Nouvelle description d'un périthèce d'Ascomycète

par M. THIBAUT et M. ANSEL

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*

Résumé

Une souche d'*Emericella nidulans* (Eidam) a été étudiée en microscopie électronique à balayage. Les caractéristiques des périthèces et des ascospores sont illustrées. Quelques commentaires sont faits sur les particularités observées.

Summary

A strain of *Emericella nidulans* (Eidam) has been investigated by scanning electron microscopy. Characteristics of perithecia and ascospores are illustrated. Some considerations are presented on the features observed.

L'étude de l'*Emericella nidulans* (Eidam) en microscopie électronique à balayage nous a procuré l'occasion de faire des observations nouvelles sur les caractères du périthèce et des ascospores. Les renseignements donnés par la microscopie photonique apparaissent en effet très fragmentaires et incomplets lorsqu'on les compare à ceux apportés par la microscopie à balayage. Cette technique permet d'obtenir des images morphologiques complémentaires et révèle des détails jusqu'alors méconnus ou interprétés de façon erronée.

I. — Matériel et techniques.

Les échantillons d'*Emericella nidulans* (cultures de 5 semaines sur Czapek Dop), préalablement fixés aux vapeurs de formol, sont transportés sur de petits cylindres en cuivre. L'ensemble est placé dans un évaporateur de carbone, sur un socle tournant,

où les échantillons sont d'abord recouverts d'un mince film de carbone, puis reçoivent une fine projection d'or-palladium. Le revêtement métallique a environ 200 Å d'épaisseur.

Les objets ainsi préparés ont été observés au microscope à balayage J.S.M. U 3 Jeolco. Dans cet appareil, le faisceau d'électrons balaie régulièrement la surface entière de l'échantillon, rendu opaque et conducteur par le revêtement métallique. Les images produites par les électrons dispersés et par les électrons secondairement émis sont photographiées à des grossissements variant entre 1.000 et 30.000.

II. — Observations personnelles.

A) LES « HULL CELLS ».

Les cellules de la couche externe du périthèce qui avaient été décrites par Eidam sous le nom de « Hulle Zelle » se présentent, en microscopie optique, sous forme d'éléments arrondis ou elliptiques, volumineux, lisses et qui semblent avoir une double paroi épaisse (fig. 1). Ces cellules ont donc été assimilées par différents auteurs à des chlamydospores.

L'étude en microscopie à balayage nous a montré que ces « Hull cells » sont globuleuses, évoquant l'aspect de petits ballons gonflés. Leur paroi externe est parfaitement lisse, sans ornementation (fig. 2, 3). Certaines de nos photographies nous ont révélé que les « Hull cells » sont tout à fait creuses. Un trou dans leur paroi montre très bien dans ces éléments une cavité entièrement vide (fig. 4). Il ne s'agit donc pas de chlamydospores. Ce que les anciens auteurs avaient interprété comme étant les doubles parois de chlamydospores, n'était en fait qu'un artefact causé par l'écrasement entre lame et lamelle des « Hull cells ». Il nous paraît que ces cellules remplies d'air, qui entourent le périthèce, forment par leur couche une enveloppe protectrice, un peu comme la paroi creuse à double enveloppe des œufs de divers insectes réalise une sorte de bouteille « Thermos ».

B) LES CONIDIES.

Les périthèces reposent sur un substrat mycélien parsemé de conidies. En microscopie à balayage, on note que ces conidies ont une paroi externe mammelonnée et ressemblent à des framboises (fig. 5).

C) LES ASCOSPORES.

Le périthèce contient des asques à huit ascospores. La microscopie optique donnait peu de renseignements sur les ascospores (fig. 6). La microscopie à balayage, au contraire, non seulement apporte une vue en relief, mais encore révèle dans les moindres détails leurs ornements (fig. 7). L'ascospore se présente sous forme d'une lentille biconvexe, dont les deux faces sont parfaitement lisses, mais dont le bord aminci pré-

FIG. 1. — Périthèce d'*Emericella nidulans*. Microscopie optique

FIG. 2. — « Hull cells » de l'*Emericella nidulans*. Noter leur forme globuleuse et leur aspect absolument lisse. Microscopie à balayage

FIG. 3. — « Hull cells » à plus fort grossissement. Latéralement des conidies

sente deux crêtes circulaires relevées et séparées par une gorge. C'est ici qu'apparaissent des structures très particulières. Chaque crête sur son bord interne, incliné vers la face lenticulaire, se présente comme une série d'arcades, arrondies vers le bord de la crête et dont les piliers s'insèrent sur le pourtour de la face lisse de l'ascospore (fig. 8-9) ; néanmoins, quelquefois, ces piliers se rejoignent par leur base, si bien que l'arcade fait place à un trou donnant l'aspect d'une bande fovéolée à la face interne de cette crête

FIG. 4. — «Hull cells». Noter la perforation d'une des «Hull cells» montrant que ces cellules sont creuses

FIG. 5. — Conidies de l'*Emericella nidulans*. Remarquer l'ornementation de leur paroi externe, les faisant ressembler à des framboises

(fig. 10-12). La gorge équatoriale formée par les deux crêtes relevées présente elle aussi de petites cloisons méridiennes qui la transforment en une série circulaire de petites niches (fig. 8-9-10). Locci ne trouve pas de signification à cette ornementation des ascospores qu'il a étudiées chez l'*Aspergillus amstelodami*. Peut-être pouvons-nous avancer qu'il s'agit là d'éléments qui renforcent la solidité tout en conférant plus de légèreté à l'ensemble, comme on le réalise d'ailleurs dans la construction des roues d'automobiles. Tous ces éléments n'étaient pas visibles en microscopie optique, car leur taille très petite ne peut être perçue étant donné les limites du pouvoir séparateur du microscope photonique.

III. — Discussion.

Le microscope à balayage permet d'obtenir des images à trois dimensions dont la profondeur de champ est considérable et dont les grandissements sont bien supérieurs à ceux donnés par le microscope optique. Le microscope à balayage révèle des détails

FIG. 6. — Dessin, d'après Vuillemin, représentant un asque et des ascospores

FIG. 7. — Ascospores de l'*Emericella nidulans*. Remarquer leur forme bivalve et leur bord ornémenté

FIG. 8. — Ascospores à un plus fort grossissement. Chaque face est légèrement convexe. Le bord interne présente des arcades. Le bord externe montre une double rangée d'arcades

FIG. 9. — Face supérieure de l'ascospore d'*Emericella nidulans*, dont le diamètre atteint 4 μ . On voit nettement la structure en arcades de la face interne de l'une des crêtes membraneuses

FIG. 10. — Face supérieure de l'ascospore. On voit déjà les arcades fusionnées à leur base et transformées en fovea

FIG. 11. — Détail des arcades de la face interne d'une partie de la crête membraneuse. Sur la gauche se voient bien les cloisons reliant des deux crêtes et partageant la gorge en une série de logettes

FIG. 12. — Une ascospore de face. Remarquer les fossettes arrondies sur le bord interne de la crête membraneuse. On se rend compte à la taille des petites fovea qu'elles ne sauraient être vues au microscope photonique

qui n'étaient pas visibles en microscopie photonique, à cause du faible pouvoir de résolution. C'est un instrument de choix pour étudier le détail des ornements des surfaces. Le microscope à transmission, dans lequel le faisceau d'électrons traverse une coupe, ne donne que des images à deux dimensions, il révèle l'ultrastructure interne, mais ne donne aucun renseignement sur les structures de surface.

Avant l'introduction de la microscopie à balayage, les seules méthodes pour l'étude des structures de surface étaient le cryo-décapage ou la préparation de répliques de carbone, qui étaient examinés au microscope à transmission. Cependant, ces différents procédés présentent l'inconvénient de faire subir au matériel des traitements assez violents, qui risquent de corroder les parois et d'introduire des artefacts.

En effet, Fujii et Hess (1969), étudiant les conidies de *Penicillium digitatum* et d'*Aspergillus nidulans* par cryo-décapage, ont montré que cette technique entraîne une variabilité de l'aspect des conidies, si bien que l'on ne peut en déduire aucune conclusion taxinomique.

Le microscope à balayage, qui permet un examen direct, n'a pas ces inconvénients et révèle les moindres détails superficiels.

Dans le domaine de la biologie, la microscopie à balayage a été surtout appliquée à l'étude des grains de pollens, de diverses spores ou de protistes. En mycologie, la première publication de microscopie à balayage a été faite par Jones (1967). Par cette technique, Hawker (1968) a observé les ascospores de plusieurs espèces d'*Elaphomyces*; Old et Robertson (1969) ont étudié les conidies du *Cochliobolus sativus*; Reisinger et Mangenot (1969) ont examiné la morphologie du *Dendryphiella vinosa*; Perreau et Heim (1969) ont analysé l'ornementation de diverses basidiospores; Melendez Howell et Cailleux (1969) ont décrit les ascospores de *Gelasinospora*.

Une étude de la littérature ne nous a montré l'emploi du microscope à balayage pour l'examen des champignons pathogènes que dans trois publications. Ito et coll. (1970) ont analysé les structures de surface chez des Dermatophytes appartenant aux genres *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Trichophyton*. En considérant les images rapportées par Locci (1969) qui a étudié l'*Aspergillus amstelodami* en microscopie à balayage, il nous paraît que l'examen des ascospores des différentes espèces d'Eurotiaceae est susceptible d'apporter des précisions dans les descriptions spécifiques et peut-être même dans celles de diverses souches ou mutants. D'autre part, Ito et coll. (1970) ont étudié par cette technique les *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* et *Candida utilis*, mais ils n'en ont tiré aucune conclusion taxinomique.

M. Thibaut et M. Ansel (1970), appliquant cette méthode à l'examen du *Rhizopus equinus*, ont pu montrer l'aspect absolument lisse des chlamydospores et la remarquable texture externe des parois des sporanges. Ce dernier résultat leur a permis de rectifier l'interprétation des anciens auteurs qui, en dessinant l'ornementation externe des sporanges, croyaient dessiner les spores. Chez le *Sporotrichum schenckii*, l'examen en microscopie à balayage a montré d'une part des hyphes couchées, des conidiophores indifférenciés d'avec le mycélium végétatif, d'autre part l'existence de figures de copulation (M. Thibaut et M. Ansel, 1970).

En conclusion, le microscope à balayage fournit des indications très précieuses pour l'étude des ornementsations de surface. Non seulement il donne des images notablement agrandies, mais surtout il permet de voir des détails de structure ou d'ornementation dont la taille est en-deçà de la limite d'observation et de pouvoir séparateur imposés par la longueur d'onde de la lumière utilisée en microscopie photonique. Aussi apporte-t-il des caractères de diagnose qui désormais devraient toujours s'ajouter dans une description, à ceux donnés par l'examen au microscope ordinaire.

Bibliographie

- ANSEL (M.), 1957. — Mycoses et champignons parasites de l'homme, Doin, éd., Paris.
- et THIBAUT (M.), 1970. — Une nouvelle Endomycetaceae : *Dolichoascus* nov. gen. Découverte de la reproduction sexuée par asques chez le *Sporotrichum schenckii* (HETKOEN et PERKINS, 1900), *C.R. Acad. Sciences*, 270, 2171-2173.
- FUJII (R. K.), HESS (W. M.), 1969. — Surface characteristics of conidia from monosporous cultures of *Penicillium digitatum* and *Aspergillus nidulans*, var. *echinulatus*. *Canad. J. Microbiol.*, 15, 1472-1473.
- HAWKER (L. E.), 1968. — Wall ornamentation of ascospores of species of *Elaphomyces* as shown by the scanning electron microscope. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 51, 493-498.
- ITO (Y.), NOZAWA (Y.), SUSUKI (H.) et SETOGUTI (T.), 1970. — Surface structure of Dermato-phytes as seen by the scanning electron microscope. *Sabouraudia*, 7, 270-272.
- , — et SETOGUTI (T.), 1970. — Examination of several selected fungi by scanning electron microscope. *Mycopathologia et Mycologia applicata*, 41, 299-305.
- JONES (D.), 1967. — Examination of mycological specimens in the scanning electron microscope. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 50, 690-691.
- , 1968. — Surfaces features of fungal spores as revealed in a scanning electron microscope. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 51, 608-610.
- LOCCI (R.), 1969. — Investigations on fungal features by scanning electron microscopy. I. The life cycle of *Aspergillus amstelodami*. *Riv. Patol. veg.*, 5, 223-232.
- , 1969. — Scanning electron microscopy of *Helminthosporium oryzae* on *Oryza sativa*. *Riv. Patol. veg.*, 5, 179-195.
- MELLENDEZ-HOWELL (L. M.) et CAILLEUX (R.), 1969. — Problèmes posés par la distinction et la valeur du pore germinatif chez les ascospores fœvées en microscopie à balayage. *Ann. Sc. Nat. Bot. Biol. vég.*, 10, 339-350.
- OLD (K. M.) et ROBERTSON (W. M.), 1969. — Examination of conidia of *Cochliobolus sativus* recovered from natural soil using transmission and scanning electron microscopy. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 53, 217-221.
- PERREAU (J.) et HEIM (R.), 1969. — L'ornementation des basidiospores au microscope électronique à balayage. *Rev. Mycol.*, 33, 329-340.
- RAPER (K. B.) et FENNEL (D. I.), 1965. — The genus *Aspergillus*. The Williams Wilkins Company Baltimore.

- REISINGER (O.), 1970. — Etude aux microscopes électroniques à balayage et à transmission de la paroi sporale et de son rôle dans la dispersion active des conidies chez *Helminthosporium spiciferum* (Bain) Nicot. *C.R. Acad. Sciences*, 270, 3031-3032.
- et MANGENOT (F.), 1969. — Analyses morphologiques au microscope électronique à balayage et étude de l'ontogénie sporale chez *Dendryphiella vinosa* (BERK et CURT). Reisinger. *C.R. Acad. Sci.*, 269, 1843-1845.
- THIBAUT (M.), 1970. — Etude biologique, morphologique, cytologique et taxinomique du *Sporotrichum schenckii* (Hetkoen et Perkins) de Beurmann et Gougerot: *Dolichoascus schenckii* (H. et P.), Thibaut et Ansel 1970. *Thèse de Doctorat ès-Sciences*, Paris.
- , 1971. — Recherches en microscopie à balayage sur la morphologie du *Sporotrichum schenckii* (Hetkoen et Perkins, 1900). *Ann. Parasit. hum. et comp.*
- , 1971. — La forme parfaite du *Sporotrichum schenckii* (Hetkoen et Perkins): *Dolichoascus schenckii*, Thibaut et Ansel, 1970, nov. gen. *Ann. Parasit. hum. et comp.*
- et ANSEL (M.), 1971. — Essai d'utilisation du microscope électronique à balayage pour l'étude morphologique des champignons. *Ann. Parasit. hum. et comp.*
- VUILLEMIN (P.), 1931. — *Les champignons parasites et les mycoses de l'homme*, Le Chevalier, éd. Paris.
-