

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LA BIOSYNTHÈSE DES ACIDES GRAS DE DEUX CHAMPIGNONS FILAMENTEUX, *ASPERGILLUS OCHRACEUS* ET *MUCOR MUCEDO*

LOUIS CHAVANT*, MICHEL SANCHOLLE† et CHARLES MONTANT†

* Laboratoire de Botanique et Cryptogamie, Faculté des sciences pharmaceutiques, 31 allées Jules Guesde, 31 Toulouse, France;

† Laboratoire de Cryptogamie, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex, France

(Reçu le 2 février 1979)

Key Word Index—*Aspergillus ochraceus*; *Mucor mucedo*; fungi; temperature effects; fatty acids; phospholipids.

Abstract—The two moulds, *Mucor mucedo* and *Aspergillus ochraceus*, grow very rapidly at 22°; when transferred to 12°, *Mucor* shows a regular growth and sporulation while *Aspergillus* development is almost entirely inhibited. ¹⁴C Acetate was supplied to both fungi at 12° and 22°. In both, the total radioactivity of saturated fatty acids was less important at the lowest temperature. In contrast, C 18:1 radioactivity rose in *Mucor* while it was C 18:2 radioactivity which rose in *Aspergillus* at the lowest temperature. There was an increase in phosphatidylethanolamine (PE) and phosphatidylcholine (PC) radioactivities in *Mucor* while the phosphatidylserine (PS) radioactivity decreased at low temperature. By contrast, when *Aspergillus* was placed in the same cultural conditions, PE and PC radioactivities decreased while PS radioactivity increased. Based on these results, a tentative explanation of the improved cold-resistance of *M. mucedo* is presented.

INTRODUCTION

L'étude de la croissance des champignons en fonction de divers facteurs, et en particulier la température optimale pour leur développement, a conduit à les classer en trois groupes: champignons psychrophiles (température optimale 0 à 30°), mésophiles (température optimale 10 à 35°) et thermophiles (température optimale 25 à 65°). Les quelques exemples choisis et répertoriés dans le Tableau 1 montrent que la richesse en acides gras insaturés varie d'un groupe à l'autre [1–6]. Les espèces les plus riches en acides gras poly-insaturés étant adaptées aux températures les plus basses.

De même, l'influence de la température sur le degré d'insaturation des acides gras des micromycètes a fait l'objet de nombreuses observations. Dès 1925, Pearson et Raper [7] ont montré, chez deux moisissures (*Aspergillus niger* et *Rhizopus nigricans*) que le degré d'insaturation des acides gras augmente quand la température diminue; par la suite d'autres expériences, rapportées par Harris et James [8], ont mis en évidence les mêmes relations entre température et degré d'insaturation des acides gras chez les champignons. Quelques exemples significatifs choisis parmi les groupes cités plus haut sont rapportés dans le Tableau 1.

Deux types d'explications sont avancées à l'heure actuelle, afin de rendre compte de ces observations. La première met en jeu la quantité, plus importante à basse température, d'oxygène dissout dans les fluides cellulaires [8]: cette concentration élevée activerait les systèmes de désaturation des acides gras. La seconde explication est basée sur la réalité suivante: à basse température, les acides gras insaturés sont plus fluides que leurs homologues saturés; les microorganismes maintiendraient la fluidité de leurs membranes à basse température en synthétisant des acides gras insaturés [9].

Dans un même groupe systématique, il existe cependant des espèces dont le degré d'insaturation ne varie pas quelle que soit la température, et même certaines pour lesquelles le degré d'insaturation des acides gras diminue quand la température diminue [10]. Parfois, la synthèse d'acides gras insaturés est remplacée, dans ces mêmes conditions, par celle d'acides gras à chaînes courtes [11].

Au cours d'études précédentes sur le développement de deux micromycètes, *Mucor mucedo* (Siphomycète) et *Aspergillus ochraceus* (Septomycète), nous avons observé que ces deux microorganismes réagissaient différemment aux basses températures. En effet, lorsque ces deux moisissures cultivées à 22° pendant 24 hr, sont transférées dans une enceinte à 12°, on constate chez le *Mucor* une légère diminution de la croissance et de la sporulation et chez l'*Aspergillus*, un arrêt pratiquement total de ces deux phénomènes. Il nous a donc paru intéressant d'étudier l'action des basses températures sur la biosynthèse des acides gras insaturés chez ces deux espèces, en nous attachant spécialement aux acides gras des phospholipides; ces molécules pourraient jouer, en effet, un rôle particulier dans la biosynthèse des acides gras insaturés [12–14].

RÉSULTATS

Lorsque l'on fournit de l'acétate de Na ¹⁻¹⁴C à un même mycélium placé à deux températures différentes (22° et 12°) on note, pour la plus basse température, une diminution de la radioactivité totale de la fraction lipidique de 50% chez le *Mucor* et de 30% chez l'*Aspergillus*. Dans les deux espèces, les proportions respectives des radioactivités des fractions neutres et polaires restent identiques aux deux températures: la fraction polaire est toujours deux fois plus radioactive que la fraction neutre.

Tableau 1. Composition en acides gras de quelques espèces représentatives des principaux groupes Psychrophiles, Mesophiles et Thermophiles

Champignons	T	14:0	16:0	16:1	% des acides gras totaux				References
					18:0	18:1	18:2	18:3	
Thermophiles (25–65°)									
<i>Absidia</i> sp.	45°	1.3	14.4	3.5	13.5	48.8	12.1	5.2	[1]
	30°	1.5	12.9	7.6	13.9	29.5	21.6	13.4	
<i>Mucor michei</i>	48°	1.8	27.7	3	6.3	48	10.3	2	[2]
	28°	1.6	22.8	3	4.7	47.8	15.8	4.1	
<i>Penicillium duponti</i>	np	—	25.2	—	10.8	42.2	21.8	—	[3]
<i>Stilbella thermophila</i>	np	2.1	42.5	1.9	13.7	25.4	14.3	—	
<i>Rhizopus</i> sp.	48°	T	23.3	3	18.6	34.9	21.8	5.1	[2]
	28°	1.4	20.6	2.3	5.2	30.0	28.6	11.9	
Mesophiles (10–35°)									
<i>Mucor globosus</i>	25°	7.6	26.1	7.7	6.9	25.8	8.3	15.6	[3]
<i>Penicillium chrysogenum</i>	25°	—	12.2	—	5.5	10.9	65.4	6.0	
<i>Stilbella</i> sp.	25°	—	19.5	1.4	2.3	13.4	58.3	5.0	
<i>Candida lipolytica</i>	25°	—	12.1	6.9	2.5	33.8	42.1	—	[4]
	10°	—	14.4	10.1	2.5	21.3	49.4	—	
Psychrophiles (0–30°)									
<i>Mucor strictus</i>	10°	6.5	10.5	1.8	7.5	35.6	14.2	20.6	[2]
	20°	4.5	25	2.4	8.1	35.9	12.6	11.4	
<i>Candida</i> sp.	10°	—	17.1	3.2	—	28.1	27.5	28.8	[5]
	20°	—	17	4.3	—	33.1	25.3	18.6	
Pour comparaison									
<i>Mucor mucedo</i>	22° LN	6.5	13.7	—	20.7	19	16.8	11.1	[6]
	LP	4.4	14.8	—	9.1	21	21	28	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	22° LN	2.5	17.8	—	11.3	26.1	29.4	10.3	
	LP	—	18.2	—	2.1	9.9	55.7	14.2	

Variation de la composition des acides gras de quelques espèces en fonction de la température. np = Non précise; LN = lipides neutres; LP = lipides polaires.

La détermination de la radioactivité des acides gras de la fraction polaire (Tableau 2) aux deux températures, montre: (a) chez le *Mucor*, à basse température, une diminution de la radioactivité des acides myristique et stéarique et une augmentation très nette (100 %) de celle de l'acide oléique; (b) chez l'*Aspergillus*, dans les mêmes conditions, on note une diminution sensible de la radioactivité de l'acide palmitique et une légère augmentation de la radioactivité de l'acide linoléique.

La détermination de la radioactivité des principales catégories moléculaires de la fraction polaire (Tableau 3), lorsque les deux températures de croissance sont respectivement 22° et 12°, montre que: (a) chez le *Mucor*: à

basse température, la radioactivité de la phosphatidylcholine (PC) augmente nettement, celle de la phosphatidyléthanolamine (PE) augmente légèrement, tandis que celle de la phosphatidylsérine (PS) diminue sensiblement; (b) chez l'*Aspergillus*: à basse température, la radioactivité de la phosphatidylcholine PC diminue nettement, celle de la phosphatidyléthanolamine PE diminue légèrement, alors que celle de la phosphatidylsérine PS augmente.

La détermination de la radioactivité des acides gras des phospholipides, lorsque les microorganismes se développent à 22° ou à 12° (Tableau 4) donne les résultats suivants: (a) chez le *Mucor*: dans la PC, la radioactivité

Tableau 2. Evolution, au cours du temps, du pourcentage de la radioactivité des acides gras des lipides polaires de *Mucor mucedo* et d'*Aspergillus ochraceus* cultivés à 22° ou 12° en présence d'acétate 1-¹⁴C

% de la radioactivité totale des acides gras													
<i>Mucor mucedo</i> 22°							<i>Mucor mucedo</i> 12°						
Temps d'incubation (min)	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	
5	25	40	20	13	T*	—	20	32.5	T	41.5	T	—	
15	20	29	4.5	13	12.5	—	10	23	T	50	16	—	
60	33	30	15	22	10	—	15	33	T	37.5	13.5	—	
90	28	33	17	16	11	T	16	30	T	34.5	13.5	T	
<i>Aspergillus ochraceus</i> 22°							<i>Aspergillus ochraceus</i> 12°						
Temps d'incubation (min)	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	
5	—	40	T	56	—	—	—	29	T	56	15	—	
15	—	31.5	—	56	12.5	—	—	25	T	57	16	—	
30	—	31.5	5	51.5	10	—	—	25	T	51	23	—	
120	—	28	T	39	32	—	—	23	T	30	47	—	

* T = Traces.

Tableau 3. Variations de la radioactivité relative des principaux phospholipides (PS, PE, PC) par rapport à la radioactivité totale de la fraction polaire en fonction du temps (exprimé en minutes) aux deux températures d'incubations 22° et 12°

% de la radioactivité totale des principaux phospholipides						
Temps d'incubation (min)	<i>Mucor mucedo</i> 22°			<i>Mucor mucedo</i> 12°		
	5	15	30	5	15	30
PS	15	13	12	6	7	6
PE	24	21	28	29	27	24
PC	40	50	48	50	55	62
Temps d'incubation (min)	<i>Aspergillus ochraceus</i> 22°			<i>Aspergillus ochraceus</i> 12°		
	5	15	30	5	15	30
PS	29	40	32	30	47	49
PE	8	18	22	20	16	19
PC	55	35	35	45	30	26

Tableau 4. Variations au cours du temps (T = 5, 15, 30 min) du pourcentage de la radioactivité des esters méthyliques des acides gras saturés (0) et mono-insaturés (||) à 10° et à 20°

Temps d'incubation (min)		% de la radioactivité totale des acides gras des principaux phospholipides											
		<i>Mucor mucedo</i>						<i>Aspergillus ochraceus</i>					
		5	15	30	5	15	30	5	15	30	5	15	30
		0		0		0		0		0		0	
		70	30	70	30	70	30	70	30	75	25	75	25
PS	22°	—	—	60	40	60	40	—	—	90	T	—	—
	12°	70	30	65	35	70	30	T	90	35	65	40	60
PE	22°	—	—	56	44	—	—	T	90	T	90	T	90
	12°	70	30	70	30	70	30	T	90	25	75	30	70
PC	22°	20	80	35	65	—	—	T	90	T	90	T	90
	12°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Séparés par chromatographie en couche mince, autoradiographie, et comparés par densitométrie.

T = Traces.

des acides mono-insaturés augmente nettement à basse température, alors que la répartition de la radioactivité des acides gras des autres phospholipides ne change pratiquement pas; (b) chez l'*Aspergillus*: à basse température, on note dans la PC, la disparition de la radioactivité des acides gras saturés et une augmentation de celle des acides gras mono-insaturés. La même évolution s'observe dans la PE. Par contre, dans la PS, on observe une très nette diminution de la radioactivité des acides gras insaturés à basse température.

DISCUSSION

Par la simple observation du développement et de la multiplication végétative des deux espèces étudiées, on constate que le *Mucor mucedo* est nettement plus résistant aux basses températures. Lorsque la température du milieu décroît, on note chez les deux espèces, une augmentation du degré d'insaturation des acides gras et une forte diminution des chaînes saturées. Cette élévation du degré d'insaturation correspond à l'apparition d'une plus grande quantité d'acide linoléique chez l'*Aspergillus* alors que, seul l'acide oléique augmente chez le *Mucor*.

L'évolution de la composition en acides gras de la phosphatidylcholine, est strictement identique pour les deux microorganismes lorsque la température du milieu s'abaisse: l'acide gras insaturé le plus fortement syn-

thétisé au cours des 30 premières min suivant la transition de température est l'acide oléique, alors que la synthèse des acides gras saturés diminue considérablement. Par contre, la radioactivité globale de cette même molécule évolue différemment dans les deux espèces: à basse température, la radioactivité de la phosphatidylcholine augmente chez le *Mucor* et diminue chez l'*Aspergillus*, chez ce dernier la radioactivité de la phosphatidylsérine augmente et cette dernière molécule ne s'enrichit pas en acides insaturés à basse température.

Nos résultats permettent de relier la bonne résistance au froid de *Mucor mucedo* avec une grande capacité de ce champignon à synthétiser des acides gras insaturés à basse température, la phosphatidylcholine semble impliquée dans ces processus de désaturation, au moins comme accepteur des acides gras insaturés nouvellement synthétisés après le passage au froid [13].

EXPÉRIMENTAL

Les méthodes de culture, d'extraction et de fractionnement des lipides neutres et polaires ont été décrites par ailleurs [6-15]. Le Na (1-¹⁴C) acétate est utilisé comme traceur radioactif *in vivo* et en milieu statique, à 12° et 22°, selon les techniques décrites en détail précédemment [12]. Les déterminations de radioactivité des catégories moléculaires de lipides ou bien des

acides gras sont effectuées par autoradiographie et densitométrie des chromatogrammes sur couche mince de silice imprégné de nitrate d'argent [16] et par radiochromatographie en phase gazeuse [12].

Remerciements—Nous remercions le Professeur Mazliak (Lab. de Physiologie Cellulaire Paris VI) qui a mis à notre disposition le radiochromatographe de son laboratoire et également pour les nombreux conseils qu'il nous a donnés.

BIBLIOGRAPHIE

1. Raju, K. S., Maheshwari, R. et Sastry, P. S. (1977) *Lipids* **11**, 741.
2. Sumner, J. L., Morgan, E. D. et Evans, H. C. (1968) *Can. J. Microbiol.* **15**, 515.
3. Mumma, R. O., Fergus, C. L. et Sekura, R. D. (1969) *Lipids* **5**, 100.
4. Kates, M. et Paradis, M. (1972) *Can. J. Biochem.* **51**, 184.
5. McMurrough, I. et Pose, A. H. (1972) *J. Bacteriol.* **114**, 451.
6. Chavant, L. et Sancholle, M. (1977) *Physiol. Veg.* **15**, 209.
7. Pearson, L. K. et Raper, H. S. (1927) *Biochem. J.* **21**, 875.
8. Harris, P. et James, A. T. (1969) *Biochem. J.* **112**, 325.
9. Kasai, R., Kitajima, Y., Martin, L. E., Nozawa, Y., Skriver, L. et Thompson, G. A., Jr. (1976) *Biochemistry* **15**, 5228.
10. Dart, R. K. et Stretton, R. J. (1976) *Microbios Letters* **3**, 31.
11. Thorpe, R. F. et Ratledge, C. (1973) *J. Gen. Microbiol.* **78**, 203.
12. Chavant, L., Mazliak, P. et Sancholle, M. (1978) *Physiol. Veg.* **16**, 521.
13. Chavant, L., Mazliak, P. et Sancholle, M. (1978) *Ann. Pharm. Fr.* **37**, 55.
14. Pugh, E. L. et Kates, M. (1975) *Biochim. Biophys. Acta* **380**, 442.
15. Sancholle, M. et Chavant, L. (1976) *C. R. Acad. Sci. Ser. D* **282**, 2071.
16. Tremolieres, A. (1975) Thèse. Université de Paris VI, 32.