

COMPTES RENDUS
HEBDOMADAIRES
DES SÉANCES
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES

PUBLIÉS

CONFORMÉMENT A UNE DÉCISION DE L'ACADÉMIE

EN DATE DU 13 JUILLET 1835

PAR MM. LES SECRÉTAIRES PERPÉTUELS

AVEC LE CONCOURS

DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

TOME DEUX CENT SOIXANTE-DOUZIÈME

SÉRIE D : SCIENCES NATURELLES

PREMIÈRE PARTIE : JANVIER-FÉVRIER 1971

PARIS
GAUTHIER-VILLARS ÉDITEUR

1971

MYCOLOGIE. — *Influence de doses optimales et sous-optimales de biotine sur le métabolisme de l'Hypomyces chlorinus Tul. Evolution des quantités d'azote soluble dans les mycéliums et les filtrats de culture, au cours du développement.*
Note (*) de M. Charles Gontier et M^{me} Jane-Marie Touzé-Soulet, transmise par M. René Morquer.

Une concentration sous-optimale de biotine dans le milieu de culture de l'*H. chlorinus* entraîne un rejet important d'azote soluble dans le filtrat, concomitant d'une diminution des quantités intracellulaires. Ceci pourrait s'expliquer par une altération de la perméabilité de la membrane cellulaire sous l'effet de la carence en biotine.

L'*Hypomyces chlorinus* Tul. Nectriacée fongicole, se développe en parasite sur l'hyménium de *Boletus edulis* Fr. ex Bull. Un travail antérieur ⁽¹⁾ a montré la déficience de cet organisme en biotine.

La comparaison du métabolisme de cette espèce avec celui d'une espèce voisine non déficiente en biotine, se développant saprophytiquement sur le même hôte, avait mis en évidence que l'apport exogène de quantités suffisantes de substances de croissance rendait semblables leurs modes d'utilisation des sources carbonée et azotée, mais ne permettait pas à l'espèce parasite la réalisation d'un pouvoir de synthèse équivalent à celui de l'espèce saprophyte ⁽²⁾.

Poursuivant ces recherches, nous avons étudié l'influence de doses optimales et sous-optimales de biotine sur le métabolisme du parasite. Nous rapportons ici les résultats concernant l'évolution des quantités d'azote soluble dans les mycéliums et les filtrats de culture en fonction des concentrations en biotine retenues et du temps de culture.

Les conditions de culture ont été indiquées antérieurement ⁽¹⁾. Les doses de biotine fournies sont de 0,1, 10 et 20 µg/l. Au bout de 7, 14 et 21 jours de développement, l'azote est dosé après minéralisation, par le réactif de Nessler, dans les filtrats de culture et dans les extraits hydroalcooliques des mycéliums, après passage de ceux-ci sur résine cationique. Les extractions sont réalisées par l'éthanol à 70 % bouillant. La source azotée exogène étant le NaNO₃, l'azote dosé provient essentiellement des acides aminés libres et pour une faible part de petits peptides et de l'ammoniaque libre.

RÉSULTATS. — Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau suivant.

Si l'on considère les valeurs obtenues pour chaque fiole de culture, valeurs relatives à 100 ml de milieu nutritif, on constate :

— que le développement mycélien reste très faible en milieu pauvre en biotine et que, en conséquence, la quantité d'azote dosée dans le mycélium est très inférieure à celle formée sur les deux autres milieux ;

— que dans les filtrats de culture, par contre, les quantités d'azote dosé en présence de 0,1 µg/l de biotine sont tout à fait comparables si ce n'est supérieures à celles des milieux comportant 10 et 20 µg/l de ce facteur de croissance.

Le milieu de culture ne comportant à l'origine que de l'azote minéral (NaNO₃), l'azote organique dosé provient du métabolisme mycélien. Or la quantité de mycé-

TABLEAU

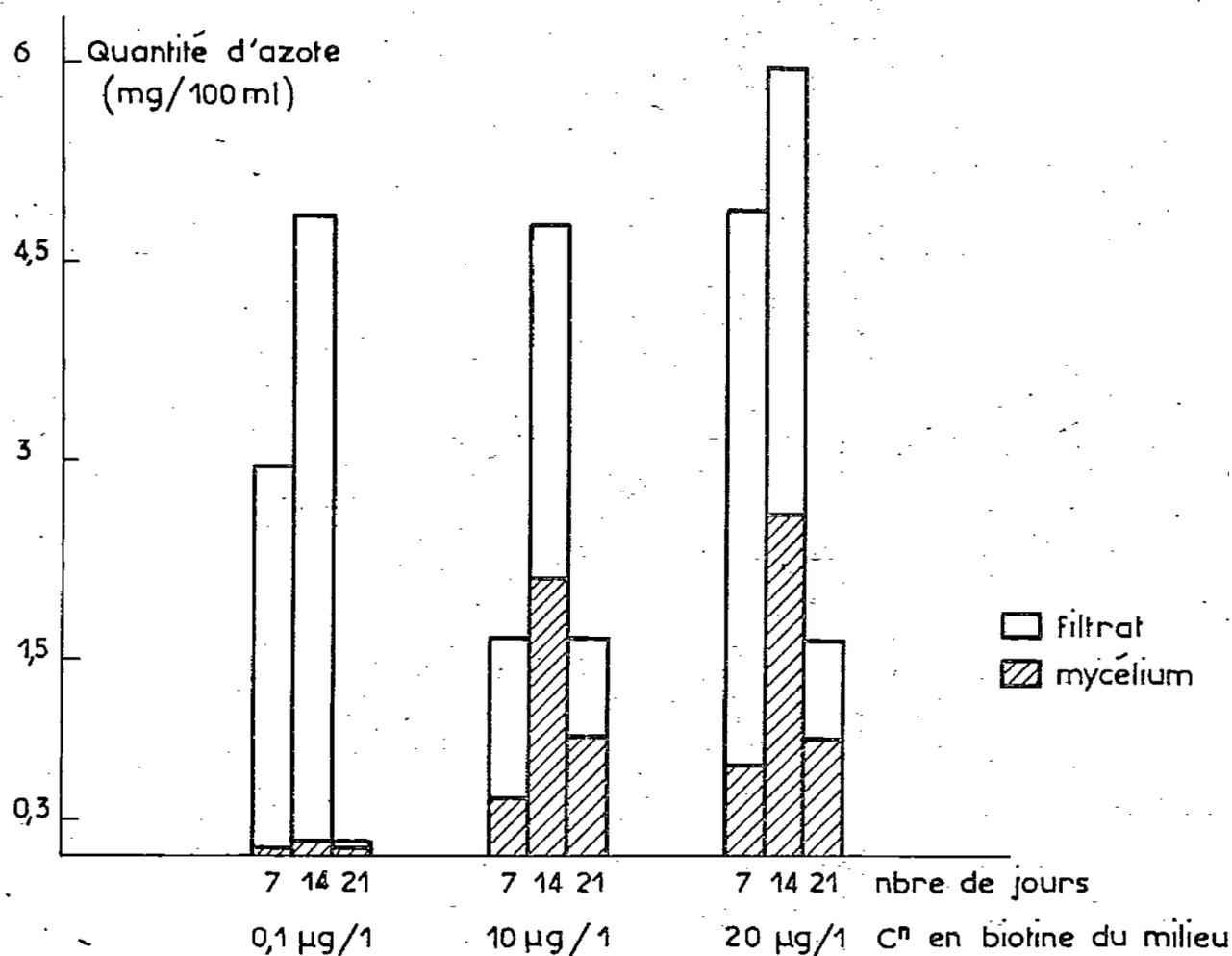
C ^{on} en biotine	Nombre de jours	Poids myc. sec mg/100 ml de milieu	Q. d'azote dosé dans le mycélium		Q. d'azote dosé dans le filtrat	
			<i>m</i>	<i>m'</i>	<i>f</i>	<i>f'</i>
0,1 µg/l	7	3,0	0,01	0,53	2,92	96,32
	14	3,9	0,02	0,56	4,80	123
	21	6,2	0,03	0,62	0,04	6,45
10 µg/l	7	80,7	0,46	0,56	1,17	1,44
	14	177,6	2,11	1,20	2,66	1,50
	21	217,3	0,98	0,45	0,62	0,28
20 µg/l	7	88,7	0,70	0,80	4,17	4,70
	14	246,6	2,61	1,06	3,33	1,35
	21	271,5	0,98	0,36	0,60	0,20

m, en milligrammes pour la quantité de mycélium récoltée sur 100 ml de milieu.

m', en milligrammes pour 100 mg de mycélium sec.

f, en milligrammes pour 100 ml de filtrat.

f', quantité en milligrammes que rejetteraient 100 mg de mycélium sec.



Evolution des quantités d'azote dosé dans les mycéliums et les filtrats de culture, en fonction du temps et de la concentration en biotine du milieu

lium produite dans ces conditions est très faible. En conséquence, si l'on évalue les quantités d'azote rejetées dans le filtrat par une même masse de mycélium (soit 100 mg de substance sèche), on constate qu'en milieu carencé en biotine, ces quantités sont relativement très élevées.

Nous avons représenté dans le schéma l'évolution quantitative des formes d'azote soluble dosées dans les mycéliums et les filtrats de culture, en fonction du temps et de la concentration en biotine du milieu.

Au début de la croissance (7 jours), période de synthèse active, les quantités d'azote trouvées dans 100 ml de filtrat sont importantes, comparées à celles contenues dans le mycélium. Cette importance est considérable dans le cas du milieu comportant une dose sous-optimale de biotine, surtout si l'on tient compte de la faible masse mycélienne formée.

La somme de l'azote intra et extracellulaire dosé augmente au cours du développement. Mais, si dans les milieux à 10 et 20 µg/l de biotine, les quantités d'azote se répartissent d'une façon à peu près équivalente entre le mycélium et le filtrat (55-56 % dans les filtrats de 14 jours), il n'en est pas de même en milieu carencé en biotine ; dans ce cas, la proportion d'azote soluble intracellulaire reste extrêmement faible, au regard de la quantité rejetée dans le filtrat qui croît considérablement.

La faiblesse du « pool » interne de l'azote soluble retenu sur résine cationique, constitué essentiellement par l'azote aminé, a pour conséquence une diminution de la quantité de protéines synthétisées dans ces conditions, par rapport aux milieux comportant des doses optimales de biotine.

L'augmentation des quantités d'azote aminé extracellulaire en milieu pauvre en biotine a été signalée par plusieurs auteurs [(3), (4), (5)] qui ont mis en évidence une accumulation extracellulaire de glutamate par diverses bactéries déficientes en biotine. Ils ont montré également que le lavage des cellules accentuait, dans ces conditions, la diminution du « pool » interne des acides aminés. Ces auteurs mettent en relation l'effet de la carence en biotine sur la production extracellulaire de glutamate avec l'hypothèse d'une modification de la perméabilité cellulaire.

Dans le cas de l'*H. chlorinus*, on peut envisager, qu'en milieu pauvre en biotine, la disproportion entre les quantités d'azote soluble extra et intracellulaire, cette disproportion n'existant pas en présence de doses optimales de biotine, a pour origine une altération des capacités de rétention sélective de la membrane cellulaire, altération liée à la carence en biotine du milieu.

La membrane cellulaire est de nature lipoprotéique. Or, nous avons constaté qu'en présence des faibles doses de biotine les protéines dosées dans le mycélium, restent en quantité plus faible que sur milieu normalement approvisionné en ce facteur de croissance. Une étude des quantités de lipides synthétisés dans les mêmes conditions devrait nous fournir des données supplémentaires en vue d'étayer l'hypothèse émise.

(*) Séance du 8 février 1971.

(1) J.-M. TOUZÉ-SOULET, *Comptes rendus*, 262, Série D, 1966, p. 1840.

(2) Ch. LAVANDIER, *Thèse Doctorat de Spécialité*, Toulouse, février 1970.

(3) S. KINOSHITA, *Recent Progress in Microbiol.*, 8, 1962, p. 334.

(4) S. I. OTSUKA, R. MIYAJIMA et I. SHIO, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 11, 4, 1965, p. 295.

(5) I. SHIO, S. I. OTSUKA et N. KATSUYA, *J. Biochem.*, 53, 5, 1963, p. 333.

[Laboratoire de Cryptogamie, Université Paul-Sabatier (Sciences),
Equipe de Recherches associée au CNRS n° 180, « Mycologie physiologique »,
31-Toulouse, Haute-Garonne.]