

Caractérisation de champignons polycentriques du rumen observés *in vivo*

A Breton^{1,3}, M Dusser², B Gaillard-Martinie³,
J Guillot², L Millet³

¹ Université Clermont II, laboratoire de biologie comparée des protistes, 63170 Aubières;

² Université Clermont I, faculté de pharmacie, laboratoire de microbiologie, place H-Dunant, 63000, Clermont-Ferrand;

³ INRA, centre de Clermont-Ferrand-Theix, laboratoire de microbiologie, 63122 Saint-Genès-Champagnelle, France

Summary — Characterization of rumen polycentric fungi observed *in vivo*. *Neocallimastix joyonii* and *Anaeromyces mucronatus* were characterised *in vivo*. The morphological features and the cell wall composition of the sporocysts were similar to those observed in culture.

Les champignons anaérobies stricts du rumen des genres *Neocallimastix*, *Piromonas* et *Sphaeromonas* ont tous été jusqu'ici caractérisés en culture pure selon des critères morphologiques, métaboliques (Breton *et al*, 1989) et cytologiques (Gaillard *et al*, 1989; Guillot *et al*, 1990). Dans le rumen, des champignons ont été observés fixés aux substrats végétaux, mais sans être rapportés aux espèces décrites en culture *in vitro* (Grenet *et al*, 1989).

L'objet de cette note est de décrire 2 organismes polycentriques, *Neocallimastix joyonii* (Breton *et al*, 1989) et *Anaeromyces mucronatus* (Breton *et al*, 1990), obtenus *in vivo*, et de comparer les observations avec celles réalisées en culture pure.

Matériel et méthodes — Des téguments de graines de soja placés dans des sacs en nylon ont été introduits dans le rumen de vaches fistulisées. À la suite d'isollements en milieu gélosé, il avait été montré que ces rumens étaient colonisés par *N joyonii* et *A mucronatus* à l'exclusion de toute autre espèce fongique. Après 48 h de séjour dans le rumen, les téguments des graines avec les champignons fixés ont été prélevés d'une part pour être traités de façon classique pour l'observation en microscopie électronique à balayage (Breton *et al*, 1989), d'autre part en vue d'une étude des parois fongiques à

l'aide de lectines marquées à la fluoescéine spécifiques du L-fucose (lectines extraites de *Laccaria amethystina*, *Ulex europaeus*, *Pholiota squarrosa*, *Clitocybe geotropa*), du D-mannose et du D-glucose (Lectine de *Lens culinaris*), de la N acetyl-galactosamine (lectine de *Glycine max*) et du diacetyl chitobiose (lectine de *Datura stramonium*) (Guillot *et al*, 1990). Après 3 lavages dans du tampon phosphate, 0,01 M, pH 7,2, les échantillons prélevés ont été mis au contact de la lectine à tester, à 4°C, pendant 30 min, puis rincés et montés entre lame et lamelle dans du tampon phosphate, pour être observés en microscopie de fluorescence.

Résultats et discussion — *N joyonii* et *A mucronatus* fructifient au niveau de l'assise palissadique et du hile des téguments de soja. En l'absence de tout rhizomycélium visible, il est impossible de conclure, dans ces conditions, à la nature polycentrique de ces espèces.

N joyonii différencie sur les téguments de soja des sporocystes souvent grégaires, sub-globuleux, 49(60)71 × 49(56)71 µm, sessiles ou courtement pédicellés (fig 1). Une très forte réactivité aux lectines de *Laccaria amethystina*, *Ulex europaeus*, *Pholiota squarrosa* et *Clitocybe geotropa* témoigne de la présence de fucose dans la paroi des sporocystes et de leur pédon-

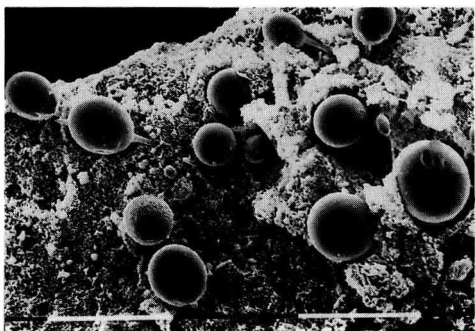


Fig 1. *Neocallimastix joyonii* sporocysts en MEB $\times 140$.

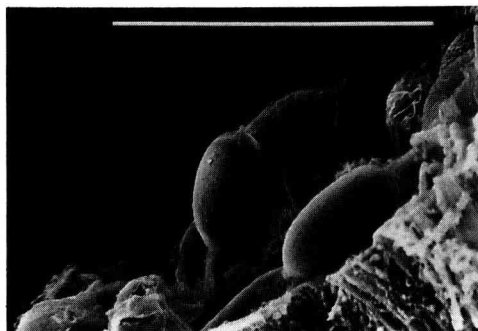


Fig 3. *Anaeromyces mucronatus* sporocysts en MEB $\times 350$.

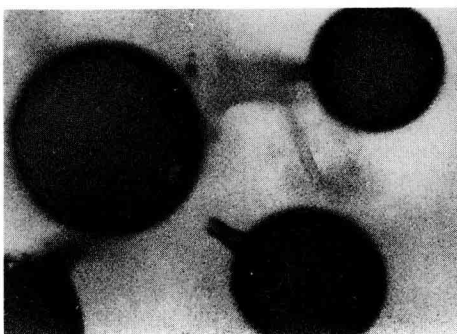


Fig 2. *Neocallimastix joyonii* sporocysts en fluorescence avec la lectine de *C geotropa* $\times 420$.



Fig 4. *Anaeromyces mucronatus* sporocysts en microscopie photonique $\times 330$.

cule (fig 2), les autres lectines donnant des résultats négatifs.

A mucronatus forme *in vivo* des sporocysts isolés ou peu groupés, ellipsoïdaux, $52(62)72 \times 18(24)32 \mu\text{m}$, mucronés au sommet et portés par un pédicelle qui émerge toujours nettement du substrat (figs 3 et 4). Il se caractérise en outre par l'absence de toute réactivité des structures reproductrices aux différentes lectines testées.

En conclusion, *N joyonii* et *A mucronatus* différencient dans le rumen des sporocysts morphologiquement et cytologiquement très différents d'une espèce à l'autre et conformes à ceux

décrits en culture pure (Breton *et al*, 1989, 1990). En conséquence, ces deux espèces sont identifiables *in vivo*.

- Breton A, Bernalier A, Bonnemoy F, Fonty G, Gaillard G, Gouet P (1989) *FEMS Microbiol Lett* 58, 309-314
- Breton A, Bernalier A, Dusser M, Fonty G, Gaillard-Martinie B, Guillot J (1990) *FEMS Microbiol Lett* 58, 309-314
- Gaillard B, Breton A, Bernalier A (1989) *Curr Microbiol*, 19, 103-107
- Grenet E, Breton A, Barry P, Fonty G (1989) *Anim Feed Sci Technol* 26, 55-70
- Guillot J, Breton A, Damez M, Dusser M, Gaillard-Martinie B, Millet L (1990) *FEMS Microbiol Lett* 67, 151-156