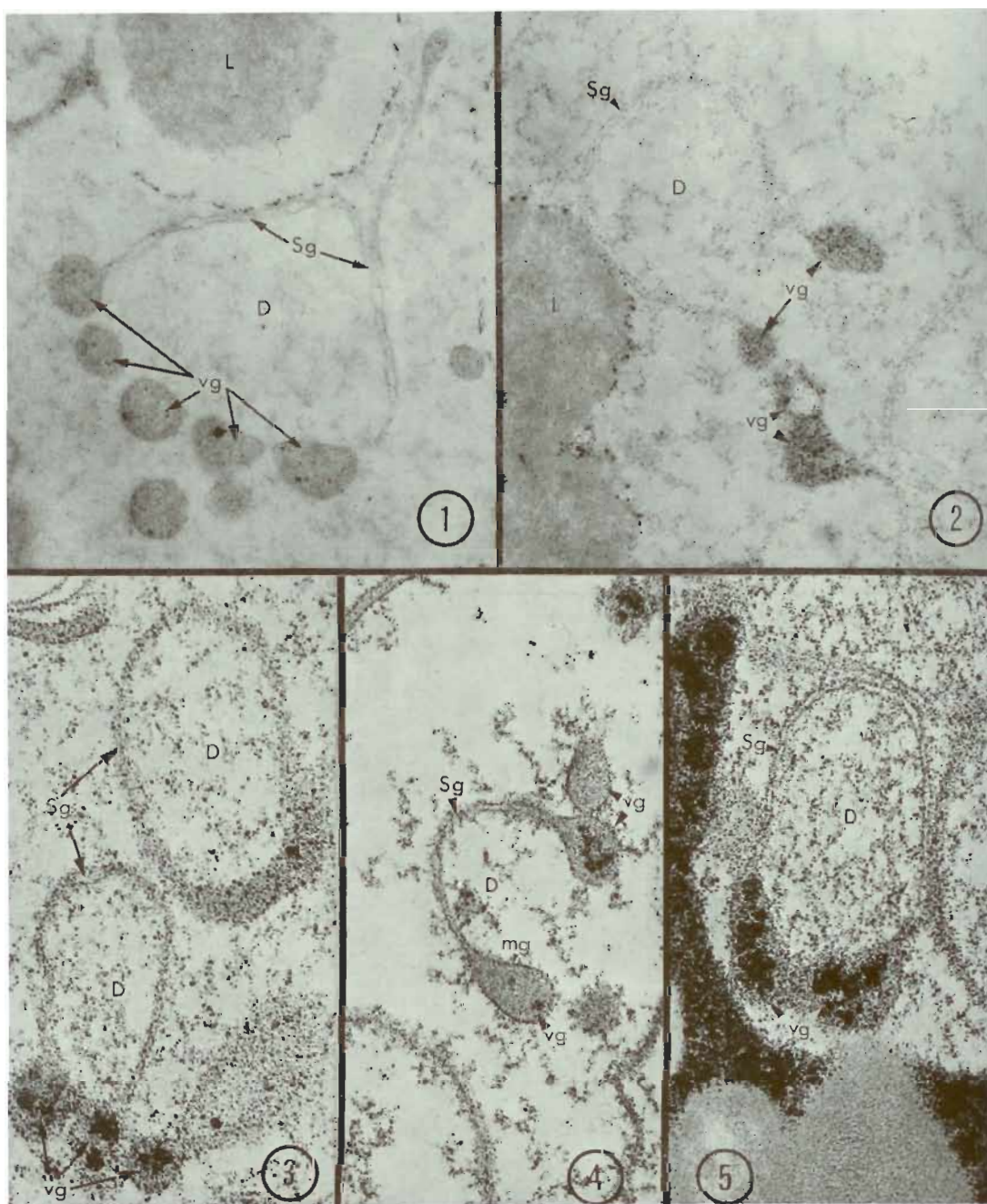


PLANCHE IV

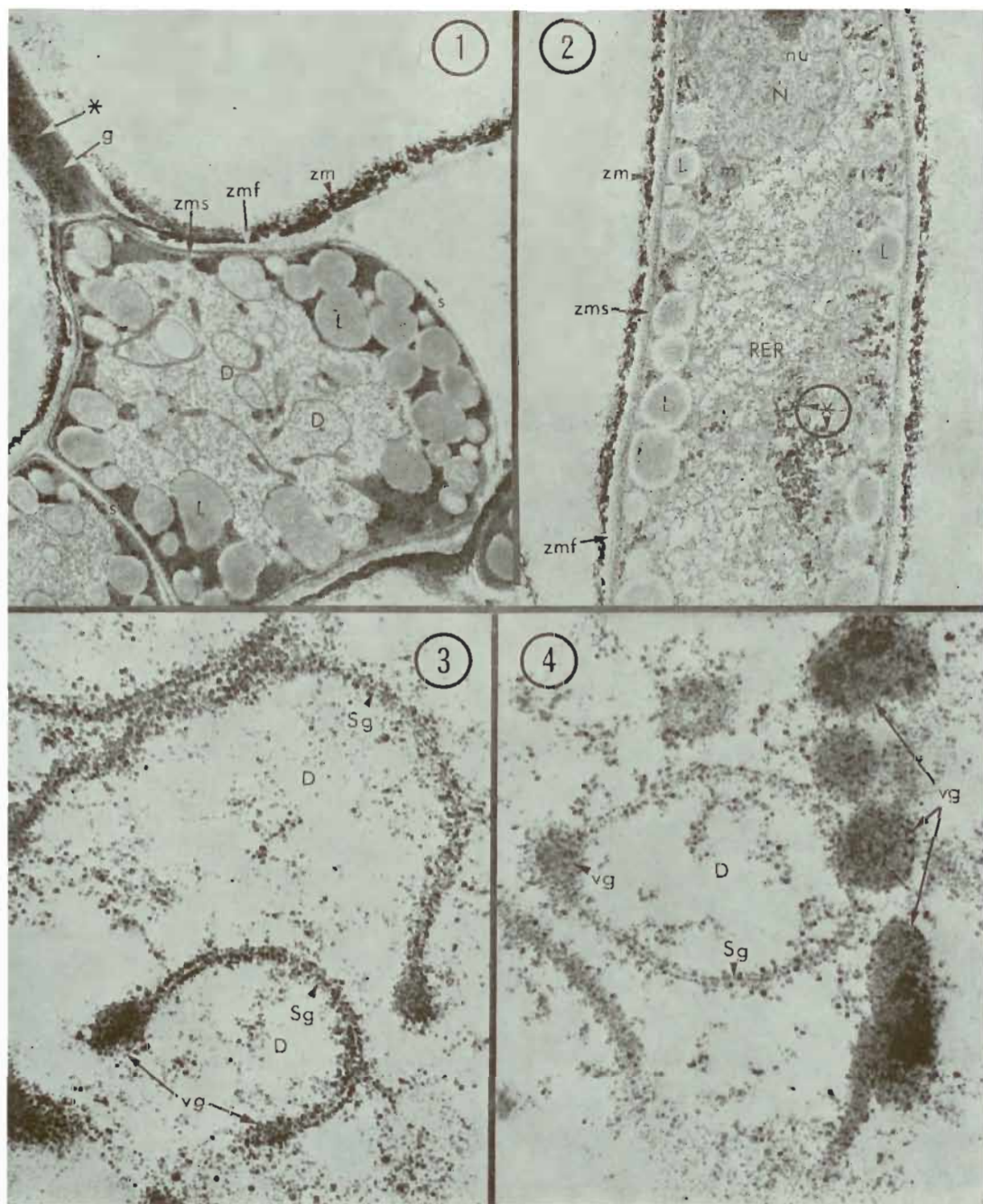


PLANCHE V

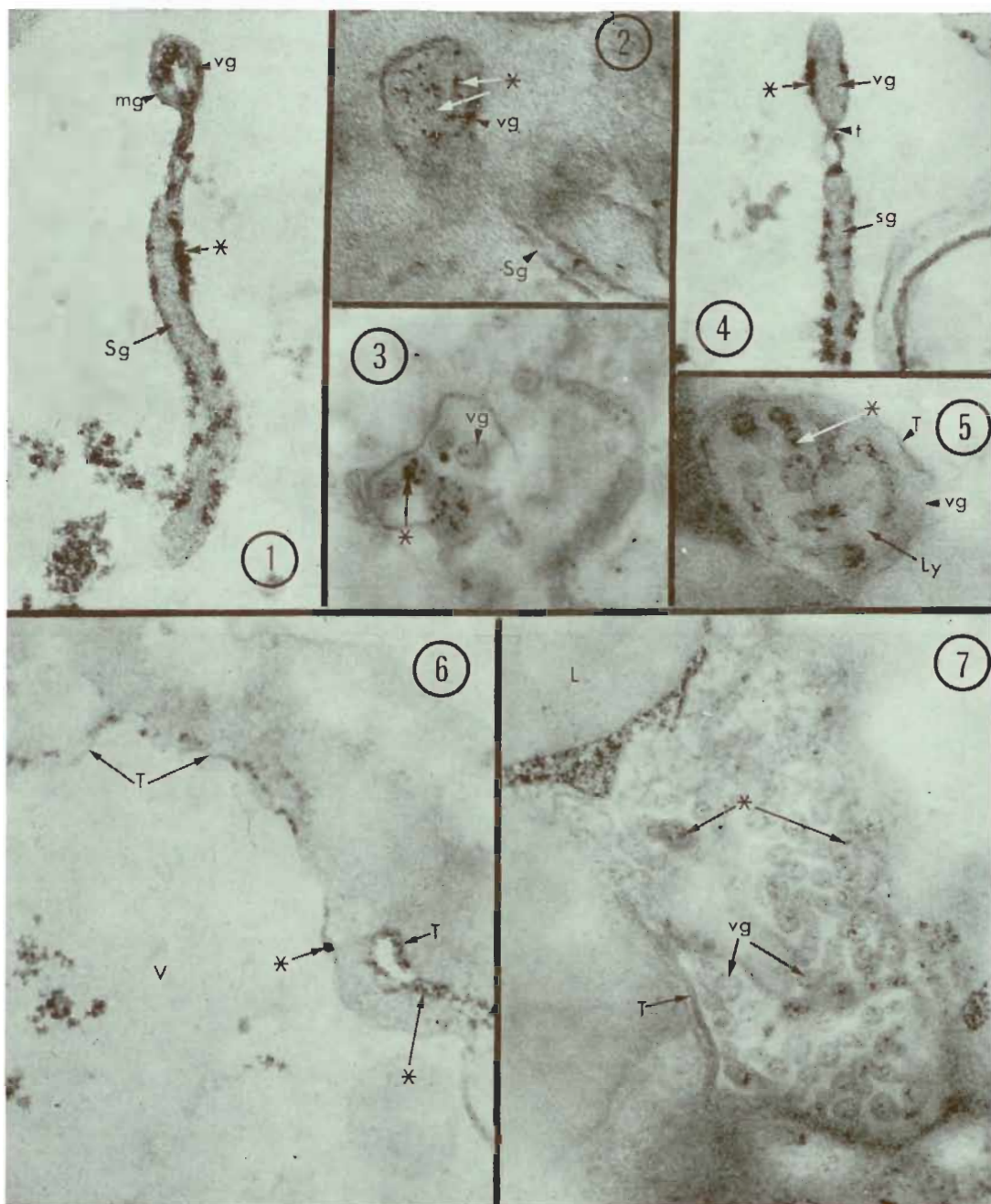


PLANCHE VI

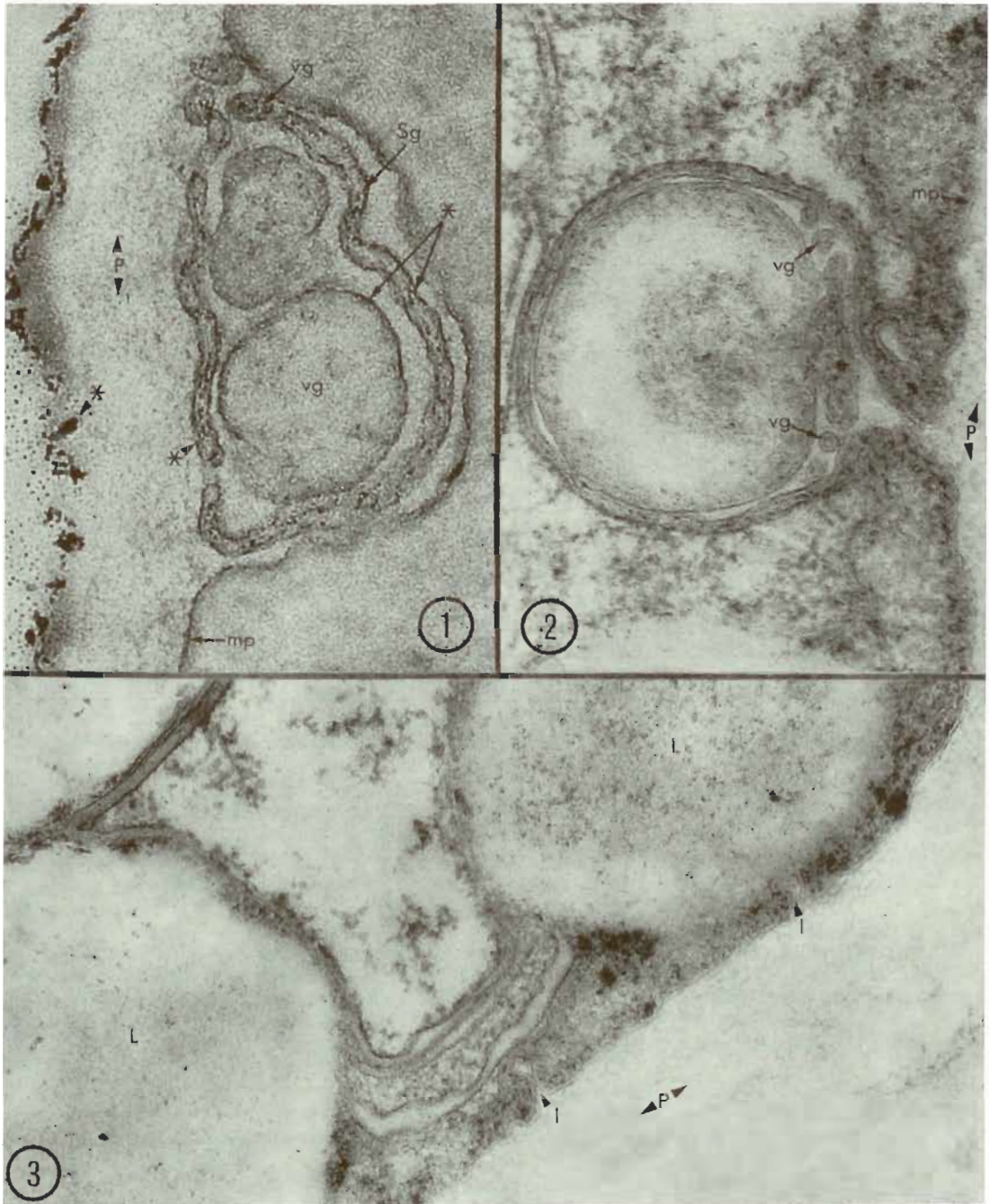


PLANCHE VII

PLANCHE I

Figure 1 : Dictyosome simple en forme d'omega et en forme de saccule unique court et aplati dans une spore septée. Noter la présence de la particule centrale sphérique pc, la structure réticulée r, dans les vésicules vg. Technique (A), grossissement : 40 000 ×.

Figure 2 : Idem à la figure 1, mais dans une hyphe mycélienne Technique (A), grossissement : 40 000 ×.

Figure 3 : Formation du dictyosome simple en omega à partir du reticulum endoplasmique lisse et circulaire R.E.S. dans une hyphe mycélienne. Technique (A), grossissement : 40 000 ×.

Figure 4 : Formation du dictyosome simple aplati et allongé à partir du reticulum endoplasmique R.E.S. lisse. Noter la présence de tubule t, reliant le vg 1 du dictyosome en forme d'omega au vg 2. Technique (A), grossissement : 25 000 ×.

PLANCHE II

Figure 1 : Dictyosome simple dans le mycélium. Technique (A), grossissement.

Figure 2 : Idem à figure 1, mais plus fort grossissement : 25 000 ×.

Figures 3 et 4 : Vue différente des dictyosomes. Technique (A), grossissement : 25 000 × et 16 000 ×.

PLANCHE III

Figure 1 : Coupe transversale d'un dictyosome simple dans le mycélium. Emission des vésicules vg 1 et vg 2. Les précipités sont fortement concentrés sur les particules centrales dans les vésicules. Technique (B), mettant en évidence des substances de nature polysaccharidique. Grossissement : 20 000 ×.

Figure 2 : Vue différente du même organe que figure 1. Technique (B), grossissement : 20 000 ×.

Figure 3 : Dans le mycélium, les dictyosomes produisent de grosses vésicules vg, chargées de substances de nature polysaccharidique. Les précipités sont fortement concentrés sur les particules sphériques de vg. Ces vésicules se trouvent entre le plasmalemme pm, et la paroi. Technique (B), grossissement : 63 000 ×.

Figure 4 : Dictyosome simple dans la spore. Technique (B), grossissement : 25 000 ×.

Figure 5 : Formation des vésicules par étranglement. Technique (B), grossissement : 40 000 ×.

PLANCHE IV

Figures 1, 2, 3, 4 et 5 : Localisation des protéines avec le pont S.-S. au niveau du dictyosome. Précipitation des particules métalliques très faible après 30 secondes et 15 minutes d'incubation, figures 1 et 2. Figures 3, 4 et 5, incubation 60 minutes, révèle une localisation spécifique de cette substance. Technique (C), grossissement : figures 1 et 2 : 16 000 × ; figures 3 et 4 : 40 000 × ; figure 5 : 25 000 ×.

PLANCHE V

Figure 1 : Répartition qualitative de la cystine dans la macroconidie. Incubation 60 minutes. Technique (C), grossissement : 6 000 ×.

Figure 2 : Idem à la figure 1, mais dans l'hyphe. Grossissement : 6 000 ×.

Figures 3 et 4 : Incubation trop prolongée (75 minutes), la localisation des particules n'est plus spécifique. Technique (C), grossissement : 40 000 ×.

PLANCHE VI

Figures 1 et 4 : Localisation de l'activité phosphatasique neutre T.P.P. sur l'extrémité des saccules et des vésicules du dictyosome simple. Technique (E) grossissement : 100 000 ×.

Figures 2 et 3 : Phosphatase acide dans les spores, les saccules et surtout les vésicules y sont marqués. Technique (D), grossissement : 63 000 ×.

Figure 5 : Début de la formation du lysosome mise en évidence par la phosphatase acide, les précipités sont localisés dans les vésicules. Technique (D), grossissement : 63 000 ×.

Figures 6 et 7 : Agglomération des vésicules d'origine golgienne et formation de vacuole autophagique dans une macroconidie, révélées par l'activité phosphatasique neutre. Technique (E), grossissement : 63 000 ×.

PLANCHE VII

Figure 1 : Localisation des éléments d'origine golgienne près de la paroi. Activité phosphatasique neutre T.P.P. Technique (E).

Figure 2 : Idem à la figure 1, mais non traité. Grossissement : 63 000 ×.

Figure 3 : Début de la formation de l'enclave qui accueille les vésicules de ces organites. Technique (A), grossissement : 40 000 ×.

BIBLIOGRAPHIE

- ALDRICH H. C., 1966. — A study of the ultrastructural details of morphogenesis in the myxomycete *Physarum flavicomum*. Ph. D. Dissertation, Univ. of Texas et Austin.
- BURNETT J. E., 1968. — Fundamentals of Mycology. Edward Arnold. Publ. London, 546 p.
- BUVAT R., 1969. — La cellule végétale. L'Univers des Connaissances, Hachette, 253 p.
- CATESSON A.-M. et Y. CZANINSKI, 1968. — Localisation ultrastructurale de la phosphatase acide et cycle saisonnier dans les tissus conducteurs de quelques arbres. Bull. Soc. Fr. Physiol. Végét., 14 : 149-164.
- COULOMB P., 1969. — Mise en évidence de structures analogues aux lysosomes dans le méristème racinaire de la courge (*Cucurbita pepo* L. Cucurbitacée). J. Microscopie, 8, 123-138.
- COULOMB P. et J. COULON, 1971. — Fonctions de l'appareil de Golgi dans les méristèmes racinaires de la courge (*Cucurbita pepo* L. Cucurbitacée). J. Microscopie, 10 : 203-214.
- GROVE S. N., C. E. BRACKER et D. J. MORRE, 1968. — Cytomembrane Differentiation in the Endoplasmic Reticulum-Golgi Apparatur-Vesicule Complex. Science, 161 : 171-173.
- MCLAUGHLIN D. Y., 1972. — Golgi Apparatus in the Postmeiotic Basidium of *Coprinus lagopus*. J. Bacteriol., 119 : 739-742.
- McMANUS Sister M. A., 1965. — Ultrastructure of myxomycete plasmodia of various types. An. Jour. Bot., 52 : 15-25.
- NORTHCOTE D. H., 1971. — L'appareil de Golgi. Endeavour, 39 : 26-33.
- NORTHCOTE D. H. et J. D. PICKETT-HEAPS, 1966. — A function on the Golgi apparatus in polysaccharide synthesis and transport in the root cap cells of wheat. Biochem. J., 98 : 159-167.
- OLÁH G.-M., 1970. — Présence vraisemblable de dictyosome simple dans le mycélium de *Paecilomyces berlinensis* Oláh et Ackermann. C. R. Acad. Sci. Ser. D., Sci. Nat. (Paris), 271 : 1504-1507.

- OLÁH G.-M., 1971. — Présence vraisemblable de dictyosome simple dans le mycélium de *Paecilomyces berlinensis* et particularités ultrastructurales de cette espèce. Communication présentée au 39^e Congrès de l'A.C.F.A.S. (Assoc. Can. Fr. Av. sci.), Sherbrooke.
- OLÁH G.-M. et H. W. ACKERMANN, 1969. — Une nouvelle espèce de *Paecilomyces*. Bull. Soc. Mycol. Fr., 85 : 493-502.
- POUX N., 1970. — Localisation d'activités enzymatiques dans le méristème racinaire de *Cucumis sativus* L. III. Activité phosphatasique acide. J. Microscopie 9 : 407-434.
- ROLAND J.-C. et D. SANDOZ, 1969. — Détection cytochimique des sites de formation des polysaccharides prémembranaires dans la cellule végétale. J. Microscopique, 8 : 263-268.
- SWIFT J. A., 1967. — The electron histochemistry of cysteinecontaining proteins in thin transvers section of human hair. J. R. Micr. Soc., 88 : 449-460.
- THIÉRY J.-P., 1969. — Rôle de l'appareil de Golgi dans la synthèse des mucopolysaccharides. Etude cytochimique. I. Mise en évidence de mucopolysaccharides dans les vésicules de transition entre l'ergastoplasme et l'appareil de Golgi. J. Microscopie, 6 : 689-708.
- OLÁH G.-M., 1972. — L'ontogénie sporale et l'ultrastructure de la paroi chez *Paecilomyces berlinensis*. Can. J. Microbiol., 18 : 1471-1475.

Laboratoire de Mycologie et de Microscopie Electronique,
Faculté des Sciences de l'Agriculture
et de l'Alimentation - Phytotechnie,

Université Laval,
Cité Universitaire,
Québec 10^e (Canada).

SOCIETE LINNEENNE DE LYON
33, RUE BOSSUET — 69006 LYON

Commission paritaire n° 52 199
Le gérant : Marc Terreaux