Recherches sur l'ultrastructure de la forme levure du *Sporotrichum schenckii*

(Hetkoen et Perkins, 1900)

par Monique THIBAUT

Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie (P^r M. LARIVIÈRE)
U.E.R. Cordeliers, 15, rue de l'Ecole-de-Médecine, F 75 - Paris (6^e)

Résumé

L'ultrastructure des cellules de la phase levure du *Sporotrichum schenckii* (Hetkoen et Perkins, 1900) a été étudiée au microscope électronique. Des détails sur la structure de la paroi cellulaire, du plasmalemme, du noyau, des mitochondries, des vacuoles et des granules lipidiques sont décrits. La paroi cellulaire est en général sensiblement plus épaisse dans la forme levure que dans la forme mycélienne. Les effets de l'anaérobiose sur la structure mitochondriale sont évidents. La morphologie interne des cellules de la phase levure du *Sporotrichum schenckii* est par beaucoup de points semblable à celle des levures étudiées par d'autres auteurs.

Summary

The fine structure of the yeast-like cells of *Sporotrichum schenckii* (Hetkoen and Perkins, 1900) has been studied by electron microscopy. Details of the structure of the cell wall, cytoplasmic membrane, nucleus, mitochondria, vacuoles and lipid storage organelles were described. The cell wall was found in general slightly thicker in the yeast-like cells than in the mycelial phase. The effect of anaerobiosis on mitochondrial structure was evident. The internal morphology of the yeasts-like cells of *Sporotrichum schenckii* was in many ways similar to that of yeasts studied by other authors.

Nous avons précédemment décrit (1970) l'infrastructure de la forme mycélienne du *Sporotrichum schenckii*. Poursuivant nos recherches en microscopie électronique, nous avons entrepris l'étude de sa phase levure. Ainsi que l'ont déjà noté différents auteurs travaillant sur les levures (en particulier Bartholomew et Mittwer, 1954, Bartholomew et Lévin, 1955, Agar et Douglas, 1955, Smith et Marchand, 1968), les nombreux essais pour examiner la structure fine de ces cellules ont été rendus malaisés par de grandes difficultés de fixation. Cette forme du *Sporotrichum schenckii* a été elle aussi difficile à fixer, du fait de la présence de substances mucilagineuses dans les parois. Pour se débarrasser de ces mucilages, Vitols, North et Linnane (1961) n'ont pas hésité à faire subir au *Saccharomyces cerevisiae* un traitement par des détergents comme le Teepol ! Les auteurs reconnaissent eux-mêmes qu'un tel traitement détergent peut détruire certaines structures cytoplasmiques. On conçoit en effet que des levures fixées après traitement détergent ne semblent guère dans leur état normal. Aussi n'avons-nous pas employé ce procédé.

I. Parois cellulaires.

A. — Observations personnelles.

Les parois des cellules de la phase levure présentent une densité aux électrons bien moindre que celle du cytoplasme. Leur épaisseur est variable (de $0,10\ \mu$ à $0,25\ \mu$), mais elle est en général supérieure à celle des parois des articles du mycélium, pratiquement le double, $1,2/10$ pour $0,6/10$ (M. Thibaut, 1970). Nous y avons trouvé, de dehors en dedans, les éléments suivants, que nous désignons en nous inspirant de la nomenclature mise au point par M. Chadeffaud :

- une mince couche externe ou vagina, sombre aux électrons, dont la surface externe a un aspect pelucheux ; cet aspect est constant (photo 1) ; il se retrouve également sur nos électromicrographies de la phase mycélienne, et sur la plupart des photographies électroniques de levures et de champignons filamenteux publiées par divers auteurs ; l'épaisseur de la vagina est de $0,01\ \mu$;
- une épaisse couche interne, qui est probablement une sous-vagina ; elle est beaucoup plus épaisse que la vagina ($0,10\ \mu$ ou plus) (photo 1) et relativement claire aux électrons ; dans certains cas (photo 2), elle paraît stratifiée ;
- un film doublant intérieurement cette couche interne ; il est très mince et pas toujours bien visible, du fait qu'il peut être accolé au plasmalemme ;
- une locula peu importante et pas toujours présente.

Au niveau de l'apex de la cellule-mère, à l'endroit où la blastospore s'est détachée, on observe d'une part un épaissement des différentes couches constitutives de la paroi, d'autre part une légère convexité de celle-ci (photos 3 et 4).

B. — Discussion.

L'examen des micrographies électroniques publiées dans la littérature et relatives à des levures nous a montré des divergences d'opinions à propos du nombre de couches dans les parois. Northcote et Horne (1952) ont décrit deux couches distinctes

PHOTO 1. — Forme levure du *Sporotrichum schenckii*. Noter les différentes couches de la paroi : vagina à l'aspect pelucheux, couche interne épaisse. Remarquer également le plasmalemm et les lomasomes. Fixation : glutaraldéhyde et tétroxyde d'osmium. Contrastation : acétate d'uranyle et citrate de plomb. V. : vagina ; S.V. : sous-vagina ; M.P. : membrane plasmique ; L.O. : lomasome ; F. : film ; L. : locula. PHOTO 2. — Paroi stratifiée dans une levure âgée. Fixation : glutaraldéhyde et tétroxyde d'osmium. Contrastation : acétate d'uranyle et citrate de plomb. PHOTO 3. — Apex d'une cellule de levure. Noter l'épaississement de la paroi à ce niveau et la convexité à l'endroit d'où la blastospore s'est détachée. Fixation : glutaraldéhyde et tétroxyde d'osmium. Contrastation : acétate d'uranyle et citrate de plomb.

chez le *Saccharomyces cerevisiae*, mais Houwink et Kreger (1953), étudiant le *Candida tropicalis*, le *Schizosaccharomyces octosporus* et le *Saccharomyces cerevisiae*, n'ont pas retrouvé les couches décrites par ces auteurs. Cependant, d'autres chercheurs (Agar et Douglas, 1955 ; Yotsuyanagi, 1962) ont rapporté la présence de plusieurs couches dans les parois des levures. D'une façon générale, ils sont d'accord sur la faible densité aux électrons de ces parois, ce qui rend l'identification des différentes couches particulièrement difficile.

Vitols et coll. (1961), dans des coupes de cellules végétatives du *Saccharomyces cerevisiae*, ont montré que les concentrations de matériel dense aux électrons semblent être localisées au niveau de la surface externe et dans la région contiguë au plasmalemme. Des résultats semblables ont été obtenus par Tsukahara et Sato (1964), dans la paroi cellulaire du *Candida albicans*. Chez celui-ci, en effet, les zones externe et interne de la paroi cellulaire sont composées de matériel dense aux électrons et elles sont séparées par une zone moyenne de faible densité. C'est également ce que nous avons observé dans la forme levure du *Sporotrichum schenckii*. Nos observations sont également en accord avec celles de Carbonnel et Rodriguez (1968) qui, chez le *Paracoccidioides brasiliensis* et le *Blastomyces dermatitidis*, ont remarqué que la paroi cellulaire est plus fine dans la phase mycélienne que dans la phase levure.

Houwink et Kreger (1953) ont noté que la partie interne de la paroi cellulaire du *Saccharomyces cerevisiae* contient un réseau de très fines fibrilles. Tsukahara (1963) a observé également une architecture fibrillaire dans la paroi cellulaire du *Cryptococcus neoformans*. Nous n'avons pas retrouvé de telles fibrilles chez le *Sporotrichum* étudié, mais la couche interne de sa paroi peut être plus ou moins lamelleuse.

II. Plasmalemme et Lomasomes.

Seul le microscope électronique permet d'observer clairement la structure fine du plasmalemme et de voir les lomasomes.

A. — Observations personnelles.

1° LE PLASMALEMME.

Dans la forme levure du *Sporotrichum schenckii*, comme dans la forme mycélienne, la limite externe du cytoplasme est marquée par le plasmalemme, qui a les caractéristiques d'une « unit membrane » (photos 1 et 5). Du fait des difficultés de fixation, ce film cytoplasmique est souvent moins nettement visible dans la levure que dans le mycélium. Il est mieux mis en évidence après double fixation à la glutaraldéhyde et au tétroxyde d'osmium qu'après fixation au permanganate de potassium. Il est formé de deux couches denses aux électrons, de 20 Å d'épaisseur chacune, séparées par une zone plus claire de 35 Å. Il est légèrement ondulé et appliqué contre la face interne de la paroi cellulaire, à laquelle il est souvent étroitement adhérent. Dans les cellules adultes ou sénescents, il s'en détache parfois des lames (photo 5), qui s'enfoncent profondément dans le cytoplasme, et n'ont pas pour autant l'aspect d'éléments d'un réseau endoplasmique.

2° LES LOMASOMES.

D'autre part, en certains points, le plasmalemme s'invagine dans le cytoplasme périphérique pour former de petites poches contenant des vésicules, des sphérules et des tubules. Ces poches sont des lomasomes (photos 1 et 6). Cependant, ces organites sont beaucoup moins nombreux dans la forme levure que dans la forme mycélienne

PHOTO 4. — Cellule de levure montrant deux globules lipidiques et de nombreux ribosomes. Remarquer aussi la convexité et l'épaississement de la paroi à l'endroit d'où la blastospore s'est détachée. Fixation : glutaraldéhyde et tétroxyde d'osmium. Contrastation : acétate d'uranyle et citrate de plomb. G.L. : globule lipidique ; R. : ribosomes.

du *Sporotrichum schenckii* (M. Ansel, M. Thibaut et Y. Tourte, 1969). Le plasmalemme, constitué par deux feuillets denses aux électrons, séparés par un espace clair, forme la paroi du lomasome ainsi que celle des sphérules, vésicules et tubules qu'il contient.

A maturité, chaque vésicule du lomasome contient un granule sombre aux électrons qui pourrait être de nature polyphosphatique.

B. — Discussion.

1° LE PLASMALEMME.

Bartholomew et Lévin (1955) ne purent détecter la membrane plasmique chez le *Saccharomyces carlsbergensis* et chez le *Saccharomyces cerevisiae*, dans leurs préparations fixées à l'acide osmique. Cependant, O'Hern et Henry (1956), Agar et Douglas

(1957), avec le même fixateur, ont décrit le plasmalemme comme une mince membrane unitaire, se trouvant directement sous la paroi cellulaire et ayant un aspect ondulé. Des résultats semblables ont été obtenus par Tsukahara et Sato (1964) chez le *Candida albicans* fixé au tétr oxyde d'osmium. Selon Agar et Douglas (1955-1957), Koehler (1961), Koehler, Birnbaum et Hayes (1961), chez le *Saccharomyces cerevisiae*, la membrane plasmique présente de fortes invaginations. Au contraire, Hashimoto, Conti et

PHOTO 5. — Plasmalemme et lames détachées de celui-ci s'enfonçant profondément dans le cytoplasme. Fixation : glutaraldéhyde et tétr oxyde d'osmium. Contrastation : acétate d'uranyle et citrate de plomb. M.P. : membrane plasmique ; L. : lame détachée du plasmalemme

Naylor (1959), chez le même *Saccharomyces*, ont observé que le plasmalemme était lisse et tout à fait adhérent à la paroi cellulaire. Ces auteurs ont donc suggéré que les différences entre ces divers résultats pourraient être dues à différents stades de croissance ou à différentes méthodes de préparation des échantillons, pour la microscopie électronique. Marchant et Smith (1967), chez le *Rhodotorula glutinis*, ont en effet noté que dans les jeunes cellules et dans les blastospores le plasmalemme est ondulé, tandis que dans les vieilles cellules il est peu sinueux.

Hirano (1962), chez le *Saccharomyces cerevisiae*, a décrit le plasmalemme comme une membrane contournée, mais n'a pas discuté sa structure. Vitols, North et Linnane (1961) ont observé le plasmalemme comme formé de deux lignes denses, séparées par une couche moins dense, ayant une épaisseur totale de 80 Å. Dans la forme levure

du *Sporotrichum schenckii*, le plasmalemme n'est que légèrement ondulé, sauf en certains points où il s'invagine pour former des lomasomes.

D'autre part, Edwards et Edwards (1960), dans la phase levure du *Blastomyces dermatitidis*, ont noté que le plasmalemme était fréquemment en rapport direct avec le réticulum endoplasmique, les mitochondries périphériques ou l'enveloppe nucléaire. Nous n'avons rien observé de tel dans la forme levure du *Sporotrichum schenckii*.

PHOTO 6. — Lomasome dans une levure de *Sporotrichum schenckii*. Fixation: glutaraldéhyde et tétroxyde d'osmium. Contrastation: acétate d'uranyle et citrate de plomb.

2° LES LOMASOMES.

Il semble que les lomasomes n'aient été que rarement décrits dans des cellules de levures. Edwards, Gordon, Lapa et Ghiorse (1967) ont cependant noté de semblables structures, formées par l'invagination du plasmalemme, chez le *Cryptococcus neoformans*, mais ils les ont interprétées comme des mésosomes.

Marchant et Smith (1967) ont induit la formation de structures vésiculeuses analogues dans la partie périphérique du cytoplasme des cellules du *Rhodotorula glutinis* par un traitement prolongé au chloramphénicol. Des vésicules semblables ont été vues par Hagedorn (1964) dans les cellules normales du *Saccharomyces cerevisiae*.

De notre côté, nous avons observé des lomasomes typiques dans la phase levure du *Sporotrichum schenckii*, mais nous devons reconnaître qu'ils y sont peu fréquents. Leur rareté est peut-être en relation avec les conditions d'anaérobiose dans lesquelles cette phase est cultivée.

III. Hyaloplasme. Réticulum endoplasmique. Ribosomes. Vacuoles. Appareil de Golgi.

A. — Hyaloplasme.

Le microscope électronique a permis de trouver dans le hyaloplasme l'existence d'une infrastructure. Que les levures soient fixées au tétr oxyde d'osmium ou au permanganate de potassium, il apparaît en effet sur les électromicrographies comme très finement granuleux. Cet aspect est particulièrement net lorsqu'il n'est pas encombré de ribosomes, comme par exemple sur les préparations fixées au permanganate. Les granulations du hyaloplasme sont alors bien visibles. Elles sont moins denses aux électrons que les ribosomes et beaucoup plus petites que ces derniers.

Edwards et Edwards (1960) ont décrit la matrice cytoplasmique de la phase levure du *Blastomyces dermatitidis* comme finement granuleuse, pouvant contenir de fins filaments. Si, dans la forme levure du *Sporotrichum schenckii*, nous avons pu observer les granulations hyaloplasmiques, par contre nous n'avons jamais noté de pareilles microfibrilles.

B. — Réticulum endoplasmique.

Dans la forme mycélienne du *Sporotrichum schenckii*, le réticulum endoplasmique était très pauvrement représenté. Dans sa forme levure, nous ne l'avons pas du tout retrouvé.

Nos observations sont sur ce point en accord avec celles de Vitols, North et Linnane (1961) sur le *Saccharomyces cerevisiae*, qui ont remarqué que les cellules de cette levure, à l'état actif en aérobiose, sont dépourvues de réticulum. Ces auteurs ont pensé qu'alors la vacuole de ces cellules pouvait en tenir lieu ; cela serait en accord avec la théorie selon laquelle l'appareil vacuolaire dérive du réseau endoplasmique (Buvat, 1957, 1960, 1961). Cependant, d'autres chercheurs, au contraire, ont noté que le réticulum endoplasmique est toujours bien distinct parmi les systèmes membranaires de la levure.

D'une façon plus générale, Irving B. Sachs fut parmi les premiers cytologistes à rapporter que des structures membranaires existent dans les levures et que ces structures sont semblables au réticulum endoplasmique des cellules animales. Koehler (1961) décrit ensuite chez les levures un système membranaire complexe, auxquels sont attachés des ribosomes.

En général, le réticulum des cellules végétatives de levures est formé par des membranes dispersées à travers le cytoplasme. Selon McClary et Bowers (1967), chez le *Rhodotorula gracilis*, et Marchand et Smith (1967), chez le *Rhodotorula glutinis*, ce système ne présente aucune orientation distincte. Par contre, McClary et Bowers (1967), chez le *Saccharomyces fragilis* et le *Candida utilis*, Edwards et coll. (1967) chez le *Cryptococcus neoformans*, Northcote (1963), Osumi et coll. (1966), Necas et Svoboda (1967) ont décrit le réticulum endoplasmique comme formé d'un système de membranes orientées parallèlement au plasmalemma. Mais nous nous demandons, par

comparaison avec ce que nous avons vu chez le *Sporotrichum schenckii*, si ces membranes n'étaient pas en réalité des formations détachées du plasmalemme.

Dans la forme levure du *Blastomyces dermatitidis*, Edwards et Edwards (1960) ont observé un réticulum endoplasmique consistant en vésicules dispersées, avec des profils membranaires et des tubules; ces différents profils pouvant être rugueux ou lisses.

Osumi et coll. (1966) ont montré que le réticulum endoplasmique est labile et qu'il disparaît pendant la sporogénèse du *Saccharomyces cerevisiae*. Osumi et Katoh (1967) ont par ailleurs noté la prolifération de ce réticulum pendant l'adaptation à l'aérobiose. La phase levure du *Sporotrichum schenckii* étant anaérobie, il est possible que le réticulum endoplasmique, déjà très peu abondant dans la phase mycélienne, disparaisse pendant l'adaptation à ce mode de vie.

C. — Ribosomes.

1° OBSERVATIONS PERSONNELLES.

Dans la forme levure du *Sporotrichum schenckii*, de nombreux ribosomes sont disséminés à travers le cytoplasme. Ils ne sont mis en évidence qu'après fixation osmique, avec ou sans glutaraldéhyde associée; le permanganate ne les conserve pas. Ce sont des particules libres de 150 Å de diamètre, dispersées de façon homogène entre les différents organites. Nous n'avons pas noté leur groupement au voisinage des vacuoles, que nous avons observé dans la forme mycélienne (M. Thibaut, 1970).

2° DISCUSSION.

Koehler (1962) a remarqué que les ribosomes des levures ne sont pas spécialement associés au réticulum endoplasmique, comme cela est fréquent chez les organismes supérieurs. Cependant, Edwards et Edwards (1960), dans la phase levure du *Blastomyces dermatitidis*, ont noté que le réticulum endoplasmique pouvait être du type « rough » ou « smooth ». Chez le *Cryptococcus neoformans*, Edwards, Gordon, Lapa et Ghiorse (1967) ont observé des ribosomes libres dans le hyaloplasme, des profils de réticulum sans ribosomes, le réticulum endoplasmique « smooth » semblant être le type prédominant. Dans la forme levure du *Sporotrichum schenckii*, les ribosomes sont toujours présents, mais, le réticulum faisant toujours défaut, ils sont toujours dispersés.

D. — Vacuoles.

1° OBSERVATIONS PERSONNELLES.

D'une manière générale, il y a beaucoup moins de vacuoles dans la phase levure du *Sporotrichum schenckii* que dans les cellules mycéliennes de même âge.

Dans les levures du *Sporotrichum*, nous avons observé soit plusieurs petites vacuoles, soit une vacuole unique, de taille moyenne. Les petites vacuoles caractérisent le stade jeune; elles se réunissent en une vacuole unique quand la cellule vieillit. Lorsqu'elle est âgée, cette vacuole unique peut occuper la presque-totalité du corps cellulaire, et elle repousse à la périphérie les autres constituants de la cellule (photos 7 et 8).

Les vacuoles sont entourées d'une membrane finement tripartite, le tonoplaste, séparant la phase vacuolaire de la phase cytoplasmique. Leur forme est plus arrondie et plus régulière que dans le mycélium et nous n'y avons pas noté de fins prolongements étoilés. Nous n'avons pas remarqué non plus de ribosomes groupés en amas à leur voisinage (M. Thibaut, 1970). Le suc vacuolaire peut ne contenir que très peu de matériel granulaire, ou au contraire être rempli d'une grande quantité de granulations opaques aux électrons. Ce dernier état est celui des vacuoles âgées (photos 7 et 8).

2° DISCUSSION.

Nos résultats corroborent ceux de Polakis, Barthey et Meek (1964), qui ont établi que 2 % seulement des cellules du *Saccharomyces cerevisiae* cultivées en anaérobiose sur milieu glucosé ont des structures vacuolaires observables en microscopie électronique, tandis que les cellules cultivées en anaérobiose sur milieu au galactose ont toutes des vacuoles bien visibles. La phase levure du *Sporotrichum schenckii* est en effet cultivée en anaérobiose sur milieu liquide glucosé, ce qui pourrait expliquer le petit nombre de vacuoles rencontré. D'autres auteurs, Osumi (1965), Osumi et Katoh (1967), ont publié des micrographies de vacuoles dans des levures cultivées en anaérobiose sur milieu glucosé, mais ils ne font aucun commentaire sur leur fréquence dans ces cellules.

Les travaux de de Lamater (1950), Mundkur (1954), Agar et Douglas (1957), Hashimoto, Conti et Naylor (1958), ont donné une description détaillée de la vacuole centrale des cellules des levures et ont discuté sa nature. Ces cytologistes pensent qu'elle est indépendante du noyau. Au contraire, Lindegren (1949), Lindegren, Williams et McClary (1956) proclament que la prétendue vacuole centrale est en réalité une vacuole nucléaire, contenant les divers éléments du noyau. Chez le *Sporotrichum schenckii*, nous n'avons jamais observé une pareille « vacuole nucléaire ».

Les vacuoles sont normalement considérées comme des organites ayant peu de fonctions spécifiques. Cependant, les études biochimiques de Matile et Wiemken (1967), relatives aux vacuoles de levures isolées, ont montré que dans les levures certaines enzymes hydrolytiques sont localisées dans la vacuole. Cela a conduit ces auteurs à décrire la vacuole comme « le lysosome de la cellule de levure ».

Prusso et Wells (1967) chez le *Sporobolomyces roseus*, Edwards, Gordon, Lapa et Ghiorse (1967) chez le *Cryptococcus neoformans*, ont noté que les vacuoles contiennent un matériel granulaire épars. C'est également ce qu'ont remarqué Osumi, Sando et Miyake (1966). D'autre part, ces derniers auteurs ont également observé que pendant la sporogenèse du *Saccharomyces cerevisiae*, les vacuoles sont remplies d'une grande quantité de matériel granuleux, dense aux électrons. Notre étude du *Sporotrichum schenckii* nous a permis d'observer un matériel semblable, surtout abondant dans les vacuoles âgées.

Les vacuoles de certaines cellules du *Saccharomyces cerevisiae* contiennent un ou plusieurs corps opaques aux électrons, qui, à fort grossissement, révèlent une structure lamellaire myélinique (Osumi, 1965). Smith et Marchant (1968) ont décrit de semblables structures dans la vacuole du *Saccharomyces cerevisiae*. Ces auteurs ont émis l'hypothèse que les inclusions lamellaires observées dans la vacuole de ce *Saccharo-*

PHOTO 7. — Vacuole dans une levure âgée, occupant la presque totalité de la cellule. Fixation: glutaraldéhyde et tétroxyde d'osmium. Contrastation: acétate d'uranyle et citrate de plomb. PHOTO 8. — Vacuole importante. Fixation: glutaraldéhyde et tétroxyde d'osmium. Contrastation: acétate d'uranyle et citrate de plomb. T.: tonoplaste.

myces représenteraient l'agrégat phospholipidique de la matrice du sphérosome. Les vacuoles de la forme levure du *Sporotrichum schenckii* ne nous ont pas montré la présence de structures myéliniques, aussi ne pouvons-nous prendre position.

E. — Appareil de Golgi.

Pas plus dans la forme levure que dans la phase mycélienne du *Sporotrichum schenckii*, nous n'avons rencontré les amas de saccules et de vésicules qui caractérisent l'appareil de Golgi.

Dans les cellules normales des levures, les dictyosomes ne semblent pas exister. Cependant, leur présence a été supposée par Marquardt (1962), par Moor et Muhlethaler (1963) et par Osumi, Sando et Miyake (1966). On n'a pas trouvé de dictyosomes dans les cellules végétatives normales du *Schizosaccharomyces octosporus* (Conti et Naylor, 1959), ni dans celles du *Schizosaccharomyces pombe* (MacLean, 1964). Par contre, Havelkova et Mensik (1966) en ont vu dans les protoplastes en régénération du *Schizosaccharomyces pombe* et ont suggéré que ces organites seraient impliqués dans la formation de la paroi.

IV. Mitochondries.

A. — Observations personnelles.

Dans la forme levure du *Sporotrichum schenckii*, les mitochondries ont une morphologie particulière et sont bien différentes, par leur aspect, de celles de la forme mycélienne. Cela peut tenir à ce que la forme levure ne se développe qu'en anaérobiose, avec le glucose comme source de carbone.

Les mitochondries de la forme levure ont en effet des contours polyédriques assez irréguliers (photos 9 et 10). Leur taille varie de 1 μ à 1,5 μ . Elles ont pour enveloppe un système de deux « unit membranes », l'une externe, l'autre interne. Cette dernière forme des crêtes tubuleuses, plus ou moins irrégulières, pouvant dessiner une sorte de réseau. A l'intérieur de la matrice mitochondriale, se trouvent des grains denses aux électrons, qui ont même opacité et même taille que les ribosomes.

B. — Discussion.

Les mitochondries ont été reconnues en microscopie électronique comme ayant une structure interne bien particulière, par Palade (1952-1953) dans les cellules animales. Cet auteur montra qu'elles possédaient une membrane bordante et un système de crêtes régulièrement parallèles, faisant saillie de la surface interne de la membrane vers l'intérieur. Il nomma ces sillons « crêtes mitochondriales ». Dempsey (1956) définit ces organites comme ayant une structure caractéristique formée d'une membrane externe et d'une membrane interne entourant un espace matriciel. Il constata également que les mitochondries étaient polymorphes et variaient par leur situation, leur forme et leur complexité. Leur nombre dans la cellule peut augmenter ou décroître suivant les conditions environnantes.

PHOTO 9. — Mitochondrie de forme polyédrique avec crêtes tubuleuses. Fixation : glutaraldéhyde et tétroxyde d'osmium. Contrastation : acétate d'uranyle et citrate de plomb. M. : mitochondrie ; C.R. : crête ; G.L. : globule lipidique. PHOTO 10. — Mitochondrie en bissac. Fixation : glutaraldéhyde et tétroxyde d'osmium. Contrastation : acétate d'uranyle et citrate de plomb. M. : mitochondrie ; C.R. : crête.

Peu après la description de la structure mitochondriale dans les cellules des animaux, les cytologistes spécialistes des levures y mirent en évidence des organites semblables. C'est Agar et Douglas (1957) qui, chez le *Saccharomyces cerevisiae*, ont reconnu que les cellules des levures possèdent des mitochondries ayant un aspect général semblable à celui des autres organismes. Ils ont noté leur forme sphérique ou cylindrique et la présence de crêtes en leur intérieur. Hirano et Lindegren (1961), dans le même *Saccharomyces*, ont également vu la double membrane enveloppant les mitochondries et l'invagination de la membrane interne, formant les crêtes. Dans la majorité des levures, les mitochondries sont de forme sphérique ou ellipsoïdale. Mais il y a des exceptions. Ainsi, par exemple, Kawakami (1961) a décrit des mitochondries filiformes chez le *Nadsonia fulvescens*; Thyagarajan, Conti et Naylor (1962) ont observé que dans quelques cas les mitochondries du *Saccharomyces cerevisiae* et du *Rhodotorula glutinis* s'allongent; Prusso et Wells (1967) ont noté des mitochondries ramifiées dans le *Sporobolomyces roseus*; Edwards et coll. (1967) ont remarqué des mitochondries semblant annulaires, dans le *Cryptococcus neoformans*.

Si l'on compare les électromicrographies de mitochondries de levures, publiées dans la littérature, et celles de mitochondries d'origine animale, les premières sont de qualité très inférieure et ont une mauvaise définition. Cela est dû aux difficultés de fixation, que nous avons nous-même rencontrées chez le *Sporotrichum schenckii*, difficultés causées par la présence de substances mucilagineuses dans les parois des levures.

Les conditions d'anaérobiose ont des effets certains sur la morphologie structurale des mitochondries. Un problème très controversé a été celui de savoir si les levures cultivées en anaérobiose avaient ou non des mitochondries. Linnane, Vitols et Nowland (1962) ont décrit chez le *Candida utilis*, en anaérobiose, la complète absence de mitochondries, mais ils ont noté un système complexe de membranes lamellaires en réseau, dans le cytoplasme. Ces membranes paraissent être de deux sortes: d'une part, un système multimembranaire ressemblant aux figures myéliniques, formé d'« unit membranes » étroitement adjacentes entre elles; d'autre part, un système membranaire ressemblant au réticulum endoplasmique des organismes supérieurs. Les auteurs concluent que la même levure cultivée strictement en anaérobiose ne contient pas de cytochromes et ne forme pas de mitochondries, mais possède un nouveau système membranaire. Cependant, Wallace et Linnane (1964) n'ont pas retrouvé ce système réticulaire chez le *Saccharomyces cerevisiae*. L'absence de mitochondries dans les cellules de ce *Saccharomyces*, cultivé en anaérobiose, a été controversée par Morpugo et coll. (1964), qui ont observé des structures mitochondriales dans les levures cultivées en anaérobiose et en présence d'ergostérol. Les travaux de Schatz (1965) viennent à l'appui des résultats obtenus par Morpugo et coll. Schatz a, en effet, dans les cellules du *Saccharomyces cerevisiae* cultivé en anaérobiose, détecté des enzymes mitochondriales spécifiques. Récemment, Swift, Rabinowitz et Getz (1967) ont établi que la structure mitochondriale est conservée dans les conditions d'anaérobiose. Osumi (1965), Osumi et Katoh (1967) ont montré que les profils mitochondriaux normaux sont absents dans les cellules cultivées en anaérobiose, même lorsqu'on leur ajoute de

l'ergostérol et du tween 80. Les travaux de Marchant et Smith (1968) sur le *Saccharomyces cerevisiae* confirment ceux d'Osumi et coll. Cela corrobore également les résultats que nous avons obtenus chez le *Sporotrichum schenckii* : en effet, la morphologie structurale des mitochondries de la phase levure anaérobie est vraiment très différente de celle des mitochondries de la phase mycélienne, au contraire aérobie.

Polakis, Barthey et Meek (1965), Lukins et coll. (1966) ont supposé que les levures cultivées en anaérobiose sur milieu galactosé avaient des profils mitochondriaux plus typiques que celles cultivées sur milieu glucosé. La forme levure du *Sporotrichum schenckii* ayant comme source de carbone le glucose, cela peut expliquer la forme atypique de ses mitochondries.

V. Produits du métabolisme.

A. — Observations personnelles.

1° LIPIDES.

Dans la phase levure du *Sporotrichum schenckii*, les lipides se présentent sous forme de globules arrondis ou ovoïdes (photo 4). Nous en avons noté d'un à trois par cellule. Dans les cellules âgées, ils peuvent confluer pour constituer un volumineux globule qui occupe la presque-totalité du corps cellulaire et repousse les autres constituants de la cellule à la périphérie. Ils sont entourés d'une ligne dense à leur pourtour, ligne souvent moins nette que dans la forme mycélienne (M. Thibaut, M. Ansel et M. Larivière, 1970), et leur surface est plus ou moins godronnée. Contrairement à ce que nous avons observé dans le mycélium, nous n'avons pas constaté de dissolution des lipides lors de la déshydratation, dans la forme levure.

2° CORPS MYÉLINIQUES MULTILAMELLAIRES.

Nous en avons fort peu rencontré dans la forme levure, comparativement au mycélium. Nous les avons observés aussi bien après fixation osmique, avec ou sans glutaraldéhyde associée, qu'après fixation au permanganate de potassium. Ils n'avaient aucun caractère permettant de les différencier d'avec ceux de la phase mycélienne.

B. — Discussion.

1° LIPIDES.

D'une manière générale, les différents auteurs se sont peu intéressés aux lipides chez les levures, et ils les passent fréquemment sous silence. Cependant, Edwards et Edwards (1960), dans la forme levure du *Blastomyces dermatitidis*, ont noté d'une part des granules denses, ayant environ 40 m μ de diamètre et qu'ils ont interprétés comme des microgouttelettes lipidiques ; d'autre part, des flaques de lipides, irrégulières et non limitées par une membrane, qui peuvent se voir dans des endroits variés du cytoplasme. Edwards et coll. (1967), chez le *Cryptococcus neoformans*, ont décrit des granules de stockage qui ont, pensent-ils, un contenu lipidique.

2° CORPS MYÉLINIQUES MULTILAMELLAIRES.

Des structures lamellaires ont été rapportées par Linnane, Vitols et Nowland (1962) dans la levure *Candida utilis*. Osumi (1965) a décrit de semblables structures dans la vacuole du *Saccharomyces cerevisiae*. Des corps denses, que l'on pourrait assimiler aux figures myéliniformes, ont été décrits par Novikoff (1961) dans les cellules de levures. Yotsuyanagi (1966) a observé dans les mitochondries du *Saccharomyces cerevisiae*, des structures myéliniques qu'il considère comme étant l'équivalent des mésosomes bactériens.

Cependant, les mésosomes ne sont pas strictement semblables aux figures myéliniques. Il paraît plus logique de supposer que ces dernières constituent une réserve de substances phospholipidiques. Le fait que, d'une façon générale, les corps multilamellaires s'observent toujours dans des organes jeunes en voie de croissance vient appuyer cette hypothèse.

VI. Noyau.

A. — Observations personnelles.

Le noyau de la forme levure du *Sporotrichum schenckii* est caractérisé par sa très petite taille (1 μ en moyenne). Il est de forme arrondie ou ovoïde. Ses contours sont le plus souvent réguliers (photo 11), mais ils peuvent montrer parfois des encoches ou des irrégularités. Selon la règle, la membrane nucléaire est double; elle mesure 25 à 40 m μ ; elle est percée de pores, mais ceux-ci ne sont pas visibles après les fixations osmiées. La matrice nucléaire a un aspect différent suivant le fixateur utilisé. Sur les préparations fixées au tétroxyde d'osmium, avec ou sans glutaraldéhyde, le nucléoplasme est rempli d'un matériel finement granuleux, montrant çà et là des zones plus denses aux électrons (photo 11); elles représentent le nucléole, pas toujours bien visible, et les amas de chromatine. Sur les préparations fixées au permanganate de potassium, au contraire, le nucléoplasme forme des zones sombres aux électrons, et on observe d'autre part des zones plus claires, finement granuleuses, qui seraient des amas de chromatine. Nous n'avons jamais noté de « vacuole nucléaire » ni de nucléole vacuolisé.

B. — Discussion.

L'existence d'un noyau discret dans les levures a été établie en microscopie électronique par Agar et Douglas (1957), Hashimoto, Conti et Naylor (1959), Yotsuyanagi (1960), Vitols, North et Linnane (1961). Robinow et Marak (1966) ont montré que le noyau des levures est enveloppé, comme celui des autres organismes, d'une double membrane. Prusso et Wells (1967), chez le *Sporobolomyces roseus*, ont noté que la membrane nucléaire était souvent en continuité avec le réticulum endoplasmique. Les pores nucléaires ont été décrits chez le *Saccharomyces cerevisiae* par Agar et Douglas (1957), Vitols et coll. (1961), et dans le *Cryptococcus neoformans* par Tsukahara (1963). Moore et Muhlethaler (1963), Moor (1966), grâce à des préparations par cryodécapage du *Saccharomyces cerevisiae*, ont montré que les pores mesuraient de 800 à

900 Å de diamètre et qu'ils étaient distribués par groupes à la surface du noyau. Ils ont établi que les pores occupaient environ 6 à 8 % de cette surface et qu'il y avait environ 200 pores par noyau.

Les coupes des différentes levures ont montré que le nucléoplasme est plus ou moins homogène. Yotsuyanagi (1960), dans les fixations au permanganate de potassium,

PHOTO 11. — Noyau. Fixation: glutaraldéhyde et tétroxyde d'osmium. Contrastation: acétate d'uranyle et citrate de plomb. N.O.: noyau; N.U.: nucléole.

a noté que les zones claires disséminées à travers le nucléoplasme correspondaient aux amas de chromatine. Des aires claires ont été aussi observées par d'autres chercheurs dans les noyaux du *Saccharomyces cerevisiae* (Hashimoto, Conti et Naylor, 1959; Vitols, North et Linnane, 1961), et par nous-même chez le *Sporotrichum schenckii*.

La présence du nucléole a d'abord été rapportée, en microscopie électronique, par O'Hern et Henry (1956) dans les cellules du *Coccidioides immitis*. Conti, Thyagarajan et Naylor (1963) ont décrit une membrane entourant le nucléole du *Rhodotorula glutinis*, mais il semble que ce soit un artéfact causé par l'invagination de la membrane nucléaire. Edwards et Edwards (1960), dans la forme levure du *Blastomyces dermatitidis*, ont observé des nucléoles vacuolisés. Chez le *Sporotrichum schenckii*, nous n'avons noté ni membrane entourant le nucléole, ni vacuole nucléolaire.

En Conclusion.

Nos recherches sur l'ultrastructure de la phase levure du *Sporotrichum schenckii* nous ont permis de préciser les points suivants :

- Certains aspects de la cytologie des levures ont été l'objet de controverses. Cela peut être attribué aux difficultés de fixation ;
- La paroi cellulaire est constituée de plusieurs couches : une couche externe, une couche interne plus épaisse et un mince film doublant celle-ci. Elle est en général plus épaisse que celle des articles du mycélium ;
- Le plasmalemma est légèrement ondulé. Dans les cellules adultes ou sénescents, il émet parfois des lames à l'intérieur du cytoplasme ;
- Les lomasomes sont beaucoup moins nombreux dans la forme levure que dans la forme mycélienne ;
- Il n'y a pas de réticulum endoplasmique dans les cellules de la phase levure. Cette absence est peut-être due aux conditions de culture, en anaérobiose et sur glucose ;
- Les ribosomes sont nombreux et distribués de façon homogène dans le hyaloplasme ;
- Il y a très peu de vacuoles dans les cellules de la forme levure. Cette rareté serait due à la culture en anaérobiose sur milieu glucosé. Elles sont d'abord petites et multiples, puis elles fusionnent en une vacuole unique, qui grossit. En même temps, leur contenu se charge de granules. Elles ont un tonoplaste typique ;
- L'appareil de Golgi n'existe pas plus dans la phase levure que dans la phase mycélienne ;
- Les mitochondries de la forme levure, cultivée en anaérobiose avec le glucose comme source de carbone, ont une morphologie et une structure particulières très différentes de celles de la forme mycélienne, au contraire aérobie. Cependant, leur enveloppe est typique et elles possèdent toujours des crêtes internes ;
- Les lipides se présentent sous forme de globules ;
- Il y a peu de figures myéliniques ;
- Le noyau de chaque cellule de levure est de très petite taille ; il possède une membrane nucléaire typique et contient un nucléole.

Bibliographie

- AGAR (H. D.) et DOUGLAS (H. C.), 1955. — Studies of budding and cell wall structure in yeast-Electron microscopy of thin sections. *J. Bacteriol.*, 70, 427-434.
- et —, 1957. — Studies on the cytological structures of yeast : Electron microscopy of thin sections. *Journ. Bact.*, 73, 365-375.

- ANSEL (M.), THIBAUT (M.) et TOURTE (Y.), 1969. — Les lomasomes du *Sporotrichum schenckii*. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 44, 797-810.
- BARTHOLOMEW (J. W.) et MITTWER (T.), 1954. — Electron microscope studies of nuclear changes in *Saccharomyces cerevisiae* during bud formation. *Stain Tech.*, 29, 121-125.
- et LEVIN (R.), 1955. — The structure of *Saccharomyces carlsbergensis* and *Saccharomyces cerevisiae* as determined by ultrathin sectioning methods and electron microscopy. *Journ. Gen. Microbiol.*, 12, 473-477.
- BUVAT (R.), 1957. — Relations entre l'ergastoplasme et l'appareil vacuolaire. *C.R. Acad. Sci.*, 245, 350-352.
- , 1961. — Le réticulum endoplasmique des cellules végétales. *Ber. d. Deutsch. Bot. Gesellsch.*, 74, 261-267.
- et MOUSSEAU (A.), 1960. — Origine et évolution du système vacuolaire dans la racine de *Triticum vulgare*; relation avec l'ergastoplasme. *C.R. Acad. Sci.*, 251, 3051-3053.
- CARBONNEL (L. M.) et RODRIGUEZ, 1968. — Mycelial phase of *Paracoccidioides brasiliensis* and *Blastomyces dermatitidis*: an electron microscope study. *J. Bacteriol.*, 96, 533-543.
- CHADEFAUD (M.), 1969. — Une interprétation de la paroi des Ascospores septées, notamment celles des *Aglaospora* et des *Pleospora*. *Bull. Soc. Mycol. Fr.*, 85, 145-157.
- , 1969. — Données nouvelles sur la paroi des asques. *C.R. Acad. Sci.*, 268, 1041-1044.
- CONTI (S. F.) et NAYLOR (H. B.), 1959. — Electron microscopy of ultrathin sections of *Schizosaccharomyces octosporus*, I, Cell division. *J. Bacteriol.*, 78, 868-877.
- , THYAGARAJAN (T. R.) et NAYLOR (H. B.), 1963. — Intranuclear and intracytoplasmic structures of *Rhodotorula glutinis* as revealed by electron micrographs of serial sections. *Expl. Cell. Res.*, 29, 235-241.
- DE LAMATER (E. D.), 1950. — The nuclear cytology of the vegetative diplophase of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.*, 60, 321-332.
- DEMPSEY (E. W.), 1956. — Variations in the structure of mitochondria. *J. Biophys. et Biochem. Cytol.*, 2, 305-312.
- EDWARDS (G. A.) et EDWARDS (M. R.), 1960. — The intracellular membranes of *Blastomyces dermatitidis*. *Amer. J. Botany.*, 47, 622-632.
- EDWARDS (M. R.), GORDON (M. A.), LAPA (E. W.) et GIORSE (W. C.), 1967. — Micromorphology of *Cryptococcus neoformans*. *J. Bacteriol.*, 94, 766-777.
- HAGEDORN (H.), 1964. — Die Feinstruktur der Hefezellen. I) Zellwand., Sporen, Cytoplasma, Endoplasmatisches Retikulum. *Protoplasma*, 58, 250-268.
- , 1964. — Die Feinstruktur der Hefezellen. II) Kern, Mitochondrien, Reservestoffe. *Protoplasma*, 58, 269-285.
- HASHIMOTO (T.), CONTI (S. F.) et NAYLOR (H. B.), 1959. — Studies of the fine structure of microorganisms. IV) Observations on budding *Saccharomyces cerevisiae* by light and electron microscopy. *J. Bacteriol.*, 77, 344-354.
- HAVELKOVA (M.) et MENSİK (P.), 1966. — The Golgi apparatus in the regenerating protoplasts of *Schizasaccharomyces*. *Naturwissenschaften*, 53, 562.
- HIRANO (T.), 1962. — The fine structure of the nuclear apparatus in *Saccharomyces*. *J. Ultrastructure Res.*, 7, 201-219.

- et LINDEGREN (C. C.), 1961. — Electron microscopy of mitochondria in *Saccharomyces*. *J. Ultrastructure Res.*, 5, 321-327.
- HOUWINK (A. L.) et KREGER (D. R.), 1953. — Observations on the cell wall of yeasts. An electron microscope and X ray diffraction study. *Antonie van Leeuwenhoek*, 19, 1-24.
- KAWAKAMI (N.), 1961. — Thread-like mitochondria in yeast cells. *Expl. Cell. Res.*, 25, 179-181.
- KOEHLER (J. K.), 1961. — *The fine structure of normal and irradiated yeast cells and yeast ribosomes*, Univ. Cal., Lawrence Rad. Lab., Berkeley. UCRL 9715, UC 48, Biology and medicine, TID 4500 (16th Ed.) (Ph. D. Thesis).
- LINDEGREN (C. C.), 1949. — *The yeast cell, its genetics and cytology*, Educational Publishers, Inc., St Louis, 384 p.
- , 1962. — Origin of the endoplasmic reticulum. *Nature*, 195, 1225-1227.
- LINNANE (A. W.), VITOLS (E.) et NOWLAND (P. G.), 1962. — Studies on the origin of yeast mitochondria. *J. Cell. Biol.*, 13, 345-350.
- LUKINS (H. B.), THAM (S. H.), WALLACE (P. G.) et LINNANE (A. W.), 1966. — Correlation of membrane bound succinate deshydrogenase with the occurrence of mitochondrial profiles in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 23, 363-367.
- MACLEAN (N.), 1964. — Electron microscopy of a fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe*. *J. Bacteriol.*, 88, 1459-1466.
- MARCHANT (R.) et SMITH (D. G.), 1967. — Wall structure and bud formation in *Rhodotorula glutinis*. *Arch. Mikrobiol.*, 58, 248-256.
- MARQUARDT (H.), 1962. — Der Feinbau von Hefezellen im Elektronenmikroskop. I) Mitt : *Rhodotorula rubra*. *Z. Naturf.*, 17 B, 42-48.
- MATILE (P.) et WIEMKEN (A.), 1967. — The vacuole as the lysosome of the yeast cell. *Arch. Mikrobiol.*, 56, 148-155.
- MC CLARY (D. O.) et BOWERS (W. D.), 1967. — Structural differentiation of obligately aerobic and facultatively anaerobic yeasts. *J. Cell. Biol.*, 32, 519-524.
- MOOR (H.) et MUHLETHALER (K.), 1963. — Fine structure in frozen-etched yeast cells. *J. Cell. Biol.*, 17, 609-628.
- MORPUGO (G.), SERLUPI-CRESCENZI (G.), TECCE (G.), VALENTE (F.) et VENETTACCI (D.), 1964. — Influence of ergosterol on the physiology and the ultrastructure of *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature*, London, 201, 897-899.
- NECAS (O.) et SVOBODA (A.), 1967. — Mechanism of regeneration of yeast protoplasts. IV) Electron microscopy of regenerating protoplasts. *Folia biol. Praha*, 13, 379-385.
- NORTHCOTE (D. H.), 1963. — The structure and organization of the polysaccharides of yeast. *Pure appl. Chem.*, 7, 669-675.
- et HORNE (R. W.), 1952. — The chemical composition and structure of the yeast cell wall. *Biochem. J.*, 51, 232-236.
- NOVIKOFF (A. B.), 1961. — In *The Cell*, Vol. II, by BRACHET (J.) et MIRSKY (A. E.), New York, Academic Press.
- O'HERN (E. M.) et HENRY (B. S.), 1956. — A cytological study of *Coccidioïdes immitis* by electron microscopy. *J. Bacteriol.*, 72, 632-645.
- OSUMI (M.), 1965. — Electron microscopical observations on the formation of yeast mitochondria. *Bot. Mag. Tokyo*, 78, 231-239.

- , 1965. — Membranes of yeast-cell. II) Membranes in cytoplasmic organelles. *Jap. Wom. Univ. Jl.*, 12, 49-54.
- , DANSO (N.) et MIYAKE (S.), 1966. — Morphological changes in yeast cell during sporogenesis. *Jap. Wom. Univ. Jl.*, 13, 70-79.
- et KATOH (T.), 1967. — Oxygen-induced formation of mitochondrial membrane matrix in respiration-deficient yeast. *Jap. Wom. Univ. Jl.*, 14, 67-70.
- PALADE (G. E.), 1952. — A study of fixation for electron microscopy. *J. Exp. Med.*, 95, 205.
- , 1952. — The fine structure of mitochondria. *Anat. Record.*, 114, 427-452.
- , 1953. — An electron microscope study of the mitochondrial structure. *J. Histochem. Cytochem.*, 1, 188-211.
- POLAKIS (E. S.), BARTLEY (W.) et MEEK (G. A.), 1964. — Changes in the structure and enzyme activity of *Saccharomyces cerevisiae* in response to changes in the environment. *Biochem. J.*, 90, 369-374.
- PRUSSO (D. C.) et WELLS (K.), 1967. — *Sporobolomyces roseus*. I) Ultrastructure. *Mycologia*, 59, 337-348.
- ROBINOW (C. F.) et MARAK (J.), 1966. — A fiber apparatus in the nucleus of the yeast cell. *J. Cell. Biol.*, 29, 129-151.
- SCHATZ (G.), 1965. — Subcellular particles carrying mitochondrial enzymes in anaerobically-grown cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim. Biophys. Acta*, 96, 342-345.
- SMITH (D. G.) et MARCHANT (R.), 1968. — Lipid inclusions in the vacuoles of *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Mikrobiol.*, 60, 340-347.
- SWIFT (H.), RABINOWITZ (M.) et GETZ (G.), 1967. — DNA and mitochondrial morphology in anaerobic and adapting yeast. *J. Cell. Biol.*, 35, 131 A-132 A.
- THIBAUT (M.), 1970. — Recherches sur l'ultrastructure de la forme mycélienne du *Sporotrichum schenckii* (Hetkoen et Perkins, 1900). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 45 (5), pp. 699-760.
- , ANSEL (M.) et LARIVIÈRE (M.), 1970. — Aspects cytologiques de quelques éléments du métabolisme chez un *Sporotrichum*. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 45 (4), pp. 497-507.
- THYAGARAJAN (T. R.), CONTI (S. F.) et NAYLOR (H. B.), 1962. — Electron microscopy of *Rhodotorula glutinis*. *J. Bacteriol.*, 83, 381-394.
- TSUKAHARA (T.) et SATO (A.), 1964. — A cytological study of *Candida albicans* by electron microscopy. *Acta medica et biologica*, 11, 233-242.
- VITOLS (E.), NORTH (R. J.) et LINNANE (A. W.), 1961. — Studies on the oxydative metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*. I) Observations on the fine structure of the yeast cell. *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 9, 689-699.
- WALLACE (P. G.) et LINNANE (A. W.), 1964. — Oxygen-induced synthesis of yeast mitochondria. *Nature*, London, 201, 1191-1194.
- YOTSUYANAGI (Y.), 1960. — Mise en évidence au microscope électronique des chromosomes de la levure par une coloration spécifique. *C.R. Acad. Sci.*, 250, 1522-1524.
- , 1962. — Etudes sur le chondriome de la levure. I) Variation de l'ultrastructure du chondriome au cours du cycle de croissance aérobie. *J. Ultrastruct. Res.*, 7, 121-140.
- , 1962. — Etudes sur le chondriome de la levure. II) Chondriomes des mutants à déficience respiratoire. *J. Ultrastruct. Res.*, 7, 141-158.
- , 1966. — Un mode de différenciation de la membrane mitochondriale évoquant le mésosome bactérien. *C.R. Acad. Sci.*, 262, 1348-1351.