

**GÉNÉTIQUE.** — *Haute fréquence de réversion d'un mutant spontané chez Ascobolus immersus.* Note (\*) de MM. **Abdelali Mekki-Berrada, Jean-Luc Rossignol et Normand Paquette**, présentée par M. Roger Heim.

Un mutant spontané de coloration des spores dont le site est localisé dans le gène *b2* d'*A. immersus*, réverse avec une haute fréquence. 8 phénotypes révertants distincts ont été définis. Les mutations à l'origine de ces révertants se localisent à proximité ou au même site que la mutation d'origine. L'hypothèse que cette mutation est elle-même génératrice des réversions observées est envisagée.

Un mutant spontané appelé G0, présentant une haute fréquence de réversion et localisé dans le gène *b2* de coloration des spores, a été isolé chez *A. immersus*. Une étude préliminaire de ce mutant est présentée ici.

Les milieux de culture et les techniques ont été décrits précédemment [(<sup>1</sup>), (<sup>2</sup>), (<sup>3</sup>)]. Les souches utilisées sont issues du stock 28 d'*A. immersus* et portent toutes le modificateur *cv2A* de *b2* (<sup>4</sup>).

**ÉTUDE DE LA RÉVERSION DE G0.** — Le mutant G0 est apparu sous forme d'un asque à 4 spores blanches, 4 spores brunes dans une descendance sauvage constituée d'asques à 8 spores brunes. Des descendants à spores blanches du mutant G0 ont été isolés après 1 ou 2 croisements successifs par la souche sauvage. G0 a été croisé par lui-même de 3 manières : le mutant d'origine a été croisé par un descendant de première génération, et les descendants de première et de seconde génération ont été chacun croisés entre eux. Dans la descendance de tous ces croisements parmi les asques à 8 spores blanches, quelques asques à 4 spores blanches : 4 spores colorées ont été observés. Leur fréquence a été estimée à 1 ‰ sur un effectif de 40 000 asques. Cette fréquence est très élevée si on la compare à la fréquence de réversion spontanée de plusieurs mutants induits du gène *b2* qui est inférieure à  $10^{-5}$  (<sup>5</sup>).

Dans les croisements de G0 par lui-même, les asques révertants (à spores colorées) sont aisément distinguables avant leur projection. On n'observe jamais plus d'un asque révertant par apothécie. Ceci suggère que la réversion s'effectue après la fécondation [voir (<sup>6</sup>) et (<sup>7</sup>) pour le cycle d'*Ascobolus*]. Le fait que les asques révertants présentent 4 spores colorées suggère en outre que la réversion précède la méiose. Par conséquent, les réversions semblent s'effectuer à un moment très précis du cycle et pourraient correspondre à des événements indépendants.

61 révertants ont été isolés et croisés par la souche sauvage afin de déterminer leur nature. Parmi la descendance à 8 spores colorées, un petit nombre de croisements fournissent des asques à 2 spores blanches, 6 colorées et/ou des asques à 1 spore blanche, 7 colorées avec une fréquence inférieure ou égale à 5 ‰ sur des échantillons supérieurs à 1 000. Sur une centaine de souches blanches issues d'asques différents et de croisements différents, aucune ne se révèle, à l'analyse, correspondre à G0 (sur la base des tests de réversion, de recombinaison et de leur spectre de conversion).

Parmi les 61 révertants étudiés, 44 donnent des asques à 8 spores brunes : leur phénotype de couleur de spore est indistinguishable du phénotype sauvage.

17 donnent des asques à 4 spores sauvages et 4 spores colorées nettement distinguables des sauvages. Ces 17 révertants à phénotype pseudo-sauvage se divisent en trois catégories : 9 éclatés, 6 ceinturés et 2 double-ceinturés (*Pl.*). Les croisements éclaté  $\times$  ceinturé donnent également une ségrégation 4 : 4. Cette ségrégation est peu nette quand on croise les double-ceinturés par les révertants des deux autres catégories. Ces phénotypes pseudosauvages sont visibles dès l'apparition des réversions dans la descendance des croisements de G0 par lui-même. On peut estimer à environ 10 % la fréquence des pseudo-sauvages parmi les réversions.

TABLEAU I  
*Spectre de conversion des mutants G0 et G1*

Croisements	Ségrégations <sup>(1)</sup>						Total
	4 : 4	6 : 2	2 : 6	5 : 3	3 : 5	4 : 4 ab <sup>(2)</sup>	
1..... <i>b2 G0 + <math>\times</math> ++</i>	4 956 (1/30) <sup>(3)</sup>	88 (0/7)	360 (0/9)	26 (2/6)	20 (3/8)	—	5 450
2..... <i>b2 G0 + <math>\times</math> + <i>rnd</i> 1</i>	9 586 (1/337)	209 (2/65)	577 (0/75)	18 (7/18)	15 (3/13)	7 (2/7)	10 411
3..... <i>b2 G1 + <math>\times</math> + <i>rnd</i> 1</i>	2 446	44	41	230	164	154	3 079

<sup>(1)</sup> Le nombre de spores blanches précède toujours le nombre de spores brunes dans l'écriture des ségrégations.

<sup>(2)</sup> Les nombres indiqués dans cette colonne correspondent aux ségrégations 3 : 3 : 1 : 1 pour le couple de marqueurs forme-couleur des spores : ils résultent de 4 : 4 aberrants pour le marqueur de couleur de spore <sup>(3)</sup>.

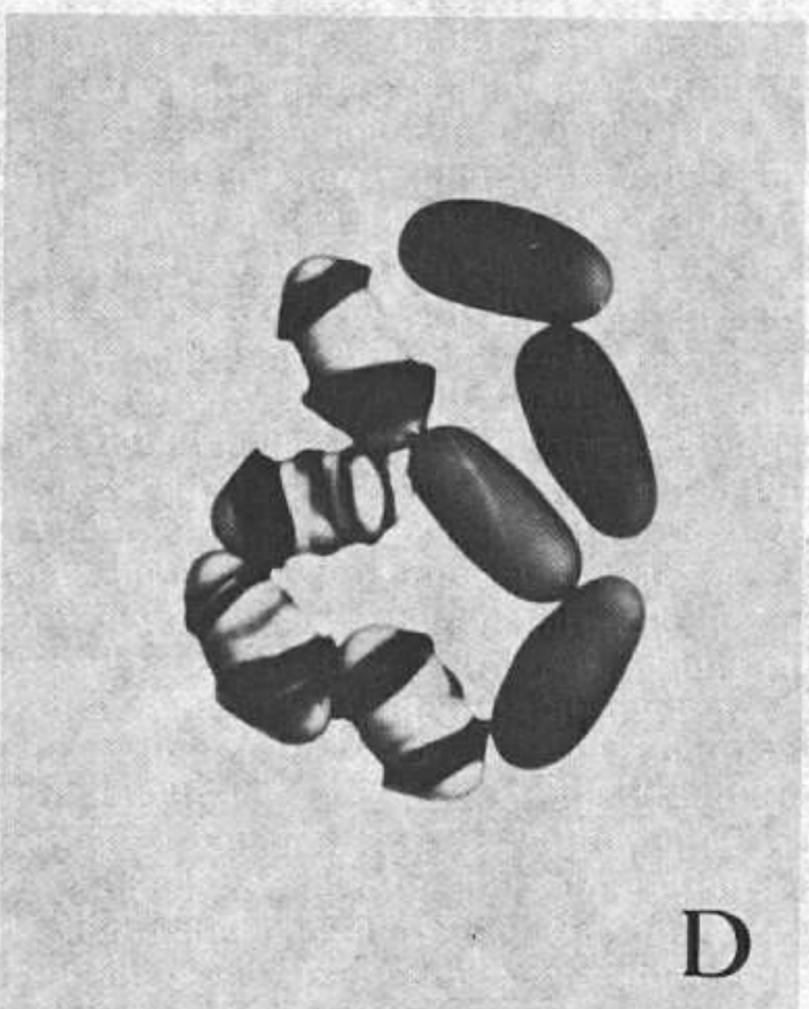
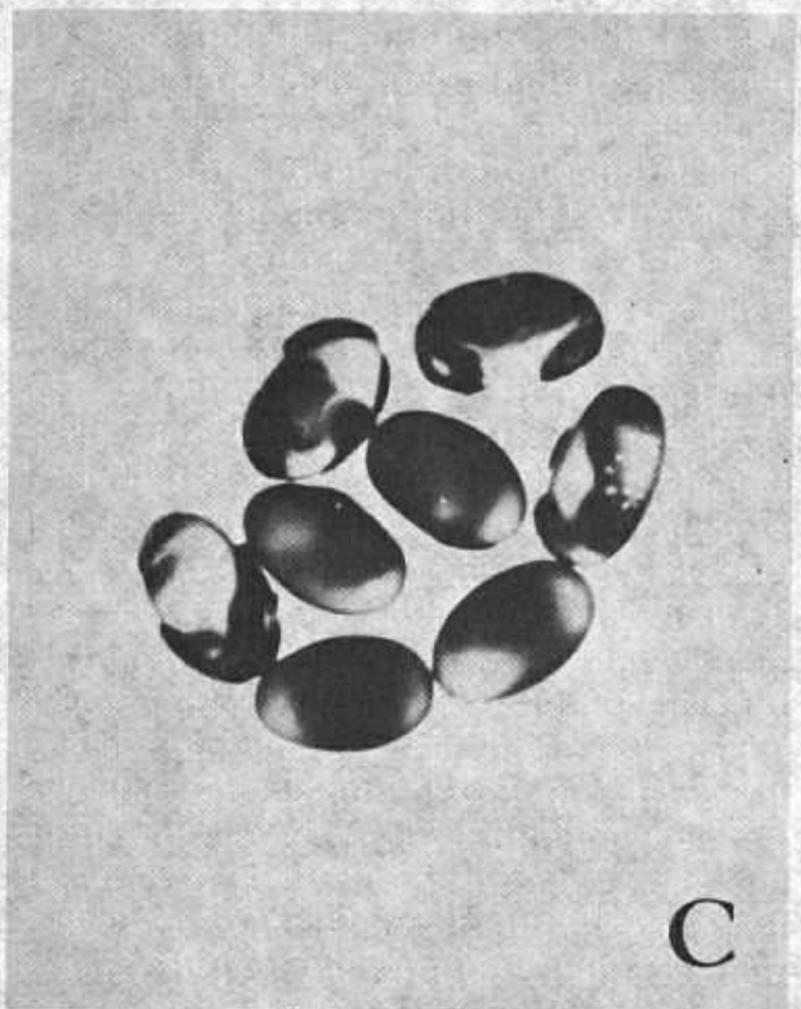
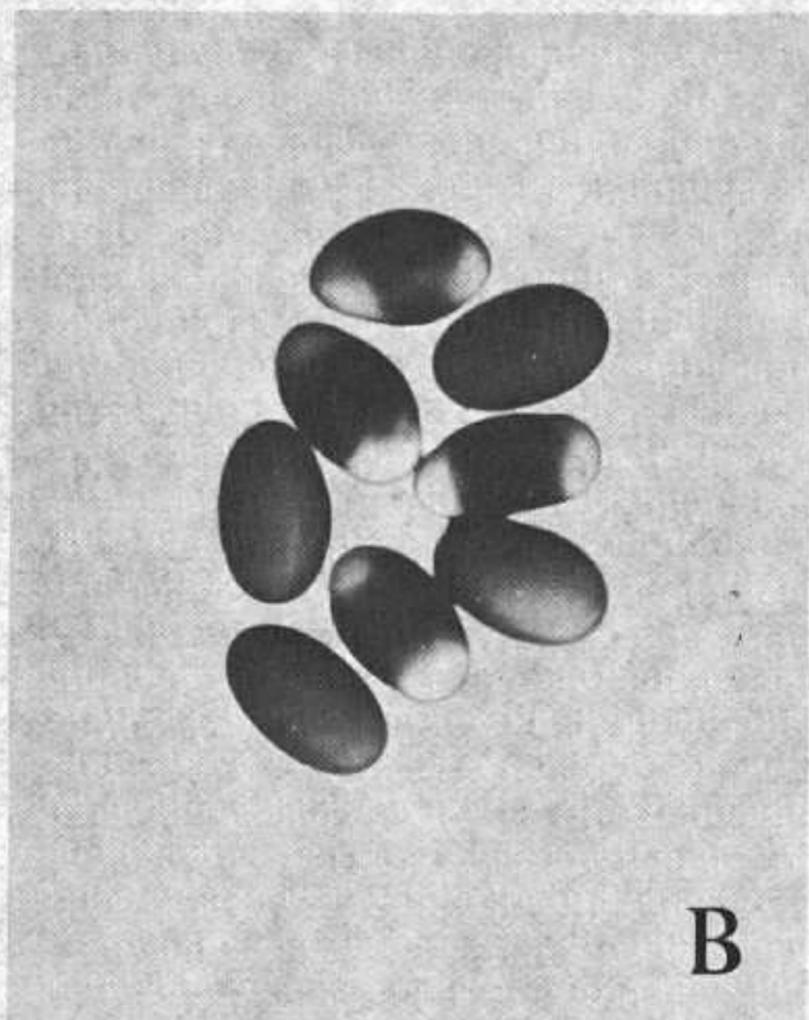
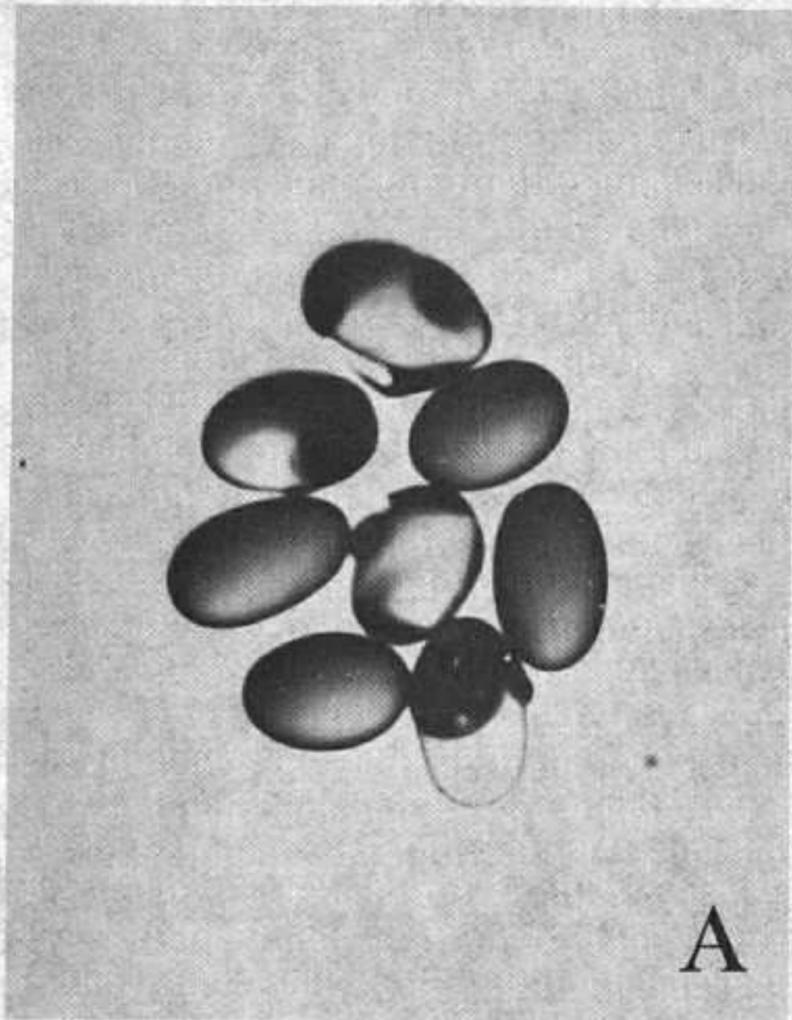
<sup>(3)</sup> Entre parenthèses sont indiqués les nombres d'asques dont les spores blanches sont G1, sur le nombre total d'asques analysés.

ANALYSE DU SPECTRE DE G0. — Le spectre de conversion de G0 a été établi dans son croisement par sauvage (tableau I-1). Ce spectre est différent de ceux observés chez les mutants spontanés ou induits <sup>(8)</sup>, pour lesquels trois types de spectres ont été définis : les spectres A et B se caractérisent par l'absence de ségrégation postméiotique (5 : 3 et 3 : 5); les spectres C comportent au contraire d'abondantes ségrégations postméiotiques (elles représentent toujours plus de 30 % des conversions). Dans le cas de G0 elles représentent moins de 10 % des conversions. Afin de vérifier que ces ségrégations postméiotiques reflètent bien l'existence de conversions et non de phéncopies ou de réarrangements de spores, 14 asques 5 : 3 ou 3 : 5 ont été analysés (tableau I-1). 5 de ces asques possèdent toutes leurs spores blanches différentes de G0 : croisées par sauvage, elles donnent un spectre très différent de celui de G0 (tableau I-3); elles ne recombinent pas avec G0 (sur 20 000 asques observés); elles ne réversent pas (sur 3.10<sup>5</sup> asques).

Cette nouvelle « mutation » a été appelée G1. Elle est stable à travers les générations. La descendance mutante des croisements G1  $\times$  sauvage présente toujours le spectre de G1 (dans 26 asques analysés).

#### EXPLICATION DE LA PLANCHE

Ségrégation des révertants à phénotype coloré différent du phénotype sauvage. A, éclaté  $\times$  sauvage; B, ceinturé  $\times$  sauvage; C, éclaté  $\times$  ceinturé; D, double-ceinturé  $\times$  sauvage.



Le passage de G0 par plusieurs générations ne modifie pas son comportement : toutes les souches G0 étudiées donnent des mutants de type G1, facilement isolables dans les ségrégations postméiotiques. Ceci indique que G0 est régulièrement transformé en la mutation G1. Cette transformation de G0 en G1 pourrait être une manifestation particulière de la haute fréquence de mutation de G0 vers d'autres génotypes. Dans ce cas, une fraction des noyaux G0 pourrait avoir muté vers G1 avant la méiose (ce qui expliquerait que toutes les spores blanches d'un même asque deviennent simultanément G1). Ces noyaux G1 seraient susceptibles de subir des conversions (tout comme dans le croisement G1 × sauvage), aboutissant en particulier à des ségrégations postméiotiques, ces dernières contribuant pour une large part aux ségrégations postméiotiques observées dans le spectre de G0.

TABLEAU II

*Caractéristiques des catégories de spectre de conversion  
obtenus dans les croisements des révertants à spores brunes par le mutant b2 G1*

PM (%)	<i>m/+</i>	FBC (‰)	Type de spectre	Effectif
84-98	0,5-3,0	121-210	C	5 <sup>(1)</sup>
15-52	0,4-2,3	120-185	C	19
0-2	0,05-0,14	125-190	A	12
0-2	10-21	100-150	B	5
0-5	0,4-1,55	35-140	-	8

(<sup>1</sup>) 5 spectres de conversion de G1 utilisant 5 souches sauvages de référence différente, et les 2 souches G1 impliquées dans les croisements *b2 G1* × révertants à spores brunes.

PM (%), pourcentage des ségrégations postméiotiques parmi les conversions.

*m/+*, rapport des conversions vers mutant aux conversions vers sauvage.

FBC (‰), fréquence de base des conversions  $\times 10^{-3}$ .

On prévoit dans cette hypothèse que des asques 4 : 4 (ou encore 6 : 2 ou 2 : 6) issus du croisement G0 × sauvage, puissent aussi contenir des spores G1. C'est pourquoi un échantillon des divers types d'asques obtenus dans la descendance du croisement de deux souches G0 distinctes par sauvage a été analysé. Des asques dont les spores blanches sont G1 ont été trouvés aussi bien parmi les ségrégations 4 : 4 et 6 : 2 que parmi les ségrégations 5 : 3 et 3 : 5 (tableau I). La proportion de noyaux G1 parmi les noyaux mutants qui participent à la méiose, dans l'hypothèse qui vient d'être proposée, a été estimée. On aboutit, pour les croisements 1 et 2, à respectivement 2 et 0,5 %.

ANALYSE DES RÉVERTANTS A SPORES BRUNES. — Les 44 révertants à spores brunes étudiés auparavant ont été croisés à G1. Le spectre de conversion a été établi dans chaque croisement. Dans aucun cas on n'a retrouvé le spectre de G1 obtenu dans le croisement de ce mutant par la souche sauvage. Les spectres établis dans ces croisements peuvent être classés en 4 catégories différentes (tableau II) 19 donnent de 15 à 50 % de ségrégations postméiotiques parmi les conversions. Les 25 autres n'en donnent pas ou très peu (jamais plus de 5 %) : 12 présentent un large excès de conversion vers sauvage (spectre A), 5 présentent un excès inverse (spectre B), 8 présentent une dissymétrie très faible.

Ainsi, sur le critère de leur spectre de conversion dans leur croisement par G1, les révertants à spores brunes manifestent 4 phénotypes révertants distincts, tous différents du

phénotype sauvage. Si l'on tient compte de ces 4 catégories de révertants, des révertants présentant les phénotypes ceinturés, double-ceinturé et éclaté et de G1, l'apparition de 8 phénotypes différents a été mise en évidence à partir de G0. Ces 8 phénotypes correspondent à au moins 8 génotypes différents.

Ces révertants présentent 3 propriétés communes : leur phénotype est stable à travers les générations ; on n'a jamais réisolé G0 dans la descendance de ces révertants par sauvage ; ils sont tous distincts de la souche sauvage. Ces faits signifient qu'il ne s'agit ni de phéno-copies, ni de supresseurs extragéniques, ni de révertants à génotype sauvage.

Ces révertants peuvent donc résulter de la mutation de supresseurs intragéniques, très étroitement liés à G0 ; ou bien encore ils proviennent de la transformation de G0 vers une forme homoallélique distincte de la souche sauvage.

2 hypothèses peuvent être avancées pour expliquer les phénomènes rapportés ici.

La région de G0 pourrait subir naturellement des modifications fréquentes conduisant à des mutations variées. Dans la mesure où peu de mutations ont été localisées dans cette région à partir des souches sauvages, il faudrait alors supposer que la présence de G0 permet de révéler ces mutations qui seraient silencieuses lorsqu'elles affectent le gène sauvage.

Alternativement, l'altération G0 elle-même pourrait être à l'origine des réversions observées ; par exemple, elle pourrait correspondre à une structure instable, susceptible de remaniements fréquents et variés.

(\*) Séance du 14 juin 1976.

(1) G. RIZET, N. ENGELMANN, C. LEFORT, P. LISSOUBA et J. MOUSSEAU, *Comptes rendus*, 270, série D, 1970, p. 2050.

(2) P. LISSOUBA, J. MOUSSEAU, G. RIZET et J.-L. ROSSIGNOL, *Advanc. Genet.*, 11, 1962, p. 343-380.

(3) C. YU-SUN, *Amer. J. Bot.*, 51, 1964, p. 231-237.

(4) J. GIRARD et J.-L. ROSSIGNOL, *Genetics*, 76, 1974, p. 221-243.

(5) G. LEBLON, *Molec. Gen. Genet.*, 116, 1972, p. 322-335.

(6) H. JUPIN, *D.E.S.*, Faculté des Sciences d'Orsay, 1965.

(7) D. ZICKLER, *Thèse Doct. ès Sciences*, Université Paris-Sud, centre d'Orsay, 1973.

(8) G. LEBLON, *Molec. Gen. Genet.*, 115, 1972, p. 36-48.

(9) N. PAQUETTE (en préparation).

*Laboratoire de Génétique  
de la Faculté des Sciences d'Orsay,  
Université Paris XI et L.A. 86 du C.N.R.S.,  
91405 Orsay Cedex.*