

Institut Royal Colonial Belge

SECTION DES SCIENCES NATURELLES
ET MÉDICALES

Mémoires. — Collection in-8°.
Tome XII, fasc. 2.

Koninklijk Belgisch Koloniaal Instituut

AFDEELING DER NATUUR-
EN GENEESKUNDIGE WETENSCHAPPEN

Verhandelingen. — Verzameling
in-8°. — T. XII, afl. 2.

LA
BIOCHIMIE DES MOISSURES
VUE D'ENSEMBLE

APPLICATION
A DES SOUCHES CONGOLAISES D'*ASPERGILLUS*
DU GROUPE « *NIGER* » THOM ET CHURCH

PAR

R. BASTIN

Ingénieur chimiste, Ingénieur brasseur,
Licencié en Botanique.

Chimiste au Laboratoire de Recherches chimiques et onialogiques
du Congo belge, à Tervueren.



BRUXELLES

Librairie Falk fils,
GEORGES VAN CAMPENHOUT, Successeur,
22, rue des Paroissiens, 22.

BRUSSEL

Boekhandel Falk zoon,
GEORGES VAN CAMPENHOUT, Opvolger,
22, Parochianenstraat, 22.

1942

LISTE DES MÉMOIRES PUBLIÉS

COLLECTION IN-8°

SECTION DES SCIENCES MORALES ET POLITIQUES

Tome I.

- PAGÈS, le R. P., *Au Ruanda, sur les bords du lac Kivu (Congo Belge). Un royaume hamite au centre de l'Afrique* (703 pages, 29 planches, 1 carte, 1933) . . . fr. 125 »

Tome II.

- LAMAN, K.-E., *Dictionnaire kikongo-français* (XCIV-1183 pages, 1 carte, 1936) . . . fr. 300 »

Tome III.

1. PLANQUAERT, le R. P. M., *Les Jaga et les Bayaka du Kwango* (184 pages, 18 planches, 1 carte, 1932) . . . fr. 45 »
2. LOUWERS, O., *Le problème financier et le problème économique au Congo Belge en 1932* (69 pages, 1933) . . . fr. 12 »
3. MOTTOULLE, le Dr L., *Contribution à l'étude du déterminisme fonctionnel de l'industrie dans l'éducation de l'indigène congolais* (48 pages, 16 planches, 1934) . . . fr. 30 »

Tome IV.

MERTENS, le R. P. J., *Les Ba dzing de la Kamtsha :*

1. Première partie : *Ethnographie* (381 pages, 3 cartes, 42 figures, 10 planches, 1935) . . . fr. 60 »
2. Deuxième partie : *Grammaire de l'Idzing de la Kamtsha* (XXXI-388 pages, 1938) . . . fr. 115 »
3. Troisième partie : *Dictionnaire Idzing-Français suivi d'un aide-mémoire Français-Idzing* (240 pages, 1 carte, 1939) . . . fr. 70 »

Tome V.

1. VAN REETH, de E. P., *De Rol van den moederlijken oom in de inlandsche familie* (Verhandeling bekroond in den jaarlijkschen Wedstrijd voor 1935) (35 bl., 1935) . . . fr. 5 »
2. LOUWERS, O., *Le problème colonial du point de vue international* (130 pages, 1936) . . . fr. 20 »
3. BITTREMIEUX, le R. P. L., *La Société secrète des Bakhimba au Mayombe* (327 pages, 1 carte, 8 planches, 1936) . . . fr. 55 »

Tome VI.

- MOELLER, A., *Les grandes lignes des migrations des Bantous de la Province Orientale du Congo belge* (578 pages, 2 cartes, 6 planches, 1936) . . . fr. 100 »

Tome VII.

1. STRUYF, le R. P. I., *Les Bakongo dans leurs légendes* (280 pages, 1936) . . . fr. 55 »
2. LOTAR, le R. P. L., *La grande chronique de l'Ubangi* (99 pages, 1 figure, 1937) . . . fr. 15 »
3. VAN CAENEGHEM, de E. P. R., *Studie over de gewoontelijke strafbepalingen tegen het overspel bij de Baluba en Ba Lulua van Kasai* (Verhandeling welke in den Jaarlijkschen Wedstrijd voor 1937, den tweeden prijs bekomen heeft) (56 bl., 1938) . . . fr. 10 »
4. HULSTAERT, le R. P. G., *Les sanctions coutumières contre l'adultère chez les Nkundó* (Mémoire couronné au Concours annuel de 1937) (53 pages, 1938) . . . fr. 10 »

Tome VIII.

- HULSTAERT, le R. P. G., *Le mariage des Nkundó* (520 pages, 1 carte, 1938) . . . fr. 100 »

LA
BIOCHIMIE DES MOISSURES
—
VUE D'ENSEMBLE
—

APPLICATION
A DES SOUCHES CONGOLAISES D'*ASPERGILLUS*
DU GROUPE « *NIGER* » THOM ET CHURCH

PAR

R. BASTIN

Ingénieur chimiste, Ingénieur brasseur,
Licencié en Botanique,
Chimiste au Laboratoire de Recherches chimiques et onialogiques
du Congo belge, à Tervueren.

Mémoire présenté à la séance du 15 juillet 1939.

LA
BIOCHIMIE DES MOISSURES
VUE D'ENSEMBLE

APPLICATION
A DES SOUCHES CONGOLAISES D'*ASPERGILLUS*
DU GROUPE "*NIGER*" THOM ET CHURCH

PREMIÈRE PARTIE

INTRODUCTION.

Le Laboratoire de Recherches chimiques et onialogiques du Congo belge, à Tervueren, s'est adjoint une section de biochimie cryptogamique. Décision prise à propos, vu que cette branche de la science prend un grand développement et que notre organisme possède, en tant qu'institution officielle, la pérennité de l'existence, garantie avant tout indispensable pour la création, l'entretien, l'enrichissement d'une mycothèque.

En effet, l'étude des moisissures a révélé toute l'importance qu'elles prennent en regard des concepts théoriques de fermentation et des possibilités techniques.

Aujourd'hui, qu'après de longs efforts qui déjà se répartissent sur cinq années, une collection très importante de microorganismes *d'origine en grande partie congolaise* (voir p. 84) a été mise sur pied, il convenait d'en aborder l'étude sous la forme d'un premier inventaire.

Les essais du début furent entrepris de manière qu'ils puissent permettre de tracer à grands traits la « physiologie chimique » du plus grand nombre possible de souches, compte tenu du temps et des moyens réduits dont nous disposons. Les résultats ne se firent guère attendre et nous avons repéré déjà plusieurs souches de grand intérêt pour la production d'acide citrique et déterminé au surplus certaines conditions optimales.

Comme nous entreprendrons de l'exposer à grands traits par la suite, les microorganismes, par le phénomène général de fermentation dont ils sont le siège, provoquent la désintégration biochimique des hydrates de carbone, généralement fournis, et notamment du glucose.

Ce n'est pas à dire que sous le « choc » des agents cellulaires oxydo-réducteurs et diastatiques, la molécule du glucose soit pulvérisée, sans qu'au préalable les données physico-chimiques du système fermentatif, s'ajoutant à celles du ferment, n'établissent un plan net de destruction par phases successives. Ce qui est vrai, — quelles que soient les thèses qui s'affrontent, — c'est que le « décollement » des parties de la molécule de glucose s'opère en quelque sorte suivant des plans de clivage privilégiés.

Ce qui constitue, dès lors, la grande diversité des fermentations, c'est que les débris peu nombreux de la dislocation primitive peuvent se regrouper en partie; instables et réactionnels par nature, ils sont facilement l'objet de condensations. C'est ainsi que la phylogénie de nombreux produits de fermentation permet de remonter à coup sûr à un ancêtre commun. Le biochimiste assiste à l'élaboration de composés organiques parfois complexes, la plupart nouveaux pour la chimie et dont celle-ci est parfois bien en peine de réaliser la synthèse. Raistrick et ses collaborateurs ont isolé de la sorte plus de 60 produits de métabolisme fongiens, jamais préparés au laboratoire. Ils témoignent de l'aisance et de la virtuosité suprêmes — qui ne

sont données qu'à la vie — avec lesquelles évolue le chimisme interne, comparable en mieux aux rouages très ajustés d'une mécanique silencieuse.

CHAPITRE I.

IMPORTANCE DE L'ÉTUDE BIOCHIMIQUE DES MOISSURES.

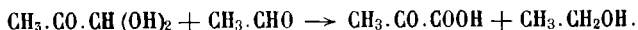
§ 1. Importance théorique.

Le mode de vie des moisissures, du moins dans leur phase d'anoxybiose (ou d'anaérobiose) provoquée ou non, s'apparente-t-il au grand schéma général de la fermentation alcoolique tel qu'il nous est connu actuellement par les travaux des Harden, des Pasteur, des Neuberg, des Kluyver, des Meyerhof, pour ne nous arrêter qu'à quelques noms ?

Les éthers phosphoriques, sans la présence desquels le mécanisme de la fermentation alcoolique est irrémédiablement bloqué, jouent-ils le même rôle prééminent dans toutes les fermentations ?

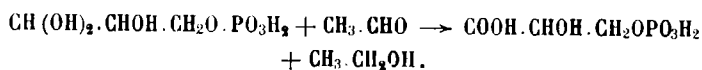
L'acétaldéhyde produite par beaucoup de moisissures et que nous pensons être l'ultime accepteur d'hydrogène dans la fermentation alcoolique normale, autorise-t-elle à formuler par exemple l'existence d'un état de similitude foncière entre toutes les fermentations — levurienne, bactérienne, mucédiniennne — et cela en dépit de l'immense variété des formes ?

Déjà, pour KLUYVER, dès 1926 (1, 2), l'aldéhyde acétique par dismutation ⁽¹⁾ avec l'hydrate de méthylglyoxal donne l'alcool



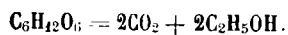
(1) « Dismutation » signifie l'oxydo-réduction intermoléculaire de deux aldéhydes (terme employé couramment par les auteurs).

Dès 1934, le méthylglyoxal cesse d'être considéré comme le pivot de la fermentation alcoolique. En effet, Meyerhof démontre qu'il procède d'une décomposition purement chimique d'un véritable produit intermédiaire celui-là, à savoir l'acide triose-phosphorique. Il n'en reste pas moins vrai que dans le schéma de MEYERHOF (3, 4), c'est de nouveau l'aldéhyde acétique qui, par dismutation avec l'aldéhyde glycérophosphorique cette fois, fournit l'acide glycérophosphorique et l'alcool :



Toutes les fermentations, à quelque endroit que nous les trouvions chez les microorganismes de toute nature, pourraient bien avoir l'origine commune que nous supposons.

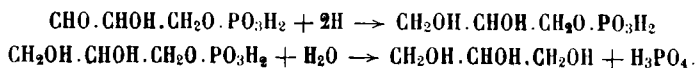
α) Pour la levure même, l'équation théorique de Gay-Lussac ne se réalise jamais :



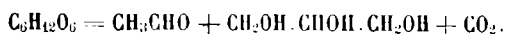
On sait fort bien que le glycérol accompagne régulièrement l'alcool, en petites quantités. Mais, artificiellement, on peut dévier fortement une fermentation alcoolique normale.

a) Il est possible de la rendre GLYCÉRINEUSE par addition de sulfite neutre dont l'effet est de « bloquer » l'acétaldéhyde transitoirement formée, l'acide triose-phosphorique se substituant dès lors à l'acétaldéhyde comme accepteur d'hydrogène.

L'hydrolyse de l'acide α-glycéro-phosphorique formé, libère ensuite le glycérol :



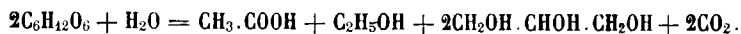
L'équation globale de fermentation est la suivante :



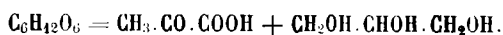
b) On peut la rendre partiellement ACÉTIQUE par alcalinisation légère du milieu. Les conditions deviennent alors optimales pour la dismutation de l'aldéhyde en alcool et acide acétique par réaction de Cannizzaro :



L'acétaldéhyde, à nouveau dans l'impossibilité de jouer son rôle d'accepteur d'hydrogène, celui-ci va se fixer sur deux molécules d'acide triose-phosphorique pour donner deux molécules de glycérol. L'équation globale se traduit dès lors :



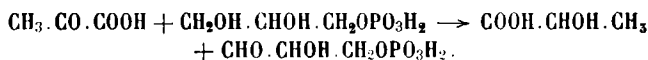
c) On l'oriente dans la voie de la production de l'acide PYRUVIQUE par le choix d'une dose convenable de levure, par une limitation judicieuse de la période de fermentation, par la fixation du pH à une valeur légèrement acide (pH entre 6 et 7). Sous ces nombreuses conditions, la décarboxylation de l'acide pyruvique en aldéhyde est inhibée. Une fois encore, l'aldéhyde qui normalement sert d'accepteur d'hydrogène n'étant pas formée ici, l'hydrogène se reporte sur un autre accepteur, à savoir l'acide triose-phosphorique qui par la chaîne de réactions déjà donnée libère le glycérol :



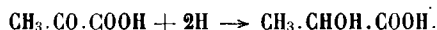
β) Les fermentations microbiennes paraissent également relever du même processus fondamental de la fermentation alcoolique. La phase commune pourrait bien atteindre le stade pyruvique (ou aldéhydique). L'acide phosphorique y jouerait le même rôle prédominant (5).

a) Dans la fermentation LACTIQUE, la chaîne de réactions s'arrête au stade pyruvique. Cet acide subit une dismutation avec une molécule d'acide α-glycérophosphorique et est réduit en acide lactique, tandis que l'acide

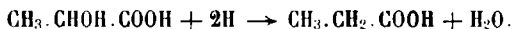
α -glycérophosphorique est réoxydé en acide triose-phosphorique, comme il est prouvé à l'aide de NaF :



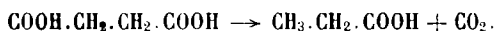
ou, plus succinctement,



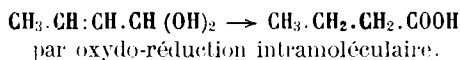
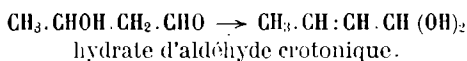
b) La fermentation PROPIONIQUE ne serait qu'une modalité de la fermentation lactique, constituée par la réduction de l'acide lactique (hypothèse de van Niel) en acide propionique :



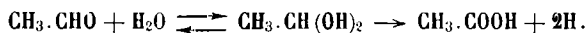
Pour Wood, Stone et Werkman, cependant, il provient de l'acide succinique par décarboxylation :



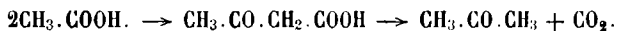
c) Dans la fermentation BUTYRIQUE, l'acide butyrique s'obtiendrait par aldolisation de l'aldéhyde (Donker) :



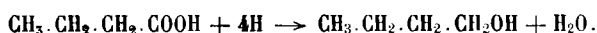
d) Dans la fermentation ACÉTIQUE, l'aldéhyde acétique, par réaction de Wieland, donnerait l'hydrate dont deux hydrogène se trouvent activés :



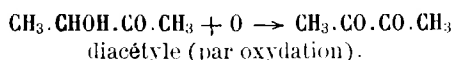
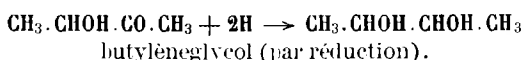
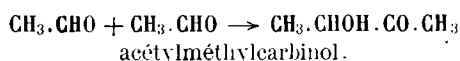
e) Dans la fermentation ACÉTONIQUE, il se produirait au préalable de l'acide acétique. Par condensation de deux molécules de celui-ci, il se formerait de l'acide acétylacétique qui, sous l'effet de l'agent oxydo-réducteur, serait décarboxylé en acétone :



f) Dans la fermentation BUTYLIQUE qui se présente souvent sous forme de fermentation mixte ACÉTO-BUTYLIQUE, l'acide butyrique formé est réduit en alcool butylique.



g) L'acétaldéhyde, nous la retrouverions encore lors de l'édification de l'ACÉTYLMÉTHYLCARBINOL, du BUTYLÈNE-GLYCOL et du DIACÉTYLE, qui donne son arôme au beurre.



Les hypothèses deviennent des plus hasardeuses si l'on s'efforce d'expliquer la genèse des composés les plus usuels des moisissures, comme par exemple, les acides organiques ou les produits cycliques.

On pourrait s'étonner d'entendre parler fermentation à propos de moisissures, la plupart d'entre elles étant des aérobies obligés. Mais, d'une part, les processus de métabolisme paraissent comporter chez tout être vivant une phase anoxybiotique (ou d'anaérobiose). D'autre part, les oxydations biochimiques, n'ayant rien de comparable à une combustion brutale, il est possible de provoquer une insuffisance respiratoire chez la moisissure par l'établissement de milieux de culture déséquilibrés. L'oxygène a beau être là, il n'est pas plus utilisable qu'un gaz inerte; il ne peut prendre part aux phénomènes oxydo-réducteurs, du moins avec l'ampleur connue en oxybiose (ou aérobiose), jusqu'à réduire finalement le sucre en anhydride carbonique et eau avec libération maximale d'énergie pour la croissance. C'est alors que tous les produits intermédiaires d'oxydation peuvent apparaître (témoin les acides organiques), ou d'autres substances qui sont les formes stabilisées d'accepteurs d'hydrogène en place de l'oxygène

absent ou inutilisable, ou bien encore des pigments et des composés flaviniques dont la genèse demeure obscure à l'égal souvent de leur rôle physiologique.

L'aldéhyde acétique détectée dans certains liquides de métabolisme de moisissures, même dans le cas de non-fixation au sulfite, éveille bien l'idée de cette phase anoxybiotique, mais il reste toujours à déterminer l'éventuelle universalité des réactions primitives et à préciser leur nature.

§ 2. Importance pratique.

L'industrie biochimique utilisant les moisissures n'a fait que s'épanouir depuis qu'en France, vers le milieu du XIX^e siècle, la fermentation gallique prenait son essor industriel (6). Ne relevons comme exemple, mais combien impressionnant, certes, que la fabrication d'acide citrique. Aux États-Unis, en 1929, plus de 5.000 tonnes évaluées à 4.500.000 dollars furent produites en ordre principal par voie biochimique (7). Au Japon, 20 tonnes d'acide citrique sont produites par mois suivant le même procédé alors que jusqu'ici les industries chimiques et pharmaceutiques devaient importer la totalité de cet acide (8). Pour ce qui concerne l'Allemagne, l'acide de fermentation devait y être produit sous peu à grande échelle; deux firmes ayant décidé, après un travail en commun d'une année dans une fabrique d'essais, de construire chacune une vaste installation de manière à subvenir aux besoins du pays, l'importation de citrate de Ca s'avérant trop onéreuse (9). La Belgique, qui a montré la voie en ce domaine, produisait en 1938, 22 tonnes d'acide de fermentation par jour (10). Les offres du marché actuel sont déjà des plus variées : acide citrique, acide gallique, acide fumarique, acide gluconique, mannitol, α -hydroxyanthraquinone, diastases, stérols, etc.

Rappelons que les fromages du groupe Camembert-Brie

doivent leur cachet à l'action protéolytique du *Penicillium camemberti*, ceux du type Roquefort au *Penicillium roqueforti*.

Notons aussi qu'en période économique difficile, des graisses peuvent être obtenues par l'action des *Endomyces vernalis* et *Oïdium lactis* sur les hydrates de carbone (11).

Dans la préparation de certaines boissons fermentées du type Koji asiatique interviennent, avec prépondérance, certaines moisissures du genre *Aspergillus*. Le rendement en alcool de certaines espèces de *Fusarium* ne le cède en rien aux meilleures races de levures et pourraient leur être substituées avec succès, plus particulièrement pour la transformation de produits résiduels.

Marquons la diversité des produits susceptibles d'application technique en signalant l'utilisation qui peut être faite de mucilages élaborés par des moisissures. Il est possible d'en fabriquer des adhésifs ou des colles (*Oïdium lactis*, *Oïdium pullulans*, *Monilia candida*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor racemosus*, *Penicillium guttulosum*) et même du cuir artificiel par tannage de membranes constituées par du *Mucor Boidin* (12).

Dans le domaine agronomique, les moisissures jouent un rôle important dans la fertilité des sols. Comme le constate WAKSMAN (13), 6,2 à 7,1 % de la flore microscopique du sol sont constitués par les moisissures — soit 400.000 à 1.100.000 par gramme de sol — à la profondeur de 2,54 cm. (1 inch); 7,9 à 11,7 % à la profondeur de 10 cm. Le rapport bactéries/moisissures s'est montré 10/1 pour sols de jardins, vergers, prairies, alors qu'en sol forestier il s'élève à 5-6/1, et parfois le sol forestier contient presque autant de moisissures que de bactéries, spécialement quand le milieu est légèrement acide. Les moisissures sont surtout actives dans l'ammonisation des sols; le *Trichoderma Koningi* (une forme très commune des sols) est remarquable à cet égard.

En technique pédologique, signalons encore le recours

au *Sterigmatocystis nigra* pour l'appréciation du phosphore assimilable des terres et peut-être aussi de la potasse (14). MULDER propose une méthode de dosage du Cu dans les sols, basée sur la sporulation et l'état de coloration des spores d'*Aspergillus niger* (15). Notons, cependant, que si le Cu stimule la formation du pigment des spores d'*Aspergillus niger*, il n'a que peu d'effet sur l'*Aspergillus oryzae*, YOSHIMURA (16).

CHAPITRE II.

PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE DES MOISSISSURES.

L'ère de l'étude biochimique des moisissures s'ouvre vraiment avec les travaux classiques de Wehmer sur la production d'acide oxalique par les moisissures, en 1891.

L'eau et le CO₂ étaient considérés jusque-là comme à peu près les seuls produits de métabolisme, à l'exception bien entendu de la matière vivante complexe. La technique féconde des milieux « déséquilibrés » n'était pas encore introduite.

Privées des transformateurs de l'énergie solaire que sont les chloroplastes, les moisissures doivent puiser leur énergie de croissance et d'entretien dans des composés de carbone appropriés, de préférence des sucres. Ne se livrant à aucune spécialisation de tissus, se reproduisant de préférence végétativement, — par conidies, oïdies, chlamydospores, — présentant une surface d'absorption qui se développe de conserve avec le poids de substance vivante, les moisissures apparaissent en fait comme une forme biologique d'envahissement très puissante. On serait même tenté d'écrire que, spécialisées pour l'envahissement du milieu, elles dédaignent d'organiser des tissus ou de se reproduire d'après un mode sexuel impliquant plus de soins.

Le mécanisme de croissance paraît, dès lors, amoindrir celui de reproduction.

De culture aisée en milieux synthétiques simples de composition connue, les moisissures constituent le réactif vivant de premier choix pour beaucoup d'essais physiologiques et biochimiques. Mais pourra-t-on jamais arrêter les limites du champ où l'influence individuelle de la souche expérimentée cesse de perturber le résultat final d'analyse ? Là, réside l'écueil de toute étude biologique. L'établissement de conclusions à portée plus ou moins générale devra reposer sur un ensemble suffisant de souches visiblement apparentées, ce qui n'est pas tout. Il se fait même presque toujours que des espèces identiques pour le systématicien pur se révèlent, dans un même milieu de culture, biochimiquement très différentes, parfois plus différentes que le seraient des types irréductibles, éloignés naturellement dans la classification botanique.

Ainsi l'acide kojique est produit par une souche d'*Aspergillus flavus* et pas par une autre de la même espèce; le même cas s'est présenté pour le *Penicillium Daleae* ZALESKI et pour le même acide. L'énumération des seuls caractères morphologiques ne peut donc en rien faire préjuger du comportement biochimique d'une souche, il faut l'expérimenter. Par suite même de causes qui nous sont absolument inconnues, une souche bien déterminée et dont on aurait pu croire à la fixité est capable de perdre, — sans cause apparente, — le pouvoir de produire une substance qui lui était caractéristique : ainsi en fut-il de l'*Aspergillus fumaricus* WEHMER. Que conclure ? A la nécessité d'entreprendre en principe l'étude de toutes les souches isolées, appartiendraient-elles à une même espèce reconnue. Sous la fixité relative des formes typiques de l'espèce peut se cacher une grande variabilité du métabolisme cellulaire qui conduit à faire admettre l'existence des « races chimiques ».

Comme le fait remarquer ANDERSON (17), la fermentation bactérienne diffère de trois manières de celle provoquée par les moisissures quant à la nature des produits obtenus :

I. Les moisissures produisent peu ou pas d' H_2 et de CH_4 , alors que l' H_2 est produit fréquemment par les bactéries — le CH_4 demeure un produit exceptionnel de fermentation.

II. Les moisissures produisent en abondance les acides non volatils et relativement peu d'acides volatils. Si les acides volatils apparaissent au cours du métabolisme des moisissures, c'est en général à titre de composés labiles. La preuve est établie que les acides volatils sont plus rapidement attaqués que les sucres. Les bactéries, d'autre part, produisent de grandes quantités d'acides volatils : acétique, propionique, butyrique ou partiellement entraînable : lactique.

III. Les moisissures présentent une gamme plus étendue de produits de métabolisme que les bactéries. Les composés cycliques voisinent avec les composés aliphatiques en marge de la matière vivante édifiée d'une manière encore très obscure pour nous.

§ 1. Milieux de culture.

Nous en distinguerons de deux sortes : les milieux équilibrés et les milieux déséquilibrés.

a) Les milieux équilibrés, dont le prototype est celui de Raulin, renferment un hydrate de carbone assimilable à côté de divers sels minéraux en proportion telle que le rendement en substance vivante atteint son maximum. De tels milieux conviennent de préférence pour l'isolement.

b) Les milieux déséquilibrés intéressent davantage le chercheur et le technicien. La méthode consiste en général

à réaliser la pénurie d'éléments ou de composés indispensables à la croissance ou, au contraire, de les fournir à doses massives de manière à créer des conditions anormales de vie. On réussit le plus souvent de cette manière à restreindre les échanges respiratoires, à placer la moisissure en état de réelle asphyxie. Elle agit dès lors pour une bonne part comme ferment anaérobie, n'oxydant que partiellement le glucose et abandonnant parfois au milieu de culture des pigments à très grande réductibilité.

A. — APPORT MINÉRAL.

2) ÉLÉMENTS PLASTIQUES. — Leur présence est indispensable à doses relativement fortes; ce sont plutôt des éléments nutritifs que catalytiques.

Le milieu classique de RAULIN (18) contient du soufre, du phosphore, du magnésium, du potassium, mais certains autres éléments comme le zinc et le fer doivent être fournis pour obtenir le maximum de substance sèche.

L'exigence des moisissures en calcium est loin d'être uniforme. Les levures, le *Trichophyton interdigitale* (19) semblent le requérir; certaines moisissures apparemment pas. D'autres recherches indiqueraient que le calcium agit favorablement dans beaucoup de cas, bien que son absolue nécessité ne soit pas démontrée, STOEß (20). Bref, l'étude générale du rôle du calcium est encore à faire.

Quant au magnésium, quoique favorable à la croissance d'*Aspergillus niger*, il ne lui serait pas indispensable, ROSSI et SCANDELLARI (21). Il faut noter que la carence magnésienne provoque la formation de lactoflavine chez l'*Aspergillus niger* VAN TIEGH. Deux formes intermédiaires entre Phycomycètes et Ascomycètes, à savoir l'*Ashbya Gossypii* et l'*Eremothecium Ashbyi*, l'accumulent à l'état cristallin dans les filaments ayant terminé leur croissance, où tout glycogène a disparu (22). L'*Aspergillus niger*, organisme aérobie exempt de lactoflavine en milieu cor-

rectement équilibré, réalise donc la synthèse de ce pigment en cas d'insuffisance de magnésium, manifestant de la sorte un comportement tout autre de ses oxydations cellulaires. Mais, d'autre part, l'*Eremothecium Ashbyii* constitue un exemple typique de microorganisme producteur de riboflavine en aérobiose (23).

Un phénomène analogue de pigmentation avait été déjà remarqué par MOLLIARD (24), chez l'*Aspergillus niger* (*Substerigmatocystis nigra*). Si l'on abaisse le taux du potassium dans de fortes proportions, la sporulation cesse d'avoir lieu et le liquide jaunit intensément. Le potassium est absolument indispensable dès les premières heures de la croissance. Il exercerait une action catalytique élective sur la synthèse des celluloses, mais contrecarrerait la synthèse des lipides. Le métabolisme des nitrates n'en serait pas affecté, KAUFFMANN-COSLA et BRULL (25).

De son côté, le phosphore est rigoureusement nécessaire à la croissance. Il permet et stimule le phénomène respiratoire.

Les acides citrique et oxalique apparaissent toujours dans les cultures de *Sterigmatocystis nigra*, où la quantité de phosphore est insuffisante. Les sucres seraient utilisables par son intermédiaire sous forme d'esters phosphoglucidiques et il étendrait son influence favorable à tout le système des diastases.

β) ÉLÉMENTS BIOCATALYTIQUES. — Ils sont indispensables à l'état de traces, mais nocifs à dose élevée. Les recherches modernes — avec les méthodes de haute purification des réactifs qu'elles exigent — font apparaître que la vie est tenue en haleine par l'action d'innombrables éléments catalyseurs, parmi lesquels figurent en bonne place des métaux lourds ou rares. Mais notre connaissance à cet égard est purement descriptive et le mécanisme de l'action de ces ions métalliques nous échappe. Insistons sur le rôle qu'ils exercent dans l'apparition des pigments fongiques.

La nécessité vitale du zinc et du fer chez l'*Aspergillus niger* est déjà notée par RAULIN en 1869 (18). Depuis que les auteurs s'employèrent à la purification des milieux de culture de toutes traces de métaux lourds, il est apparu que le Zinc, le Fer (26), le Cuivre (27), le Manganèse (28, 29), le Molybdène (30) et le Gallium (31), tout en étant requis pour le maximum de croissance sont indispensables à celle-ci. De plus, STEINBERG (31), ayant opéré sur 76 éléments, a démontré que seuls sont nécessaires à l'*Aspergillus niger* les six éléments précités.

Pour chacune des activités métaboliques des moisissures, — qu'il s'agisse de la production de graisses, d'acides ou de pigments, — les métaux interviennent à coup sûr et nous aurons à passer leur action en revue.

A cette place nous désirons toutefois signaler plus particulièrement quelques faits relevant de la physiologie et de la morphologie générales.

I. L'*Aspergillus niger* constitue un réactif de choix du zinc et du manganèse. Le poids de sa substance sèche, en effet, double en présence de 0,001 mgr. de Zn par litre (32), et sa croissance est fortement accrue par 0,0001 mgr. de Mn au litre (33).

La sporulation et la pigmentation des spores se trouvent sous l'étroite dépendance des mêmes éléments.

Selon le degré de carence en cuivre, les spores d'*Aspergillus niger* apparaissent avec des tons dégradés allant du noir au jaune-brun et au jaune (15); l'apparition des premières spores d'*Aspergillus niger* réclame, par exemple, au moins 0,2 γ de Cu par 250 cc. de milieu (27).

Selon LOHMAN (34), la croissance de l'*Aspergillus niger* est maximale pour deux concentrations de $ZnSO_4$, l'une de 0,8 mgr. %, l'autre de 130 mgr. %.

A fortes concentrations d'autre part, les métaux n'inhibent pas toujours la croissance et même le développement des moisissures.

Telle espèce isolée d'une solution cuivrique — le *Citromyces cupricum* MUSQUIN et ESTIENNE — parvient à pousser sur les milieux de culture habituels, même sursaturés de CuSO_4 cristallisé, soit $\pm 33\%$ (35). Telle autre, le *Penicillium lilacinum* THOM, est retirée d'un bain électrolytique de nickelage.

Les milieux d'acidité variable constituent par excellence des sortes de cribles physiologiques pour l'isolement d'espèces à l'état pur. C'est ainsi qu'une moisissure, non encore identifiée, est isolée d'un bain acide de cuivrage électrolytique. Elle peut se maintenir et se reproduire dans une solution saturée de Na_2SO_4 contenant jusqu'à 6,8 % d' H_2SO_4 (36).

Le *Penicillium purpurogenum* est retiré d'une solution d' H_3PO_4 à 0,5 % (37). Reprenant l'idée de Mazé et Perrier, nous avons obtenu d'emblée à l'état pur une moisissure végétant sur une solution saturée d'acide succinique.

On doit donc bien admettre, malgré tout, une sélection pour « certains substrata », mais elle n'est pas fréquente (38). Ajoutons : elle en est plus précieuse.

II. L'action des métaux lourds peut retentir également sur la morphologie des moisissures, ainsi qu'en témoigne la présence de cellules spéciales sphériques, à granulation amyloïde, dans les hyphes d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus oryzae* (39, 40). De fortes concentrations en zinc amènent la vacuolisation du mycélium et une ramification plus touffue (41). De nombreux cas tératologiques dus au manganèse sont rapportés par YOSHIMURA (16) sur des *Aspergillus* : deux ou trois conidies par stérigmate, ampoules sans stérigmate, etc.

Le Zn provoque l'élongation des stipes fructifères d'*Aspergillus giganteus* (42).

III. Le zinc, du point de vue génétique, a été associé à des mutations chez des moisissures (43, 44).

B. — APPORT ORGANIQUE.

Incapables d'utiliser le CO_2 atmosphérique, les moisissures requièrent le carbone sous forme organique. Beaucoup de composés carbonés sont utilisables par ces organismes hétérotrophes, au premier chef le saccharose, le glucose et le fructose.

Les hétérosides sont dédoublés avec aisance : ainsi en est-il, par exemple, de l'amygdalosite, PURIEWITSCH (45), de l'aucubosite, HÉRISSEY et LEBAS (46), du verbénalosite, CHEYMOL (47).

Dans ce dernier cas, il y a dédoublement complet : le glucose est entièrement consommé, le verbénalol reste en solution ou est fixé par le mycélium. Le poids de ce dernier est le $1/3$ de celui développé sur Raulin complet. Cependant, le *Sphaeronema fimbriatum* est incapable d'utiliser le glucose (48); il en est de même du *Fusarium lini* (49); certaines *Saprolégniées* sont dans le même cas, vis-à-vis du saccharose (50).

D'après LOCKWOOD (51), le *Penicillium javanicum* végète sur saccharose.

Il ressort du travail de TAMIYA (52), que l'*Aspergillus oryzae* utilise 51 composés organiques sur un total de 123 expérimentés. Certains composés ne peuvent servir qu'à la respiration, mais pas à la croissance, et aucune relation n'existe entre croissance et respiration, puisque celle-ci varie avec la nature de la source carbonée. Les conclusions dans ce domaine sont difficiles à tirer : des sucres livrés isolément n'agissent que peu sur la croissance, tandis qu'en mélange ils la stimulent fortement (53).

Les moisissures sont encore des agents très actifs de la décomposition de la cellulose et concourent à la formation de l'humus. Il convient de citer les genres *Melanconium*, *Trichoderma*, *Fusarium*. Des 22 organismes étudiés par

WAKSMAN (13), 15 attaquent rapidement la cellulose; 6 seulement sont sécréteurs d'amylase.

Les graisses et les huiles ne sont pas épargnées. Ainsi, l'huile d'olive peut être utilisée par l'*Aspergillus flavus*, le *P. sylvaticum* et une « moisissure blanche », KATZ-NELSON (54). Différentes huiles, comme la trioléine, l'huile de lin, l'huile de noix, sont attaquées par des *Penicillium*, OEFFNER (55). L'*Aspergillus versicolor* attaque les paraffines à chaînes n'excédant pas $C_{34}H_{70}$, HOPKINS et CHIBNALL (56); les pentosanes et les pentoses conviennent à certaines espèces d'*Aspergillus*, HOROWITZ-VLASSOWA et NOVOTELNOW (57); l'amylopectine, à l'*Aspergillus niger*, HÄRDTL (58).

SOURCE D'AZOTE. — Si les moisissures sont incapables de tirer profit de l'N atmosphérique (59, 60, 61), à part peut-être les mycorhizes endophytes — DUGGAR et DAVIS n'ont obtenu de fixation qu'avec *Phoma betae* (62) — on les voit s'attaquer à toutes les formes d'N, organique ou minérale. C'est ainsi que ROBBINS (63) groupe les moisissures en quatre classes avec cette constatation générale que les organismes capables de fixer l'N peuvent employer NO_3^- , NH_4^+ , et l'N organique; ceux incapables de fixer l'N, mais pouvant absorber NO_3^- , utilisent également NH_4^+ et l'N organique; le troisième groupe comprend les moisissures pouvant prendre uniquement l'N ammoniacal et organique; le quatrième groupe, rien que l'N organique.

L'utilisation de telle forme d'azote est parfois sous la dépendance d'un sucre ou d'un alcool déterminé. Cette influence réciproque se retrouve encore pour des mélanges d'hydrates de carbone se comportant différemment des constituants sur la croissance de la moisissure (53).

Ainsi les *Mucors* cités par HAGEM (64) : *Mucor griseocyanus*, *M. ramosus*, *M. Christianiensiis*, *M. spinosus*, *M. sphaerosporus* s'accommodent de l'N nitrique ou

ammoniacal avec le glucose, mais exigent la forme nitrate avec le glycérol. Cet exemple n'est pas unique.

Le besoin en Molybdène de l'*A. niger* est surtout marqué quand NO_3^- est fourni, ce métal catalyserait la réduction NO_3^- en NH_3 (65).

Des travaux récents, dus à LEMOIGNE et ses collaborateurs (66, 67, 68), mettent en évidence le rôle de l'hydroxylamine dans le métabolisme azoté de l'*Aspergillus niger*, dont elle serait peut-être un produit intermédiaire obligé. La nature de son action n'est pas encore éclaircie.

L'importance des moisissures dans le sol semble liée surtout au phénomène de la libération d' NH_4OH , que les plantes vertes absorbent en partie directement, en partie transformée en nitrates par d'autres organismes. MARCHAL (69) fut un des premiers à démontrer le grand pouvoir d'ammonisation des moisissures, particulièrement en sols acides. Retenons parmi elles : l'*Aspergillus terricola*, le *Cephalothecium roseum*.

Comparées aux bactéries, quant à leur pouvoir d'accumuler de l' NH_4OH , beaucoup de moisissures apparaissent plus actives que le *Bacterium mycoïdes* lui-même. Une forme commune des sols, le *Trichoderma Koningi*, libère en 12 jours, sous forme d' NH_4OH , 57,5 % de l'N du sang séché (13).

On peut admettre que l'utilisation des divers composés azotés a partie liée avec la structure qu'ils affectent et la nature du système enzymatique dans lequel ils sont introduits. Ainsi, d'après BRUNEL (70), les produits de la dégradation de l'acide urique : urée, acide allantoïque, allantoïne, acide uroxamique, acide parabanique, acide oxalurique conviennent très bien au *Sterigmatocystis nigra* (*Aspergillus niger*). Il y a d'abord dégradation de ces corps en NH_4OH . Le biuret, l'acide oxonique, l'alloxane, l'hydantoïne, l'acide hydantoïque, bien que renfermant le radical uréique ($-\text{HN}-\text{CO}-\text{NH}-$), sont inattaqués par le même *Sterigmatocystis nigra*. L'urée est une excel-

lente source d'azote et favorise la croissance et la production de stérols chez l'*Aspergillus fischeri*, WENCK ET SES COLLABORATEURS (71). De nombreux *Penicillium* et *Aspergillus* élaboreraient l'urée à partir de peptone et de guanidine, CHRZASZCZ ET ZAKOMORNY (72).

L'influence de la nature de la source azotée et de sa concentration est grande sur la composition des produits de métabolisme obtenus, comme le cas se présente pour l'acide oxalique, JACQUOT (73). En ce qui concerne l'*Aspergillus niger*, NH_4Cl s'affirme une excellente source d'N pour la croissance du champignon et la production d'acide. Il existerait, pour chaque degré de température, deux concentrations en sel correspondant à deux maxima dans la production d'acides, le second beaucoup moins accusé d'ailleurs (74). Y a-t-il là plus qu'un phénomène de coïncidence ? Toujours est-il que l'optimum de production d'acide, soit 0,188 gr. de sel par 100 cc. de milieu, à 30°, — et sous les conditions énoncées par l'auteur, — est constitué de la même quantité de sel indispensable à la croissance optimale de la levure (75, 76, 77).

§ 2. Rôle de l'oxygène.

A. — Aucun cas de croissance des moisissures en anaérobiose stricte n'est signalé. Nous-même avons expérimenté 15 souches de *Penicillium* en atmosphère d'azote qui toutes ne donnèrent pas la moindre végétation.

La décroissance rapide du nombre des moisissures avec la profondeur du sol s'explique autant par la raréfaction de l'oxygène que par le manque d'eau.

Le *Penicillium roqueforti* s'accommode cependant d'une faible proportion d'oxygène, à l'inverse des vingt espèces de *Penicillium* étudiées par THOM ET CURRIE.

B. — Le métabolisme naturel de la moisissure, orienté vers la croissance, peut être détourné de sa voie normale par l'établissement de cultures submergées.

Tous les systèmes diastasiques se trouvant en déséquilibre, l'apparition des produits intermédiaires — dits de fermentation — s'effectue.

Chaque fois qu'il est possible, les fermentations à échelle industrielle s'exercent à l'aide de tambours rotatifs où les facteurs aération, agitation et pression, qui sont de grande importance, sont réglables.

Ainsi pour l'acide gluconique — dont ce fut le premier essai en tambour — non seulement la durée de fermentation est réduite de 10-20 jours à 18-23 heures, mais le rendement passe de 60 % à ± 100 %.

La transformation du glucose en acide d-lactique par les moisissures du genre *Rhizopus* pourrait s'effectuer également avec bénéfice par tambours rotatifs (78). Dans le même ordre d'idées, le d-sorbitol est converti en l-sorbose par l'*Acetobacter suboxydans* d'après la technique du tambour.

Le d-sorbitol s'obtenant en grande quantité par réduction électrolytique, le l-sorbose devient un logique point de départ pour la préparation de la vitamine C.

L'oxydation de l'acide gluconique en acide 5-cétogluconique par la même bactérie du sorbose de Bertrand constitue une autre application des tambours. Par contre, la fermentation citrique ne s'effectue qu'avec des mycéliums de surface, dans de grands bacs plats et de peu de profondeur — 6 à 8 cm. — malgré tous les efforts tentés vers l'emploi de cultures immergées qui économiseraient temps et place.

L'état d'immersion du mycélium peut encore être provoqué par des substances chimiques. Ainsi l'*Aspergillus flavus*, en présence de craie, abandonne la surface du milieu de culture et produit l'acide malique en abondance, à côté des acides succinique et fumarique, YUILL (79).

C. — Une donnée importante relative aux échanges gazeux est le quotient respiratoire CO_2/O_2 . Ainsi dans les

genres *Aspergillus* et *Penicillium*, il a permis le regroupement d'espèces (80, 81).

D. — L'étude du phénomène de croissance, indissolublement lié au phénomène d'entretien, s'est particulièrement portée sur l'*Aspergillus niger*. Nos connaissances à ce sujet sont surtout dues à TERROINE et ses collaborateurs (82) qui, reprenant la formule de Tangl donnant le rendement énergétique brut :

$$R = \frac{U}{E - U_r},$$

la complètent en y intégrant la dépense d'entretien U_2 que celui-ci négligeait. Mais le rendement énergétique réel établi, d'après TERROINE, par comparaison de mycéliums différents, — obtenus dans des conditions différentes, — ne résoud pas ce vaste problème.

BONNET et JACQUOT (83) ont tenté la discrimination expérimentale de la croissance et de l'entretien en introduisant dans les milieux de culture des corps susceptibles de modifier l'intensité de la respiration sans entraver la croissance. Ils constatent que sous l'action des antioxygènes (hydroquinone) le rendement énergétique brut reste invariable et la respiration inchangée. Le bleu de méthylène, lui, relève le R.E. brut et plaide de la sorte en faveur de la théorie de Wieland. De son côté, le dinitrophénol provoque une légère diminution du R.E. brut, amenée par une légère augmentation de la dépense respiratoire.

§ 3. Facteurs de croissance et vitamines.

On fut amené progressivement à l'étude analytique du « Bios », découverte mémorable faite par Wieldiers, en 1901.

A ce jour, cinq substances sont reconnues indispensables à la croissance de la levure et certaines moisissures diverses : les acides panthoténique et aspartique, la thia-

mine, la β -alanine et l'i-inositol, WILLIAMS et ROHRMAN (84).

En particulier, le métabolisme des hydrates de carbone serait sous l'influence de la thiamine.

Présents dans maints tissus associés à la reproduction — tant dans le règne végétal que dans le règne animal — les caroténoïdes et leurs dérivés apparaissent chez certaines moisissures, localisés d'une manière remarquable parfois, comme chez les *Phycomycètes* aquatiques du genre *Allomyces*, uniquement dans le contenu des gamétanges σ et celui des gamètes σ libérés. Le γ -carotène en a été extrait, parfois en mélange avec l'isomère β (85). Ainsi le rôle du carotène en connexion directe avec la reproduction est nettement placé en évidence. On sait encore toute l'importance dévolue au carotène comme provitamine A.

Les flavines extraites d'*Eremothecium Ashbyii* et plus récemment d'*Aspergillus niger* carencé en Mg se rapportent au groupe des vitamines B et plus particulièrement à la vitamine B₂ de croissance dont la levure s'est montrée si riche.

Le doute plane encore sur la présence réelle d'acide ascorbutique chez les moisissures, bien que BERNHAUER et ses collaborateurs (86), expérimentant sur l'*Aspergillus niger* et des *Penicillium*, ont caractérisé dans le milieu de culture des corps à grand pouvoir réductionnel. Plus récemment, MANCEAU et ses collaborateurs (87) mettent en évidence l'existence de corps réducteurs dès les premiers jours chez deux *Penicillium* riches en pigments — le *P. citro-roseum* DIERCKX et le *P. ochraceum* BAI-NIER. Sont-ce là des dérivés des sucres ?

Du liquide de métabolisme d'un autre *Penicillium* — le *P. Charlesii* — croissant aux dépens de glucose (88, 89), on a pu retirer une série d'acides — carlique, carlosique, carolique et carolinique — dont les structures chimiques qui les rattachent aux noyaux γ -méthyltétronique et

γ -tétronylacétique obligent la comparaison avec la vitamine C.

L'ergostérol ou provitamine D se rencontre dans certains mycéliums. Il a été isolé entre autres des *Penicillium puberulum* BAINIER (90) et *carmino-violaceum* BIOURGE (91). L'urée favoriserait sa production par l'*Aspergillus fischeri* (71).

Des bactériolysines sont encore élaborées par les moisissures, telle la « pénicilline » du *Penicillium chrysogenum* THOM, qui provoque déjà à grande dilution la destruction du bacille diphtérique, FLEMING (92). Nous arrêterons ainsi les grandes lignes de l'exposé général.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

1. KLUYVER, A. J., *The chemical activities of micro-organisms* (Lecture I, University of London press, 1931).
2. STRUYK, A. P., *Onderzoekingen over de alcoholische gisting*, Delft, 1928.
3. MEYERHOF, M. O., voir *Annales de l'Institut Pasteur*, 1934, 1935.
4. MEYERHOF, M. O., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1939, **21**, 1094.
5. STONE, R. W., et WERKMAN, C. H., *Biochem. Journ.*, 1937, **31**, 1556.
6. VAN TIEGHEM, PH., *C. R. Acad. Sciences*, 1867, **65**, 1091.
7. *United States, Department of Commerce*, Biennial Census of Manufacturers.
8. *Chimie et Industrie, Chroniques*, 1939, **41**, n° 3, 616.
9. *Chemisch Weekblad, Handelsberichten*, 1939, **36**, n° 19.
10. *Chemisch Weekblad, Technische mededeelingen*, 1939, **36**, n° 26.
11. FINK, H., HAESELER, G., et SCHMIDT, M. Z., *Spiritusindustrie*, 1937, **60**, 74; *Wochschr. Brau.*, 1937, **54**, 89.
12. SANBORN, J. R., *Ind. Eng. Chem.*, 1936, **28**, 1189.
13. WAKSMAN, S. A., *Soil Science*, 1916, **2**, 103-155.
14. SARTORY, A., SARTORY, R., MEYER, J., et ARNOLD, M. F., *XII^e Congrès Intern. Pharmacie*, Bruxelles, 1935, 637.
15. MULDER, E. G., *Dissert.*, Wageningen, 1938.
16. YOSHIMURA, F., *Journ. Fac. Sc. Hokkaido Imp. Univ.*, Japan, 1936, **4**, 117-139.
17. ANDERSON, C. I., *A introduction to bacteriological chemistry*, Edinburgh, 1938.
18. RAULIN, J., *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 1869, V, **11**, 93-299.
19. MOSHER, W. A., SAUDERS, D. H., KINGERY, L. K., et WILLIAMS, R. J., *Plant physiol.*, 1936, **11**, 795-806.

20. STOEß, U., *Dissert.*, Göttingen, 1932.
21. ROSSI, G., et SCANDALLARI, G., *Biochim. Terap. sper.*, 1932, **19**, 92.
22. GUILLIERMOND, A., *Rev. Myc.*, 1936, **I** (3), 115.
23. RAFFY, A., *C. R. Acad. Sciences*, 1939, **209**, 900.
24. MOLLIARD, M., *C. R. Acad. Sciences*, 1923, **176**, 1857.
25. KAUFFMANN-COSIA, M. O., et BRULL, R., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, **19**, 137.
26. BORTELS, H., *Biochem. Zeitschr.*, 1927, **182**, 301-358.
27. WOLFF, L. K., et EMMERIE, A., *Biochem. Zeitschr.*, 1930, **228**, 441-450.
28. BERTRAND, G., et JAVILLIER, M. (Travaux de), *C. R. Acad. Sciences*, 1911-1912; *Bull. Soc. chim. France*, 1912.
29. STEINBERG, R. A., *Bull. Torrey Bot. Club*, 1935, **62**, 81-90.
30. STEINBERG, R. A., *J. Agr. Research*, 1936, **52**, 439.
31. STEINBERG, R. A., *J. Agr. Research*, 1938, **57**, 569-574.
32. STEINBERG, R. A., *J. Agr. Research*, 1935, **51**, 413-424.
33. BERTRAND, G., *Bull. Soc. chim. France*, 1912, **IV**, **11**, 400-406.
34. LOHMANN, G., *Arch. Mikrobiol.*, 1934, **5**, 31-56.
35. MUSQUIN, A., et ESTIENNE, V., *Journ. Pharm. Belg.*, 1925, n°s 14 et 15.
36. PORGES, N., *Metal Ind.*, New-York, 1938, **36**, n° 1.
37. Rapporté par LOCKWOOD, L. B., *Mycologia*, 1936, **28**, 10.
38. BOURGE, PH., Les moisissures du groupe *Penicillium* LINK (*La Cellule*, 1923, **33**, fasc. 1, 73).
39. YOSHIMURA, F., *Journ. Fac. Sc. Hokkaido Imp. Univ.*, Japan, 1934, **3**, 89-99.
40. SAKAMURA, T., et YOSHIMURA, F., *Journ. Fac. Sc. Hokkaido Imp. Univ.*, Japan, 1933, **V**, Bot., **2**, 317-331.
41. IWANOFF, K. S., *Centr. Bakt.*, 1904, **II** Abt., **13**, 139-144.
42. MOSSERAY, R., *La Cellule*, 1932, **41**, 113-128.
43. ARCICHOVSKY, V., *Centr. Bakt.*, 1907, **II**, **21**, 430-431.
44. DIMOCK, A. W., *Zentr. Bakt.*, 1936, **II**, **95**, 341-347.
45. PURIEWITSCH, K., *C. R. Soc. Biol.*, 1897 (10), **4**, 686.
46. HERISSEY, H., et LEBAS, C., *Journ. Pharm. et Chim.*, 1911 (7), **3**, 521.
47. CHEYMOL, J., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1937, **19**, 460.
48. WEIMER, J. L., et HARTER, J. L., *Journ. Agr. Research*, 1921, **21**, 189-210.
49. TOCHINAI, Y., *Journ. Coll. Agr. Hokkaido Imp. Univ.*, Japan, 1926, **14**, 171-236.
50. PIETERS, A. J., *Amer. Journ. Bot.*, 1915, **2**, 529-576.
51. LOCKWOOD, L. B., *Cath. Univ. Amer. Biol. Ser.*, 1933, n° 13.
52. TAMURA, H., *Acta phytochim.*, Tokyo, 1932, **6**, 1-129.
53. HORR, W. H., *Plant Physiology*, 1936, **11**, 81-99.
54. KATZ-NELSON, R. S., *Arch. Soc. Biol.*, Saint-Petersbourg, 1931, **31**, 385.
55. OEFFNER, H., *Bot. Arch.*, 1931, **33**, 172.
56. HOPKINS, S. J., et CHIRNALL, A. C., *Biochem. Journ.*, 1932, **26**, 133.
57. HOROWITZ-WLASSOWA, L. M., et NOVOTELNOW, N. W., *Zentralbl. Bakt.*, 1935, **II**, **91**, 468.
58. HÄRDTL, H., *Biochem. Zeitschr.*, 1933, **267**, 6.
59. ALLISON, F. E., HOOVER, S. R., et MORRIS, H. J., *Journ. Agr. Research*, 1934, **49**, 1115-1123.

60. ROBERG, M., *Zentralbl. Bakt.*, 1932, II Abt., **86**, 466-479.
61. SCHRÖDER, M., *Jahrb. Wiss. Bot.*, 1931, **75**, 377-398.
62. DUGGAR, B. M., et DAVIS, A. R., *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 1916, **3**, 413-437.
63. ROBBINS, W. J., *Amer. Journ. Bot.*, 1937, **24**, 243-250.
64. HAGEM, O., *Vidensk. Selsk. Skrift.*, I. Math. Nature Klasse, 1910, II, **4**, 1-152.
65. STEINBERG, R. A., *Journ. Agr. Research*, 1937, **56**, 891-902.
66. LEMOIGNE, M., et DESVEAUX, R., *C. R. Acad. Sciences*, 1935, **201**, 239.
67. LEMOIGNE, M., et DESVEAUX, R., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, **18**, 604.
68. LEMOIGNE, M., MONGUILLON, P., et DESVEAUX, R., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, **18**, 604.
69. MARCHAL, E., *Bull. Acad. roy. Belg.*, Cl. d. Sc., 1893, **25**, 727.
70. BRUNEL, A., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, **21**, 330.
71. WENCK, P. R., PETERSON, W. H., et FRED, E. B., *Zentralbl. Bakt.*, 1935, II, **92**, 330-338.
72. CHRZASZCZ, T., et ZAKOMORNY, M., *Biochem. Zeitschr.*, 1934, **273**, 31.
73. JACQUOT, R., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, **18**, 1850.
74. FULMER, E. I., CHRISTENSEN, L. M., et SCHOPMEYER, H., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1935, **57**, 1537.
75. FULMER, E. I., NELSON, V. E., et SHERWOOD, J., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1921, **43**, 191.
76. FULMER, E. I., SHERWOOD, F. F., et NELSON, V. E., *Ind. Eng. Chem.*, 1924, **16**, 921.
77. SHERWOOD, F. F., et FULMER, E. I., *Journ. Phys. Chem.*, 1926, **30**, 738.
78. WARD, G. E., LOCKWOOD, L. B., TABENKIN, B., et WELLS, P. A., *Ind. Eng. Chem.*, 1938, **30**, 1233.
79. YUILL, J. L., *Chem. Ind.*, 1936, **55**, 155.
80. BIRKINSHAW, J. H., CHARLES, J. H. V., RAISTRICK, H., et STOYLE, J. A. R., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, III, 27.
81. BIRKINSHAW, J. H., CHARLES, J. H. V., HETHERINGTON, A. C., et RAISTRICK, H., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, IV, 55.
82. TERROINE et collaborateurs, *Bull. Soc. Chim. biol.*, à partir de 1922.
83. BONNET, R., et JACQUOT, R., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, **18**, 1850.
84. WILLIAMS, R. J., et ROHRMAN, E., *J. Amer. Chem. Soc.*, 1936, **58**, 695.
85. EMERSON, R., et FOX, D. L., *Proc. Roy. Soc. London*, 1940, **B**, **128**, 275.
86. BERNHAUER, K., GORLICH, B., et KOCHER, E., *Biochem. Zeitschr.*, 1936, **286**, 60.
87. MANCEAU, P., POLICARD, A., et FERRAND, M., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1938, **20**, 82.
88. CLUTTERBUCK, P. W., HAWORTH, W. N., RAISTRICK, H., SMITH, G., et STACEY, M., *Biochem. Journ.*, 1934, **28**, 94.
89. CLUTTERBUCK, P. W., RAISTRICK, H., et REUTER, F., *Biochem. Journ.*, 1935, **29**, 300, 871, 1300.
90. BIRKINSHAW, J. H., CALLOW et FISCHMANN, *Bioch. Journ.*, 1931, **25**, 1977.
91. HIND, H. G., *Biochem. Journ.*, 1940, **34**, 67.
92. FLEMING, A., *Brit. Journ. exp. Path.*, 1929, **10**, 236.

(Suite, p. 77.)

CHAPITRE III.

PRODUITS DE MÉTABOLISME.

§ 1. Acides.

A. — ACIDES ALIPHATIQUES.

1. ACIDE FORMIQUE : H.COOH . — Il a été isolé d'une culture d'*Aspergillus oryzae*, aux dépens d'arabinose, TAKADORO (93).

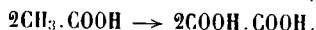
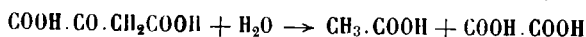
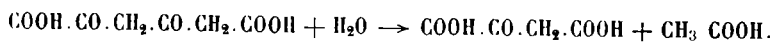
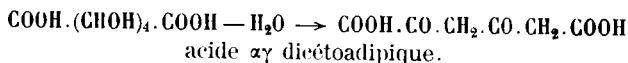
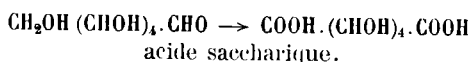
2. ACIDES PYRUVIQUE : $\text{CH}_3.\text{CO.COOH}$, et DIMÉTHYLPYRUVIQUE : $(\text{CH}_3)_2.\text{CH.CO.COOH}$. — L'acide pyruvique a été obtenu par HIDA (94) d'une culture d'*Aspergillus niger* à partir de glucose ou de saccharose, en présence de Na_2SO_3 . L'acide diméthylpyruvique nécessite des sels ammoniacaux pour apparaître.

3. ACIDE OXALIQUE : COOH.COOH . — Détection : Dès 1886, DE BARY (95) note la production d'oxalates solubles par le *Sclerotinia sclerotiorum*. WEHMER (96) le trouve produit en grandes quantités par *Aspergillus niger*. Le *Penicillium oxalicum* de CURRIE et THOM tire son nom de la haute teneur en acide oxalique de ses liquides de métabolisme. En bref, cet acide est largement répandu chez les moisissures. Sa présence est d'ailleurs peu désirable, car il altère la valeur des souches productrices d'acide citrique. Mais il est vrai qu'on peut parer à cet inconvénient.

Concernant la diagnose des espèces, il n'est pas sans intérêt de noter que la forme des cristaux d'oxalate de Ca et même d' NH_4 pourrait bien, dans certains cas, contribuer à l'identification, BOURGE (38). Pour JACQUOT (73), l'acide oxalique est toujours absent des cultures contenant $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ comme source d'azote. L'influence du pH est

déterminante : l'oxalicogénèse se manifeste toujours au voisinage de la neutralité, elle est entravée à pH 2.

Mécanisme de formation : Selon l'hypothèse déjà ancienne de RAISTRICK et CLARK (97), l'acide oxalique dérive d'oxydations en chaîne du glucose :

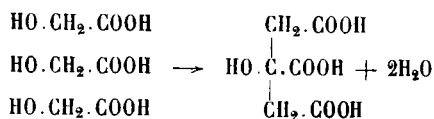


Cette hypothèse a le mérite de rendre compte des grandes quantités d'acide oxalique parfois obtenues et également du fait que les acides bibasiques à 4 atomes de C., — succinique et malique, — lesquels se transforment aisément en acide oxaloacétique, de même que l'acide acétique peuvent donner naissance à l'acide oxalique. L'inverse a lieu pour les acides à 3 atomes de C : lactique, propionique, pyruvique.

Technologie : Les méthodes chimiques prévalant (décomposition à 400° du formiate de Na ou de K en H₂ et oxalate de Na ou de K), l'acide oxalique de fermentation ne trouve aucun débouché.

4. ACIDES GLYCOLIQUE : $\text{COOH.CH}_2\text{OH}$, et GLYOXYLIQUE : COOH.CHO . — Ces deux acides sont produits par différentes souches d'*Aspergillus niger* en milieux renfermant de l'acétate de Na ou Ca, BERNHAUER et SCHEUER (98).

D'après SCHOEN, l'acide citrique proviendrait de la soudure de 3 molécules d'acide glycolique :



5. ACIDE CITRIQUE : $\text{COOH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{C}(\text{OH} \cdot \text{COOH}) \cdot \text{CH}_2 \text{COOH}$.

— Détection : La découverte en 1893 de l'acide citrique de fermentation est due à WEHMER (99) qui, pour grouper les deux *Penicillium* en produisant, créa, trop hâtivement du reste, le terme *Citromyces*. En 1897, en effet, il reconnut lui-même (100) que le *Penicillium luteum* et le *Mucor piriformis* en produisaient.

Dans une note peu connue, ZANORSKI, en 1913, établit la production de cet acide par le *Sterigmatocystis nigra* (*Aspergillus niger*). Actuellement, l'acide citrique est reconnu comme un produit de fermentation des plus communs avec l'acide oxalique. Il est non seulement produit par la majorité des *Aspergillus* de la série « niger », mais encore par la majorité des *Penicillium* (101).

Facteurs déterminants : CURRIE (102) supprime la fermentation parasitaire oxalique de l'*Aspergillus niger* par une faible concentration en NH_4NO_3 et un pH de 3,5.

MOLLIARD (103), vers la même époque, appauvrit le milieu en azote et sels minéraux, la dose de sucre n'étant point modifiée.

La grande importance du rapport Volume/Surface des liquides traités est souvent renseignée par les auteurs.

En général, le Zn réprime l'accumulation des acides, qu'il s'agisse des acides oxalique et gluconique pour l'*Aspergillus niger*, de l'acide gluconique pour le *Penicillium chrysogenum*, des acides lactique et fumarique pour les *Rhizopus*.

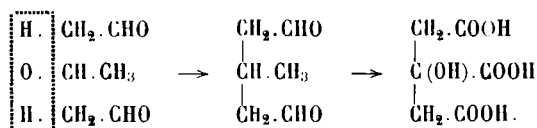
Dans le cas de la fermentation citrique, les métaux Zn et Fe la freinent ou la stimulent, suivant les souches utilisées. Effets opposés, bien difficilement explicables aujourd'hui.

Mécanisme de formation : L'acide citrique existe dans d'autres liquides biologiques que ceux résultant du métabolisme d'organismes inférieurs, tels que les sucres végétaux

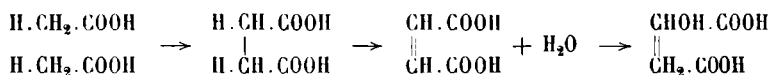
et le lait. Le beurre en conserve la trace sous forme de diacétyl, provenant de l'acide citrique sous l'action combinée de bactéries spécifiques (104). Dans tous ces milieux, sa genèse y est très discutée et le nombre des hypothèses en présence mesure notre ignorance du sujet, voir PERQUIN (105).

Nous nous arrêterons à une vue d'ensemble.

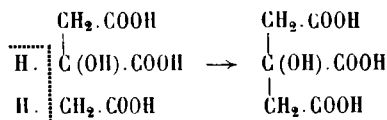
A. — Hypothèses ressortissant à la fermentation alcoolique. Pour EULER (106), l'acide citrique provient de la condensation de trois molécules d'aldéhyde acétique, suivie d'une oxydation.



Pour CHRZASZCZ et TIUKOW (107), qui les premiers ont pu, à l'aide du mycélium d'*A. niger*, transformer l'acide acétique en citrique, il se formerait en premier lieu de l'acide acétique suivant le processus de la fermentation alcoolique (aux dépens d'aldéhyde ou d'alcool); dans une seconde phase, l'acide acétique donnerait naissance aux acides en C₄ suivants : succinique, fumarique, malique.



L'acide citrique se produirait ensuite par la déshydrogénation simultanée d'acides malique et acétique amenant sa condensation :

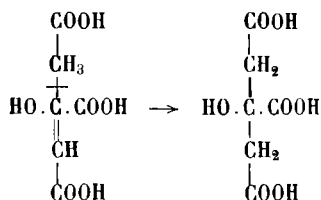
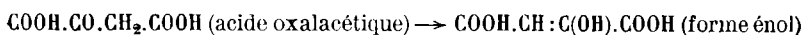


Cette hypothèse et d'autres, comme celle de BERNHAUER (108), s'y rattachant plus ou moins, ne cadrent

guère avec les résultats d'auteurs qui ne peuvent admettre dans la fermentation citrique une phase anaérobie, à savoir la production aux dépens d'acétaldéhyde, de l'acide acétique. Il fut également démontré par BUTKEWITSCH et MELNIKOVA (109), JOHNSON, KNIGHT et WALKER (110) que l'acide monoiodacétique, à la concentration critique pour l'arrêt de la fermentation alcoolique, n'empêche nullement la fermentation citrique. La même conclusion se retrouve chez TOMLINSON (111).

B. — Hypothèses postulant une simple dissimilation oxydative.

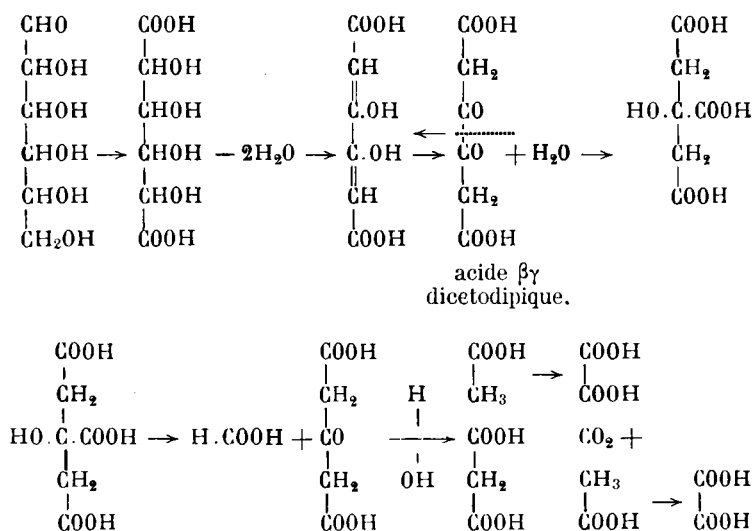
I. L'hypothèse déjà citée de RAISTRICK et CLARK (97) admet comme précurseurs de l'acide citrique les acides oxalacétique et acétique. L'acide oxalacétique s'énolise et par condensation avec l'acide acétique livre l'acide citrique :



L'acide acétique tire ici son origine non pas d'un processus de fermentation alcoolique, mais de la dégradation du glucose en acides oxalique et acétique via l'acide α γ -dicétoadipique, comme il a été indiqué pour l'acide oxalique. En 1930, VIRTATEN et PULKKI (112) ont redonné vigueur à cette théorie.

II. D'après l'hypothèse de CHALLENGER, l'acide citrique provient du glucose via l'acide β γ -dicétoadipique; il don-

nerait subséquemment naissance à l'acide oxalique par une suite de transformations, fort douteuses d'ailleurs :



Pour VIRTATEN (113), le glucose sans phosphorylation préalable peut, par suite de réactions entraînant sa rupture, fournir de l'acide succinique.

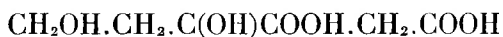
En outre, les résultats obtenus par la fermentation du glucose sous l'action du *Bacillus coli* suggérèrent à SCHEFFER (114) que le sucre est brisé en deux fragments à 2 et 4 atomes de carbone.

La considération de ces travaux amena JOHNSON (115) à imaginer que la formation d'acide citrique se ferait par transformation initiale d'une molécule d'hexose en une molécule d'acide acétique et une molécule d'acide succinique et qu'ensuite ces deux acides évolueraient soit d'après le schéma de CHRZASZCZ et TIUKOW, soit d'après celui de RAISTRICK et CLARK. Récemment, JOHNSON, KNIGHT et WALKER (110) démontrèrent que les concentrations respectives en iodoacétate et NaF exactement nécessaires à la suppression de toute formation d'acide citrique par *Aspergillus niger* se trouvent être également celles

nécessaires pour empêcher la transformation des succinates (et acétates) en malates et citrates. Aucune preuve n'est donc fournie par ces expériences qui soit en contradiction avec l'hypothèse mise en avant par JOHNSON dans sa thèse de 1934.

D'autres hypothèses encore admettent l'oxydation directe du glucose en acide citrique, sans produits intermédiaires à moins de 6 atomes de C.

Telle est l'hypothèse de BUCHNER et WÜSTENFELD avec l'acide parasaccharique (116) :



comme produit intermédiaire; celle de BUTKEWITSCH (117) avec l'acide gluconique comme produit intermédiaire; celle de FRANZEN et SCHMIDT (118), où le glucose est successivement transformé en acide saccharique, puis en acides β γ -dicétoadipique et citrique.

L'explication de la genèse de l'acide citrique est encore rendue plus ardue du fait que malgré qu'il soit un acide en C_6 , il a pu prendre naissance au départ de glycérol et même de pentoses. Cela donne à penser que chaque moisissure, aux dépens des hydrates de carbone différents qui lui sont fournis, opère la condensation d'un polyholoside (caractéristique de l'espèce peut-être), lequel peut, au fur et à mesure des besoins énergétiques, s'hydrolyser pour donner du glucose, lequel se dégraderait, en l'occurrence, en acide citrique. Nous trouverons, par la suite, d'autres cas analogues de corps en C_m anabolisés au départ de composés en C_n [$n < m$ et n'étant pas nécessairement sous-multiple]. L'isolement de polyholosides synthétisés par les moisissures ajoute encore au crédit de cette hypothèse.

Technologie : L'acide citrique trouve une application industrielle assez vaste en teinturerie et dans l'impression des cretonnes, de même son sel de chaux en fromagerie.

En médecine, il est fait usage des citrates, principalement de fer et de Mg.

Son emploi dans les boissons rafraîchissantes et limonades, en confiserie également pour donner un goût acide agréable à la pâtisserie est bien connu.

Sa production aux dépens de moisissures l'emporte aujourd'hui sur son extraction de citrons verts qui en renferment de 6 à 7 %. L'industrie biochimique utilise, à cette fin, des cuvettes plates en aluminium munies d'un système d'aération modérée où l'*Aspergillus niger* — de race sélectionnée — croît en surface du liquide nutritif. Installation coûteuse à laquelle on n'a pas pu obvier à ce jour, par l'emploi de tambours rotatifs, car l'utilisation de mycélium submergé n'est pas à retenir. Seulement 19 % de sucre consommé sont transformés en acide citrique, en 40 jours, de cette manière (119).

Les efforts sont orientés actuellement vers l'utilisation de résidus industriels comme les pulpes de betteraves, les mélasses, les artichauts et divers rebuts végétaux imprégnés de solutions sucrées.

6. ACIDE D-GLUCONIQUE : $\text{CH}_2\text{OH}(\text{CHOH})_4\text{COOH}$. — Détection : C'est à MOLLIARD (120) que nous devons sa découverte comme produit de fermentation mucédinéenne. Travaillant sur une souche de *Sterigmatocystis nigra* cultivée sur milieu contenant 7 gr. de saccharose dans 150 cc. pour le 1/25 d'N et de sels minéraux nécessaires au développement optimum, et à 36°, il trouve qu'après 10 jours le maximum d'acidité est à peu près réalisé. Les acides citrique et oxalique sont absents, le réactif de Berg donne une très forte réaction positive. Si la dose de sucre est doublée, l'acidité croît encore et ce n'est qu'après 8 jours qu'une réaction qualitative de l'acide citrique peut être obtenue. MOLLIARD identifie son acide à l'acide monobasique d-gluconique (zymogluconique de BOUTROUX) que celui-ci avait déjà signalé en

1880 (121) comme un produit d'oxydation du glucose obtenu à l'aide de son « *micrococcus oblongus* » du groupe des « *mycoderma aceti* ».

Les conclusions de MOLLIARD valent la peine d'être rappelées, car elles donnent une idée juste de la plasticité du mécanisme biochimique des moisissures.

a) Quand on diminue notablement la quantité de la source d'azote et de l'ensemble des sels minéraux, il s'accumule de l'acide gluconique, soit à l'état pur, soit d'une manière très prédominante par rapport à l'acide citrique.

b) Si l'on ne diminue que la dose de la substance azotée, c'est l'acide citrique qui prédomine.

c) Vient-on à faire porter la réduction sur le phosphore, on obtient une forte acidité libre résultant surtout d'un mélange de citrique et oxalique.

d) Quand la réduction intéresse le potassium, on assiste à une accumulation considérable d'oxalique.

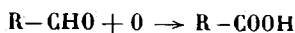
e) Enfin, dans un milieu équilibré, il n'apparaît que des traces d'acides libres et l'on peut considérer qu'on est en présence du phénomène respiratoire normal.

Depuis les travaux de MOLLIARD, on a reconnu que l'acide gluconique est produit par l'*Asp. niger* aux dépens de sucres différents du saccharose; par des *Aspergillus* des groupes *fuscus*, *cinnamomeus*, FALCK et KAPUR (122); *oryzae*, SAKAGUCHI (123); *Wentii*, BIRKINSHAW et RAISTRICK (124), etc., et par de nombreux *Penicillium* (*P. chrysogenum* et *luteum purpurogenum*) utilisés industriellement.

Le *Fumago vagans* en produit également, BIRKINSHAW et RAISTRICK (124).

Mécanisme de formation : Il semble que l'acide gluconique provienne de la simple oxydation du glucose.

Pour MÜLLER, l'enzyme serait une gluco-oxydase :

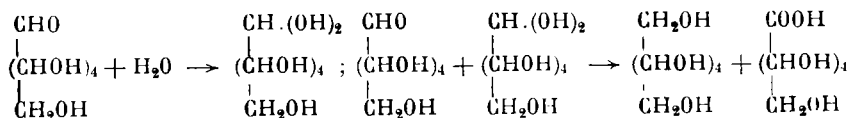


Pour HARRISSON, l'enzyme serait une déshydrogénase et cela en accord avec la conception de Wieland, pour qui le mécanisme de l'oxydation consiste en une activation de l'hydrogène par les déshydrogénases :



L'hydrogène s'unirait à l'oxygène moléculaire atmosphérique, activé au préalable par le Fer du ferment respiratoire de Warburg.

Pour RAISTRICK et RINTOUL (125), il se produirait entre deux molécules de glucose une réaction de Cannizzaro donnant simultanément une molécule d'acide gluconique et une de mannitol :



Selon que la moisissure préfère croître en milieu acide ou neutre, le mannitol ou l'acide gluconique serait détruit.

Ainsi des souches d'*Aspergillus* blancs, lesquelles donnent naissance à du mannitol en quantités s'approchant de 50 % du glucose métabolisé, mais ne les dépassant pas, ne produisent que très peu d'acide gluconique et refusent de croître en milieu acide. Même certaines d'entre elles, cultivées à un pH initial de 4.6, le ramènent à la neutralité. Inversement, une souche d'*Aspergillus Wentii* et une de *Penicillium chrysogenum* produisent beaucoup d'acide gluconique et peu de mannitol en milieux favorables dont le pH peut s'abaisser jusqu'à 2 et 1. Il s'agit ici de cas extrêmes et beaucoup de moisissures produisent en quantités normales l'acide gluconique et le mannitol.

L'acide gluconique serait encore un produit intermédiaire de la fermentation fumarique (126).

Technologie : Les cultures de moisissures en larges récipients en aluminium — qu'il s'agisse de *Penicillium* ou d'*Aspergillus* — (127) furent assez tôt remplacées par

le système à tambours, sous insufflation d'air comprimé. Pour gagner plus de temps encore, on procède à une production semi-continue d'acide, par réemploi du mycélium submergé d'*Aspergillus niger* (128). Comme usages, le gluconate de Ca est préféré au lactate pour les enfants; il peut être injecté sans provoquer de nécroses, — résultats remarquables obtenus sur des vaches atteintes de la fièvre de lait; — il est encore incorporé aux pâtes dentifrices.

7. ACIDE D-MANNONIQUE. — Cet acide a été obtenu aux dépens de d-mannose par le même *Penicillium purpurogenum* var. *rubrisclerotium* qui produit en si grande quantité l'acide d-gluconique, ANGELETTI et CERRUTI (129).

8. ACIDE GLUCORONIQUE : $\text{COOH} \cdot (\text{CHOH})_4 \cdot \text{CHO}$. — ITTO (130) l'obtient en même temps que les acides gluconique, fumarique, malique et succinique d'une culture de *Penicillium* sp.

Rappelons que pour BUTKEWITSCH (117) il est un produit d'oxydation intermédiaire dans la fermentation citrique.

9. ACIDE FUMARIQUE : $\text{COOH} \cdot \text{CH} : \text{CH} \cdot \text{COOH}$. — C'est un produit de métabolisme rare chez les *Aspergillus* (131, 132) et *Penicillium* (133). Il est vrai que le « fugace » *Aspergillus fumaricus* de WEHMER (131) transformait jusqu'à 70 % du glucose en acide fumarique. D'une culture reçue de Thom, étiquetée *Aspergillus fumaricus*, RAISTRICK et RINTOUL (125) furent incapables de mettre cet acide en évidence. Peu avant, Wehmer constatait un fait analogue : son *Asp. fumaricus* produisait en place d'acide fumarique des quantités considérables d'acide gluconique et un peu d'acides citrique et malique (134). En 1930, THIES (135) a pu cependant faire réapparaître, dans une certaine mesure, la fermentation fumarique par insufflation d'oxygène au milieu glucosé.

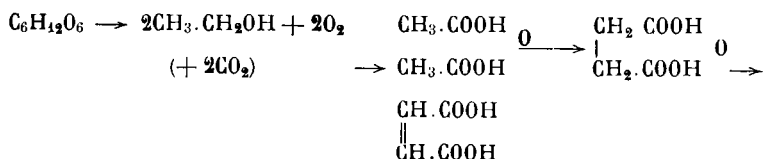
Par contre, cet acide non saturé se rencontre assez fréquemment chez les *Phycomycètes* de la famille des *Mucoracées*. Beaucoup d'espèces du genre *Rhizopus* en produisent (136, 137, 138, 139). C'est d'ailleurs d'une culture de *Mucor stolonifer* (*Rhizopus nigricans*) qu'EHRLICH (140) isola pour la première fois en 1911, l'acide fumarique. De 41 cultures de *Mucorinées*, 9 formes comprenant 6 *Rhizopus*, 1 *Mucor*, 1 *Cunninghamella* et 1 *Circinella* furent trouvées capables de produire de l'acide fumarique (141); une souche de *Rhizopus nigricans* atteignit 40-50 % de rendement.

Facteurs déterminants : La présence de CaCO_3 accroît fortement la quantité d'acide fumarique libéré par *Rh. nigricans*, soit de 5 à 31,4 % (138), mais il arrive que l'acide libre puisse se concentrer dans le milieu de culture au point d'y cristalliser (141).

Le zinc stimule la fermentation fumarique des *Rhizopus* (142) ou la réprime (143). Elle est encore sous la dépendance du rH (144).

Mécanisme de formation : Les quantités importantes d'acide fumarique parfois rencontrées permettent d'éliminer l'hypothèse suivant laquelle cet acide proviendrait de la désamination de l'acide aspartique provenant lui-même de l'autolyse d'une fraction infime de la substance vivante du mycélium comme cela est observé chez les bactéries du groupe coli-typhique.

Son origine glucidique se prête également à beaucoup d'hypothèses. Pour GOTTSCHALK (145) il aurait l'acide pyruvique comme intermédiaire, selon le schéma de Neuberg; pour BUTKEWITSCH et FEDEROFF (138), la chaîne de réactions serait la suivante :



10. ACIDE SUCCINIQUE : $\text{COOH.CH}_2\text{.CH}_2\text{.COOH}$. — Ce fut le premier acide et même le premier produit de métabolisme isolé d'une moisissure, *Mucor Mucedo*, par FITZ (146) en 1873. Il est reconnu maintenant que les groupes les plus divers de moisissures en forment.

a) MUCORS. — *Mucor racemosus*, EMMERLING (147). Quatre *Mucors* sur cinq examinés par TAKAHASHI et ASAI (137).

b) ASPERGILLUS. — Un *Aspergillus* sp. (blanc) (148), l'*Aspergillus terreus* (149).

c) PENICILLIUM. — Le *P. spiculisporum* LEHMAN beaucoup (150); le *P. aurantiovirens* BOURGE (151).

d) FUSARIUM. — Les *F. heterosporum* (152) et *oxysporum* (153).

e) *Ustilina vulgaris* (154); *Clasterosporium* sp. (124), *Fumago vagans* PERS. (124).

Son origine est peu nette. D'une part, sa présence habituelle en petites quantités tendrait à faire accepter l'idée qu'il provient, comme chez les levures, d'acide glutamique — $\text{COOH.CH}_2\text{.CH}_2\text{.CHNH}_2\text{.COOH}$ — libéré par protéolyse cellulaire. Mais comme il peut être produit en forte quantité par le *Rhizopus nigricans*, son origine glucidique paraît plus vraisemblable. Nous savons que certaines hypothèses le considèrent comme un des premiers fragments de la molécule de glucose, brisée sans l'aide d'aucune phosphorylation; d'autres, comme le résultat de la condensation de deux molécules d'acide acétique, d'origine « alcoolique » ou non.

11. ACIDE MALIQUE : $\text{COOH.CH}_2\text{.CHOH.COOH}$. — En 1928, WEHMER communiquait que son *Aspergillus fumaricus* ayant perdu tout pouvoir de donner de l'acide fumarique, livrait de l'acide malique en petites quantités, aux dépens du saccharose. Mais d'autres moisissures peuvent

élaborer cet acide. Parmi les *Aspergillus*, citons un *Asp. sp. blanc* (148); l'*Asp. Wentii* (124); l'*Asp. niger* (155); l'*Asp. flavus* LINK (79). Il est également produit par une espèce de *Clasterosporium* croissant sur glucose (124).

Associé comme il l'est souvent aux acides fumarique ou succinique, on peut, semble-t-il, admettre qu'il en dérive.

Rappelons que d'après SZENT-GYÖRGYI et ses collaborateurs (156), les oxydo-réductions de tissus cellulaires se feraient notamment par l'intermédiaire des acides oxalacétique, malique, fumarique et succinique, ce dernier se trouvant aux prises avec le système cytochrome.

12. ACIDE LACTIQUE : $\text{CH}_3\text{CHOH.COOH}$. — Il semble établi définitivement que l'acide lactique est produit par les diverses espèces appartenant au genre *Rhizopus*, sous des conditions particulières. Le glucose, le maltose, le saccharose, la dextrine et la fécule conviennent; le CaCO_3 est essentiel à la formation de quantités appréciables de cet acide. C'est chez le *Mucor Rouxii* (*rouxianus*) qu'il fut pour la première fois décelé, en 1901, par CHRZASZCZ (157). En plus des *Rhizopus*, il est encore produit par certains *Mucors* (138) et par une nouvelle espèce de *Monilia* (158).

Le *Rhizopus oryzae* a pu produire de 65 à 67 % d'acide basé sur le glucose consommé (140). Son origine est discutée. Pour KANEL (144), travaillant avec une souche affine du *Rhizopus japonicus*, la fermentation lactique s'effectue en deux phases, une phase d'oxydation suivie d'une phase de réduction, les deux processus se produisant à des endroits localisés du mycélium. En maintenant le rH à 8, la production d'acide fumarique est supprimée; mais, s'il devient > 8 les acides d-lactique et fumarique coexistent. Submergé, le *Rhizopus* ne produirait plus que de l'acide d-lactique.

Récemment, WAKSMAN (159) concluait :

a) En général, les conditions favorisant la croissance de *Rhizopus* empêchent l'accumulation d'acide lactique.

b) Le *Rhizopus* produirait l'acide lactique par un phénomène de fermentation, malgré qu'il soit un aérobie strict. L'acide lactique est précédé d'une substance intermédiaire, laquelle est convertie par le mycélium cultivé en anaérobiose, pour moitié en acide lactique; les 50 % restants sont de l'alcool et du CO_2 . L'énergie libérée par cette réaction est faible.

Au cours de la croissance du *Rhizopus* en aérobiose, les précurseurs de l'acide lactique et de l'alcool sont oxydés partiellement en acide lactique et CO_2 . Comme chez les formes supérieures de la vie, le *Rhizopus* possède un double mécanisme fermentatif et oxydatif.

L'acide lactique proviendrait directement de la glycolyse et les schémas de NEUBERG (faisant intervenir le méthylglyoxal), de MEYERHOF, KIESSLING et EMBDEN (faisant intervenir les acides phosphoglycérique et pyruvique), ne pourraient y trouver une application. Le schéma suivant propose l'explication du mécanisme de la glycolyse et du processus respiratoire du *Rhizopus* :

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (glucose) $\rightarrow$ $2\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ (composé intermédiaire) Anaérobiose.

$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ (composé intermédiaire) $\rightarrow$ $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ (acide lactique) Anaérobiose.

$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ (composé intermédiaire) $\rightarrow$ $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + \text{CO}_2$ Anaérobiose.

$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 3\text{O}_2 \rightarrow 2\text{CO}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$ Aérobiose.

$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3 + 3\text{O}_2 \rightarrow 3\text{CO}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$ Aérobiose.

Parmi les bactéries, il en est qui produisent l'acide lactique dextrogyre, d'autres le lévogyre (*Bacillus acidi laevolactici*). Plus habituellement, la fermentation lactique microbienne conduit à l'acide inactif ou faiblement actif (dextrogyre ou lévogyre). Dans l'industrie, l'acide obtenu est toujours inactif.

Les *Mucorinées* fabriquent de préférence l'acide d-lactique, plus rapidement assimilable que l'acide de synthèse lequel renferme, en quantités égales, les deux isomères. L'acide lactique de fermentation est très utilisé dans

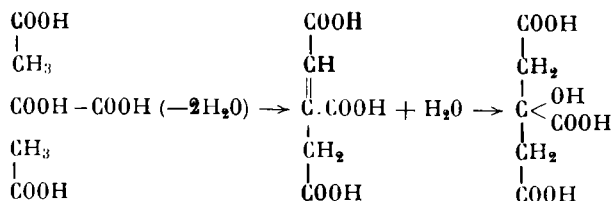
l'industrie : en teinturerie pour le mordantage préalable; dans l'industrie du cuir; dans celle des fermentations, pour prévenir les infections. Le sirop à 80 % — de densité 1,21, 1,22 — trouve un emploi en médecine.

13. ACIDE ACONITIQUE. $\text{COOH}.\text{CH}:\text{C}(\text{COOH}).\text{CH}_2.\text{COOH}$ et ITACONIQUE : $\text{CH}_2:\text{C}(\text{COOH})\text{CH}_2.\text{COOH}$. — La parenté de ces deux acides avec l'acide citrique est nette. Par chauffage, celui-ci perd une molécule d'eau et fournit l'acide aconitique; par perte de CO_2 , l'acide aconitique se transforme en acide itaconique. Or, l'hydratation biochimique de l'acide aconitique s'effectue à l'aide d'une souche d'*Aspergillus niger* avec un rendement en acide citrique de 20 % de l'acide aconitique mis en œuvre, BERNHAUER et BÖCKL (160).

L'acide itaconique lui-même est produit, à côté des acides gluconique et citrique, aux dépens de saccharose et de lévulose, par l'*Aspergillus itaconicus*, KINOSHITA (161). Il est à signaler que le glucose ne peut convenir pour la production de cet acide (162). L'auteur émet l'hypothèse que le sucre subirait les décompositions suivantes :

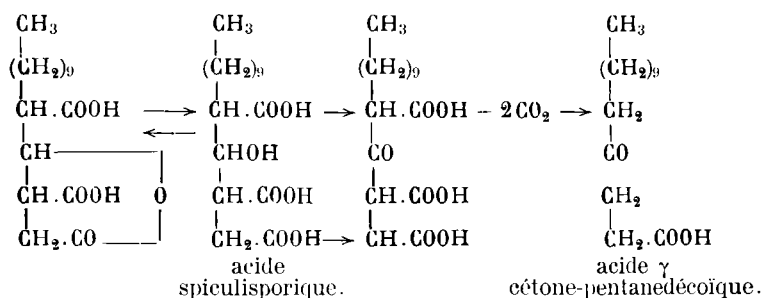
Sucre $\rightarrow$ acide gluconique $\rightarrow$ acide citrique $\rightarrow$ acide aconitique $\rightarrow$ acide itaconique.

Cette hypothèse est à rapprocher de celle de *Ravenna C.*, cité par THOMAS (163), faisant dériver l'acide citrique d'acide aconitique, résultant lui-même d'une fixation d'acide acétique sur l'acide oxalique :



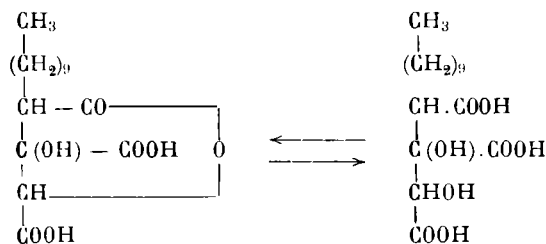
Une souche d'*Aspergillus terreus* THOM le produit également (164).

14. ACIDE SPICULISPORIQUE : (acide γ -hydroxy- $\beta\delta$ -dicarboxypentane décoïque). $C_{17}H_{28}O_6$. — Il a tout d'abord été retiré d'une culture de *Penicillium spiculisporum* LEHMAN sous sa forme lactonique par CLUTTERBUCK et ses collaborateurs (150), aux dépens du glucose. Par traitement chimique, il donne naissance à l'acide γ -cétonepentane-décoïque, lequel existe aussi comme produit de métabolisme du même *P. spiculosporum* LEHMAN :

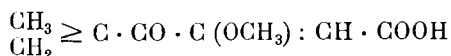


L'acide spiculisporique est également produit par le *Penicillium crateriforme* GILMAN et ABBOT (165), de même par le *Penicillium minio-luteum* DIERCKX (166). Ces trois *Penicillium* appartiennent au groupe des *Biver-ticillés Symétriques*.

15. ACIDE MINIO-LUTÉIQUE (γ lactone de l'acide $\alpha\beta$ -dihydroxy- $\beta\gamma$ -dicarboxy-n-tétradécanoïque). — Sa constitution le rapproche très fort de l'acide spiculisporique. Le *Penicillium minio-luteum* DIERCKX est le seul à le produire jusqu'à présent, à côté de quantités égales d'acide spiculisporique, BIRKINSHAW et RAISTRICK (166) :



16. ACIDE PÉNICILLIQUE. Acide γ céto- β -méthoxy- δ -méthylène- Δ^{α} -hexanoïque de formule



Il fut isolé en premier lieu par ALSBERG et BLACK (167) du *Penicillium puberulum* BAINIER. BIRKINSHAW et ses collaborateurs (168) ont trouvé que le *Penicillium cyclopium* WESTLING constitue une source plus abondante de cet acide et plus constante. Il est bon de noter que c'est la première fois qu'un groupement méthoxyle est rencontré dans des composés non cycliques produits par le métabolisme des moisissures.

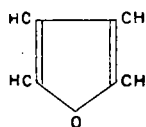
17. ACIDE ÉTHYLÈNEOXYDE- α β -DICARBONIQUE, $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5$.

Il est produit par *Monilia formosa* n. sp. et *Penicillium viniferum* n. sp. (169, 170).

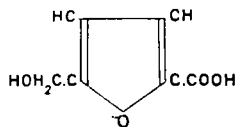
B. — ACIDES CYCLIQUES.

a) A noyau furanique.

1° ACIDE 2-HYDROXYMÉTHYLFURANE-5-CARBOXYLIQUE. — Cet acide a été isolé comme produit de métabolisme du glucose et du saccharose, d'une culture d'*Aspergillus glaucus*, par SUMIKI (171). Depuis, on a reconnu qu'il était également produit par les *Aspergillus clavatus*, *niger*, *oryzae*, *Wentii*.



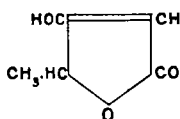
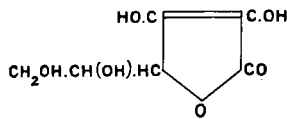
Furane



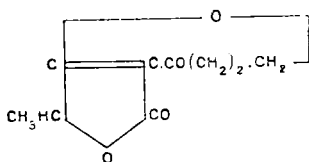
Acide de Sumiki

b) **A noyau tétronique.**

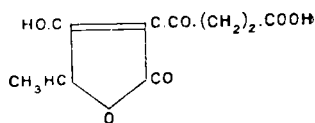
1° Le *Penicillium Charlesii* croissant sur glucose fournit une belle série d'acides (88, 89) dont les formules de structure ne sont pas sans grande analogie avec celle de la vitamine C.

Acide γ -méthyltétronique

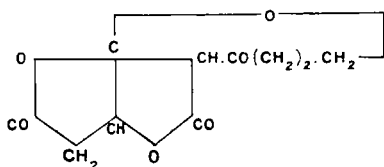
Acide ascorbutique (vitamine C)



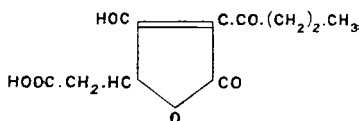
Acide carolinique



Acide carolinique



Acide carlique



Acide carlosique

2° L'ACIDE TERRESTRIQUE, isolé des produits de métabolisme du *Penicillium terrestre* JENSEN par BIRKINSHAW et RAISTRICK (172), est à rapprocher des acides tétroniques substitués du *P. Charlesii*. C'est un acide éthylcarolinique.

c) **A noyau pyranique.**

1° ACIDE KOJIQUE. Acide 5-hydroxy-2-hydroxyméthyl- γ -pyrone. — En 1907, SAÏTO isolait du mycélium d'*Aspergillus oryzae* un acide qu'il ne put identifier (173). YABUTA, en 1912 (174), lui donne le nom d'acide kojique

et signale qu'il développe une coloration rouge sang avec FeCl_3 , même à une dilution de 1/200.000. En 1924, le même auteur (175) détermine sa constitution. BIRKINSHAW et ses collaborateurs reprirent, en 1931, l'étude de l'acide kojique (176). Des 95 *Aspergillus* divers traités, 6 donnèrent une réaction positive.

L'*Aspergillus parasiticus* SPEARE vient en tête, puis les *Aspergillus oryzae* AHLBERG, *effusum* TIRABOSCHI, *tamarii* KITA (2 souches), une souche d'un *Flavus*.

La production de l'acide ne débute qu'après 3 jours; l'*Aspergillus oryzae* semble n'en produire qu'après 12 jours et une diminution s'opère pour toutes les cultures après 48 jours.

Les *Aspergillus flavus*, *oryzae*, *parasiticus*, *effusus* sont inclus dans le groupe morphologique *Flavus-Oryzae*.

L'*Aspergillus Tamarii*, qui lui aussi donne la réaction, est morphologiquement apparenté au groupe *Flavus-Oryzae*.

Aussi dirons-nous que l'acide kojique constitue un test d'identification du groupe *Flavus-Oryzae-Tamarii*. On ne peut cependant exclure de ce groupe certains *Aspergillus* ne donnant pas la réaction. Ainsi, de deux *Aspergillus flavus* étudiés par les auteurs, l'un donne la réaction et l'autre pas.

L'acide kojique est également produit par un *Penicillium* sur les 120 étudiés à ce point de vue, à savoir une souche de *P. Daleae* ZALESKI (toutes les souches de ce *Penicillium* ne le donnent pas, existence de « races physiologiques »). Pour ce *Penicillium* cultivé sur Czapek-Dox, à l'obscurité et à 24°, l'acide kojique ne peut cependant être détecté qu'après 30 jours. Tous ces résultats sont difficilement conciliables avec ceux de YABUTA, qui obtenait des résultats positifs avec les *Aspergillus albus*, *candidus*, *nidulans*.

On peut imaginer — faute de preuves — qu'il utilisait un autre milieu de culture que le Czapek-Dox et sous

d'autres conditions. L'acide kojique serait également produit par une bactérie acétique, mais aux dépens de mannitol et de lévulose uniquement (177).

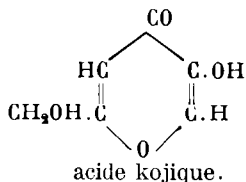
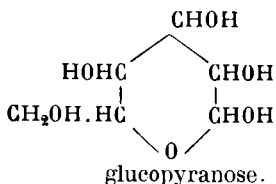
Facteurs déterminants : Un rendement de 33 % en acide kojique a été obtenu par KINOSHITA (178), qui utilisait un milieu saccharosé avec comme source azotée une cobaltammine. Il a pu être obtenu avec le même rendement au départ de dihydroxyacétone.

Des rendements de 63-66 % sont publiés par KATAGIRI et KITAHARA (179), utilisant l'*A. oryzae* en milieu très acide, pH 2,1. L'addition de 1/100 mg. de chlorure d'éthylène par litre de milieu de culture accentue fortement la production d'acide kojique par l'*Aspergillus flavus* (180). Le fer agit dans le même sens, d'après DI CAPUA (181).

Selon KLUYVER et PERQUIN encore (182), la carence de matière azotée assimilable, jointe à une forte acidité, — pH 2,2, — favorise la production d'acide kojique par l'*Aspergillus flavus*, tout comme celle de l'acide citrique par l'*Aspergillus niger*. Le galactose convient le mieux pour la fabrication de l'acide.

Mécanisme de formation : La structure pyranique de l'acide kojique est semblable à celle du glucose ordinaire, qui, d'après les vues de HAWORTH, se trouverait être un glucopyranose à noyau hétérocyclique.

Comme l'acide kojique peut être produit aux dépens de glucose, l'intérêt théorique du fait devient considérable :

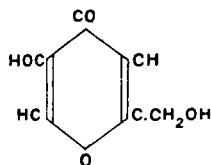
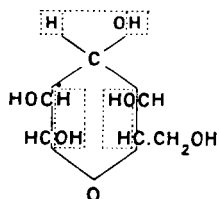


La synthèse de l'acide kojique s'opère à partir du dérivé tétraacétylé du glucose, par séparation de deux molécules

d'acide acétique et saponification de l'éther diacétylé de l'acide kojique, MAURER.

Il n'est question que d'hypothèses pour rendre compte de sa formation biochimique :

a) Celle admettant la déshydratation du glucose suivie d'une oxydation semble être abandonnée, faute de preuves suffisantes; en raison surtout du fait que l'acide kojique peut être obtenu non seulement au départ de corps en C_6 ou plus, — amidon, saccharose, lactose, glucose, lévulose, galactose, mannitol, — mais également en C_5 ou moins — arabinose, xylose, glycérol, dihydroxyacétone — (183).



Acide kojique

b) Celle où l'acétaldéhyde serait produite aux dépens de toutes les sources de carbone mises en œuvre. Brique de construction, elle servirait à édifier l'acide kojique par condensations successives. On peut tirer argument du fait que toutes les moisissures fabriquant de l'acide kojique produisent en même temps de l'alcool et en conséquence, transitoirement, de l'aldéhyde.

Cependant, le fait que la dissimilation du glucose en acide kojique s'opère mieux en absence de phosphates — GOULD (184) — indiquerait que l'acide kojique ne se formerait pas par resynthèse aux dépens d'acétaldéhyde. En plus, les « intercepteurs » d'aldéhydes n'empêchent pas la formation de l'acide.

c) Celle enfin, où la source de carbone serait anabolisée en un polyholoside spécifique de la moisissure, lequel

pourvoirait celle-ci en monosaccharide, ce dernier donnant naissance à l'acide kojique.

Utilisation : Bien que ses propriétés toxicologiques soient remarquables, la demande de ce produit n'existe pas encore. FRIEDEMANN renseigne que l'administration orale d'acide kojique à des chiens provoque des symptômes épileptiques (185).

d) **Acides à noyau benzénique.**

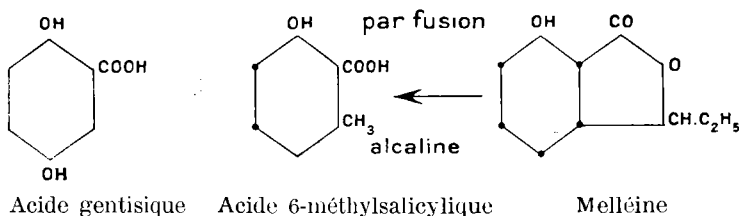
Les acides phénoliques suivants sont produits par le *Penicillium griseo-fulvum* DIERCKX :

1° L'ACIDE 6-HYDROXY-2-MÉTHYLBENZOÏQUE. Acide 6-méthylsalicylique donnant une coloration pourpre, avec FeCl_3 , ANSLOW et RAISTRICK (186).

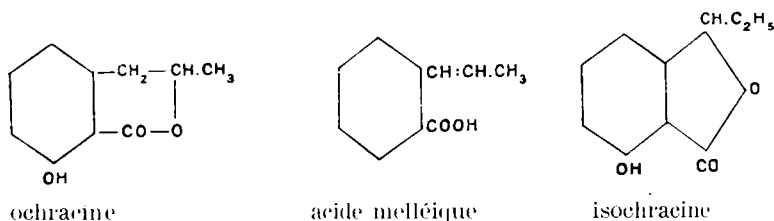
Il est également produit par le *P. flexuosum* DALE, OXFORD et ses collaborateurs (187).

2° L'ACIDE 2 : 5-DIHYDROXYBENZOÏQUE (acide gentisique), lequel développe avec le chlorure ferrique une coloration bleu sombre virant au brun, RAISTRICK et SIMONART (188), est produit par le même *P. griseo-fulvum* DIERCKX.

Les *Aspergillus melleus* YUKAWA (189) et *ochraceus* (190) fournissent un produit de métabolisme acide, d'odeur agréable, appelé MELLÉINE (OU OCHRACINE), lequel peut être converti en acide 6-méthylsalicylique par fusion alcaline. Il s'agit de la lactone de l'acide 6-hydroxy-2 α -hydroxypropylbenzoïque. La melléine donne une coloration pourpre avec FeCl_3 (sensibilité 1/100.000) :



Par fusion alcaline, suivie d'un traitement à l' H_2SO_4 , l'ochracine donne encore un peu d'acide melléique se transformant en ISOCHRACINE (191) :



3° Les *Penicillium puberulum* BAINIER et *aurantiovirens* BOURGE cultivés sur glucose produisent deux acides de formules $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_6$ (acide pubérulique) et $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_6$ (192). Réactions au FeCl_3 : brun foncé.

L'acide pubérulique est incolore et correspondrait à l'acide aldéhydodrihydrobenzoïque; l'acide $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_6$ est jaune et serait une forme quinonique de l'acide pubérulique. Il s'agirait d'un système oxydo-réducteur.

4° Acides provenant des *Penicillium* du groupe *brevi-compactum*.

Gosio extrayait, en 1890, de moisissures s'attaquant au maïs, des substances se colorant en bleu-violet par FeCl_3 , auxquelles on attribua le pouvoir de déterminer la pellagre. Celle-ci, maintenant, est connue comme provoquée par l'absence de la vitamine B_2 , du moins par la généralité des auteurs. Il est établi que c'est le *Penicillium stoloniferum* THOM (167) qui produit la substance, appelée acide mycophénolique, responsable de la coloration.

Le *Penicillium brevi-compactum*, à son tour, élabore une série d'acides phénoliques dont la comparaison des formules de structure d'origine orcinique et de l'ordre

d'apparition, OXFORD et RAISTRICK (193) accuse le degré de parenté profonde. Ce sont :

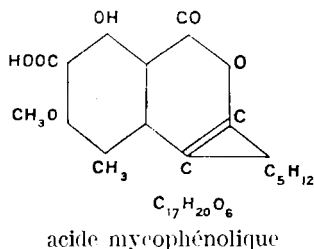
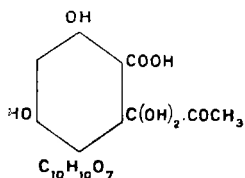
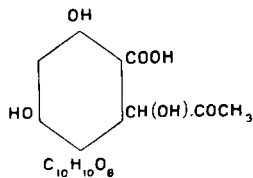
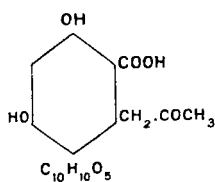
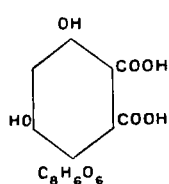
$C_8H_6O_6$: acide 3 : 5 dihydroxy - phtalique.

$C_{10}H_{10}O_5$: acide 3 : 5 dihydroxy - 2 - carboxy - benzylméthylcétone.

$C_{10}H_{10}O_6$: acide 3 : 5 dihydroxy - 2 - carboxy - phénylacétylcarbinolique.

$C_{10}H_{10}O_7$: acide 3 : 5 dihydroxy - 2 - carboxy - benzoylméthylcétone.

$C_{17}H_{20}O_6$: acide mycophénolique.



C. — ACIDES A STRUCTURE INCONNUE.

1° ACIDES GLAUCONIQUE et GLAUCANIQUE : $C_{18}H_{20}O_7$, $C_{18}H_{20}O_6$. — Ils furent obtenus d'une souche de *P. « glaucum »*, WYKMAN (194) aux dépens du saccharose. Cristaux incolores tous deux. L'acide glauconique, sous l'action de la chaleur, donne de l' α - β -diéthylacroléine $C_7H_{12}O$ et de la glauconine $C_{11}H_{18}O_6$ qui est un acide tétrabasique. L'acide glauconique est également produit par un *Penicillium* parasite d'*Aspergillus niger*, YUILL (195).

2° ACIDE BYSSOCHLAMIQUE. — Élaboré par le *Byssochlamys fulva* OLLIVER et SMITH (196), il est fort semblable à l'acide glauconique du *Penicillium* étudié par WYKMAN.

3° ACIDE GLAUCIQUE : $C_{17}H_{22}O_5$. — C'est un acide monobasique, ne contenant ni groupe méthoxyle ou hydroxyle. Il fut isolé par SUMIKI, des produits de métabolisme d'*Aspergillus glaucus* (197).

4° ACIDE FULVIQUE : $C_{14}H_{12}O_8$. — Il se présente sous forme de cristaux jaunes, produits par le *Penicillium griseo-fulvum* DIERCKX (198). Il s'agit d'un acide phénolique donnant une coloration vert sombre au $FeCl_3$.

D. — ACIDES AMINÉS ET CHLORÉS.

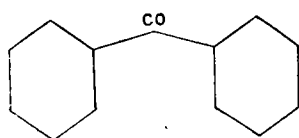
Du mycélium de moisissures ou, plus rarement, des liquides de métabolisme, on a pu extraire des quantités parfois importantes d'acides aminés. Ainsi du mycélium dégraissé d'*Aspergillus Sydowi*, WOOLLEY et PETERSON (199) retirent la leucine et l'isoleucine; de l'autolysat du mycélium du même *Aspergillus*, ils isolent (200) en plus les acides aspartique et glutamique, la tyrosine, la proline, la valine, la sérine, la thréonine, le tryptophane. Une substance azotée acide, $C_{22}H_{28}O_5N_2$, d'aspect blanc cristallin est encore extraite du mycélium du *Penicillium griseo-fulvum* DIERCKX (198). La glucosamine fait partie des produits d'hydrolyse du *Penicillium javanicum*, MAY et WARD (201).

Cultivé sur glucose en présence de KCl, l'*Aspergillus terreus* THOM élabore deux composés diacides chlorés remarquables, RAISTRICK et SMITH (202) : la géodine, $C_{15}H_6O_5Cl_2(OCH_3)_2$ et l'erdine, $C_{15}H_7O_6Cl_2(OCH_3)$.

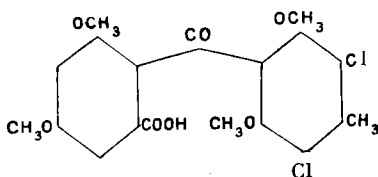
La substitution de KBr ou de KI à KCl ne conduit pas aux dérivés bromés ou iodés correspondants, bien que la croissance de la moisissure soit normale.

La géodine est l'éther monométhylrique de l'erdine; tous deux se transforment aisément par réduction catalytique en dihydrogéodine : $C_{17}H_{14}O_7Cl_2$ et dihydroerdine : $C_{16}H_{12}O_7Cl_2$.

L'éther triméthylque de la dihydroerdine, étudié par CALAM et ses collaborateurs (203), présente une structure benzophénonique, rencontrée pour la première fois dans des produits de métabolisme fongique :



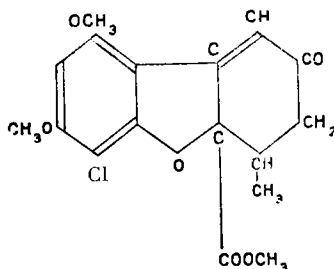
Benzophénone (diphénylacétone)



Ether triméthylque de la dihydroerdine

La griséofulvine : $C_{17}H_{17}O_6Cl$, obtenue du mycélium de *Penicillium griseo-fulvum* DIERCKX par OXFORD et ses collaborateurs (204), est une substance neutre, mais forme néanmoins, avec la géodine et l'erdine, une catégorie bien spéciale de produits chlorés de métabolisme.

Elle se présente en cristaux incolores, de pouvoir rotatoire extraordinairement élevé (α)₅₄₆₁ + 417°. Sa formule de structure probable est la suivante :



§ 2. Produits neutres.

1. ACÉTALDÉHYDE : $CH_3.CHO$. — L'acétaldéhyde a été détectée par des méthodes de fixation dans le cas de toutes les moisissures qui produisent de l'alcool. C'est ainsi que NEUBERG et COHEN, bloquant l'aldéhyde acétique sous forme de combinaison sulfitique, ont pu la mettre en évi-

dence, et parfois en quantité appréciable, chez des *Monilia*, *Mucor*, *Oidium*, *Aspergillus*, *Penicillium* croissant sur milieux glucosés.

Plus récemment, BIRKINSHAW et RAISTRICK (124) l'ont isolée sans fixation préalable, par fractionnement des produits volatils de fermentation d'*Helminthosporium geniculatum* et d'un *Clasterosporium species*, producteurs également tous deux d'alcool.

Une culture d'*Aspergillus niger* sulfitée a pu transformer 60 % de saccharose métabolisé en acétaldéhyde. Les acides oxalique et citrique ne se formaient plus (205). Les sulfites modifient donc de manière profonde tous les genres de fermentation.

2. ALDÉHYDE PYRUVIQUE. (Méthylglyoxal) : $\text{CH}_3.\text{CO}.\text{CHO}$. — Elle se forme sous l'action de l'*Aspergillus niger* sur l'hexose diphosphate de sodium, en présence de toluol. L'importance prêtée à cette aldéhyde par NEUBERG est bien connue.

3. ALDÉHYDE GLYCÉRIQUE : $\text{CH}_2\text{OH}.\text{CHOH}.\text{CHO}$. — Elle fut obtenue aux dépens d'arabinose par action de l'*Aspergillus oryzae* (93).

4. PALITANTINE : $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_4$. — C'est une dihydroxyaldéhyde non saturée, produite par le *Penicillium palitans* WESTLING (206).

5. ÉTHANOL : $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. — Dès 1876, FITZ mentionne la production d'alcool par le *Mucor racemosus*. Depuis, on a reconnu sa présence dans la plupart des fermentations mucoréennes.

Avant les travaux de BIRKINSHAW et de ses collaborateurs (80, 81), l'alcool était considéré comme un produit rare chez les *Aspergillus* et *Penicillium*, bien qu'en 1890 déjà, ELFVING (207) obtint un rendement de 4,2 % en utilisant un *Penicillium* « *glaucum* ».

Certains *Fusarium* sont, par excellence, producteurs d'alcool. Les auteurs précités (208) découvrent l'alcool en quantité comme produit de métabolisme des 23 espèces qu'ils ont étudiées. Ils suggèrent l'idée de sélectionner des races pour l'obtention d'alcool au départ de résidus végétaux, les *Fusarium* présentant sur les levures le grand avantage de pouvoir fermenter les pentoses.

6. MANNITOL : $\text{CH}_2\text{OH}(\text{CHOH})_4\text{CH}_2\text{OH}$. — Bien que décelé depuis longtemps dans le mycélium de moisissures, il ne fut pas tout de suite considéré comme produit de fermentation.

BOURQUELOT, en 1889, l'isole le premier d'une culture d'*Aspergillus niger*. BIRKINSHAW et ses collaborateurs (148) l'obtiennent de trois *Aspergillus* sp. blancs, d'un *Asp. elegans* et de 5 *Asp. nidulans*. Une souche d'*Aspergillus* blanc alla jusqu'à donner 50 % du glucose fermenté en mannitol. Il est également produit par l'*Aspergillus itaconicus* (161).

Des *Penicillium* le produisent également : *P. stolonifer* (168); *P. duclauxii*, qui en renferme 2,5 gr. par kilo de mycélium; *P. griseo-fulvum* DIERCKX (188); *P. chrysogenum*.

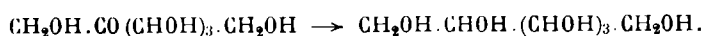
Il est produit en abondance par *Helminthosporium geniculatum* et une espèce de *Clasterosporium* (124), de même par le *Botrytis cinerea* (209).

Facteurs déterminants : Un ralentissement de l'aération des cultures a comme conséquence d'accroître la quantité de mannitol.

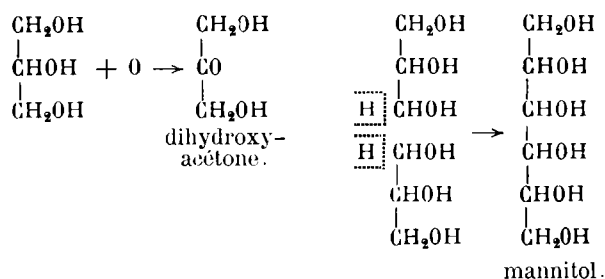
Mécanisme de formation : Sa genèse aux dépens de glucose en milieu sensiblement neutre peut s'expliquer par une réaction de Cannizzaro. Mais le problème s'élargit du fait que le mannitol peut être édifié par une souche d'*Aspergillus* blanc aux dépens des hexoses mannose, galactose, glucose, à l'exception du lévulose, de même par

les pentoses : arabinose et xylose, COYNE et RAISTRICK. Les réactions doivent évidemment ici devenir plus complexes. Il est également bien connu que le mannitol est un produit fréquent du métabolisme des bactéries croissant dans des solutions sucrées.

Ne rappelons que la fermentation mannitique des vins. Contrairement aux moisissures, le fructose seul peut convenir. Il subit apparemment une réduction directe :



Il existe différentes souches d'*Aspergillus* pouvant produire du d-mannitol en milieu glycérolé en quantité telle qu'il peut atteindre le poids du mycélium lui-même. L'optimum de production est à pH 7. La bactérie du sorbose de Bertrand opère donc encore ici différemment de la moisissure, en oxydant le groupement secondaire du glycérol au lieu du terminal qui permet la condensation en mannitol, avec comme conséquence la production de dihydroxyacétone :



Un problème de stéréo-isomérisie se pose à propos du mannitol, qui apparaît comme un produit de réduction biochimique du glucose. Or, le produit normal de réduction du glucose est le sorbitol, qui, en dépit de toutes les recherches, n'a jamais été mis en évidence dans une culture.

Technologie : du point de vue industriel, les moisissures sont plus intéressantes que les bactéries pour la fabrication du mannitol.

Elles sont moins exigeantes quant à l'alimentation azotée,

les bactéries réclamant l'N sous forme de peptone ou d'extrait de levure. Elles peuvent encore utiliser le glucose, de prix inférieur au lévulose.

De plus, l'extraction du mannitol de cultures microbiennes est pénible en raison de la présence de matières azotées (protéines ou peptones) et de lactate de chaux, l'acide lactique étant produit principalement par le glucose quand on fait usage de sucre interverti.

Transformé en hexanitate, le mannitol est utilisé comme détonateur.

7. GLYCÉROL : $\text{CH}_2\text{OH}.\text{CHOH}.\text{CH}_2\text{OH}$. — Il est suffisamment connu comme produit de fermentation de la levure. C'est EMMERLING qui le premier (147) l'isole comme produit de métabolisme du *Mucor racemosus*, cultivé sur saccharose. Depuis, on l'a retrouvé dans les cultures glucosées d'un *Aspergillus* sp. blanc (148), de l'*Helminthosporium geniculatum*, d'un *Clasterosporium* (124) et d'un *Asp. Wentii* (124).

8. ÉRYTHRITOL : $\text{CH}_2\text{OH}.\text{CHOH}.\text{CHOH}.\text{CH}_2\text{OH}$. — Cet alcool tétraatomique se présente sous une forme inactive dans le mycélium des *Pen. brevi-compactum* DIERCKX et *cyclopium* WESTLING, OXFORD et RAISTRICK (210).

Un des érythritols optiquement inactifs se trouve également dans un lichen, *Rocella tinctoria*, qui sert à préparer une couleur rouge (orseille).

9. TRÉHALOSE : $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$. — Le tréhalose, accompagné du mannitol, est fréquent chez les Basidiomycètes.

En 1890, BOURQUELOT remarquait déjà que par dessiccation, le tréhalose est détruit, alors que le mannitol voit sa dose augmenter. Les variations en mannitol et tréhalose seraient caractéristiques des espèces. OBATON (211) cite le cas des *Sterigmatocystis nigra* et *Phoenicis*, de morphologie très voisine, pour la distinction desquels il serait nécessaire de faire appel à des caractères biochimiques.

10. ACÉTATE D'ÉTHYLE : $\text{CH}_3\text{COO.C}_2\text{H}_5$. — Cet ester est caractéristique du *Penicillium digitatum* SACCARDO, qui le produit en forte quantité aux dépens de glucose, à côté d'alcool (212). Peut-être provient-il de l'aldéhyde acétique, qui subirait une sorte de réaction de Cannizzaro.

11. COMPOSÉS ORGANO-MÉTALLIQUES. — Déjà, en 1892, Gosio rapportait la production de composés arsenicaux par les moisissures. Il existe des cas d'empoisonnement dus à l'action délétère des papiers peints humides de chambres à coucher mal aérées. Il se dégage des arsines dans ces conditions.

Il n'y a pas que le *Scopulariopsis brevicaulis* qui soit arsenical. On peut citer les *Aspergillus Sydowi* (213), *glauca*, *virescens*, *niger* (214), les *Mucor mucedo* et *racemosus* (214) comme producteurs de diéthylarsine.

L'arsenic n'est pas seul à pouvoir entrer dans la composition de produits volatils élaborés par des moisissures. BIRD et CHALLENGER (215) rapportent que trois souches de *Scopulariopsis brevicaulis* (*Pen. brevicaulis*), une de *Penicillium chrysogenum* et une autre encore apparentée au *Pen. notatum*, cultivées toutes sur mie de pain, donnent, en présence de tellurite de K, de la diméthyltelluride ou de la diméthylsélénide en présence de sélénate ou de sélénite de Na.

§ 3. Pigments.

Le vocable « moisissure », terne à l'égal de la terre ou du vitrail poussiéreux du dehors, évoque cependant toute une magie de couleurs pour le mycologue. Arrache-t-on la moisissure des rebuts sordides où elle se complait et passe inaperçue, de l'écorce pourrissante ou du sol qui la noie de sa teinte uniforme; la place-t-on en tube de culture comme sous globe, on assiste à une vraie transfiguration végétale. Non seulement apparaissent les colorations propres du mycélium et des conidies, mais encore s'opère sou-

vent la diffusion de pigments magnifiques au revers des cultures.

Une telle profusion de pigments surprend davantage si l'on songe que le glucose est généralement leur générateur à tous. L'émerveillement n'est pas loin quand on passe à l'étude de leur structure variée et complexe. L'apparition des pigments fongiques est liée intimement à la présence de métaux, principalement du zinc, et, à un moindre degré, du fer et du cuivre (216). Le magnésium serait nécessaire à la formation du pigment du *Penicillium purpurogenum*, le fer pas, BREMER (217). Nous avons vu comment la pigmentation des spores est sous l'étroite dépendance des mêmes éléments (15).

NIETHAMMER (218) trouve deux pigments rouge et bleu au *Fusarium oxysporum*; le zinc favorise l'apparition du premier.

BORTELS (219) démontre que le zinc à fortes doses provoque l'apparition d'un pigment violet chez l'*Aspergillus niger*.

Parfois le pigment ne se forme bien qu'à la lumière.

La raison physiologique des pigments est aussi mystérieuse que leur origine. Le fait que certains d'entre eux coexistent avec leurs formes réduites dans les milieux de culture les fait considérer d'habitude comme agents oxydo-réducteurs.

1. Pigments caroténoïdes.

Se reporter au paragraphe des « Facteurs de croissance et vitamines », page 24.

Ce sont des pigments cellulaires et liposolubles, rouges, orangés ou jaunes.

Les microbes colorés en rouge ou jaune en contiennent, de même les *Torulas* rouges, qui, d'après SCHOPFER, renferment quatre caroténoïdes différents : deux cristallisables, du carotène β et du torulène.

Le *Mucor hiemalis* et le *Phycomyces Blakesleanus* peuvent synthétiser le β -carotène lorsque le milieu contient, comme source d'azote, de la glycine ou de l'asparagine. Un fait curieux, c'est qu'il suffit d'un milligramme de vitamine B₁ par litre de milieu de culture pour supprimer la production de carotène par les Mucorinées précitées.

2. Pigments anthraquinoniques.

L'anthracène constitue le noyau fondamental de matières colorantes organiques végétales bien connues comme l'alizarine et la purpurine. Un grand nombre de polyhydroxyanthraquinones constituent les pigments aux teintes vives et variées dont la diffusion s'opère dans la gélatine ou l'agar des cultures.

Ainsi les espèces du genre *Helminthosporium*, sous-genre *Cylindo* (220), cultivées sur milieu glucosé, élaborent une série remarquable de colorants anthraquinoniques rouges dont le poids peut atteindre chez *Helminthosporium gramineum* RABENHORST 30 % de celui du mycélium.

Ces pigments dérivent tous de la 2-méthylantraquinone; ce sont :

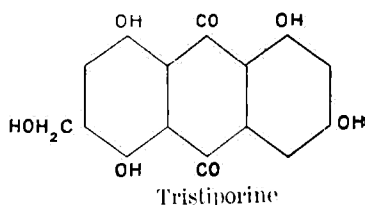
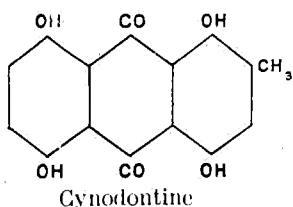
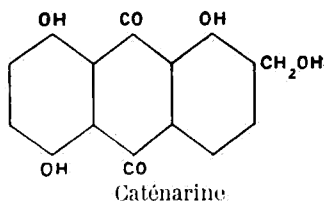
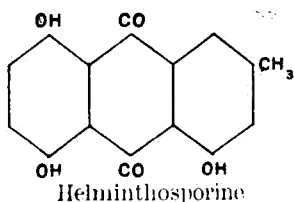
a) Helminthosporine : 4 : 5 : 8-trihydroxy-2-méthylantraquinone; *H. gramineum* RABENHORST (220), *H. cynodontis*, un peu (221).

b) Caténarine : 1 : 5 : 8-trihydroxy- β -(hydroxyméthyl)-anthraquinone; *H. gramineum* (220), *H. catenarium*, *H. velutinum*, *H. tritici-vulgaris* NISIKADO (222).

c) Tritisporine : 1 : 3 : 5 : 8-tétrahydroxy-6 ou 7-(hydroxyméthyl)-anthraquinone; *H. tritici-vulgaris* NISIKADO (222).

d) Cynodontine : 1 : 4 : 5 : 8-tétrahydroxy-2-méthylan-

thraquinone; *H. cynodontis* MARIGNONI, *H. euchlaenae* ZIMMERMAN (221), *H. avenae* (223).



Les *Aspergillus* de la série *glaucus* fournissent une série aussi belle. C'est d'abord la flavoglaucine $C_{19}H_{28}O_3$, aiguilles jaune citron; l'auroglaucine $C_{19}H_{22}O_3$, aiguilles rouge orangé, et la rubroglaucine $C_{16}H_{12}O_5$, aiguilles rouge rubis, extraites de 25 espèces (224), GOULD et RAISTRICK.

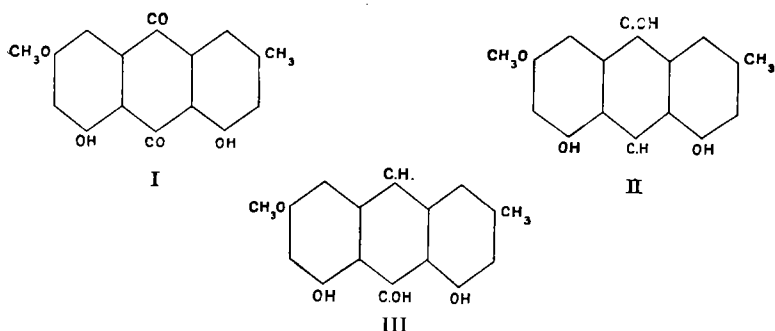
Par la suite, la rubroglaucine d'*Aspergillus ruber* SPIECKERMANN et BREMER, devait se révéler un mélange d'érythroglaucine ⁽¹⁾ et de physcion (225). Le physcion, qui est une 4:5-dihydroxy-7-méthoxy-2-méthylantraquinone, se trouve dans plusieurs espèces de lichens des genres *Xanthoria* et *Placodium*, de même dans une liane des Indes, *Ventilago madraspatana* GARTN. Déjà le physcion fut isolé en 1937 de la flavoglaucine brute d'un *Aspergillus glaucus* LINK (226). D'autre part, la flavoglaucine et l'auroglaucine posséderaient un noyau hydroquinonique et non anthraquinonique (227).

Chez certaines espèces du groupe *glaucus*, le physcion

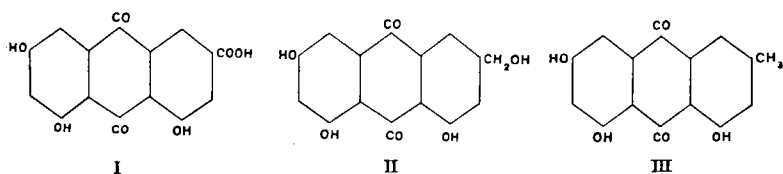
(1) L'érythroglaucine, dont la constitution moléculaire n'est pas encore déterminée, est une trihydroxymonométhylantraquinone.

(I) est accompagné de ses formes réduites, à savoir les anthranols A et B (II, III), comme c'est le cas pour la liane citée (228).

Il s'agit, à première vue, d'un système d'oxydo-réduction vital :

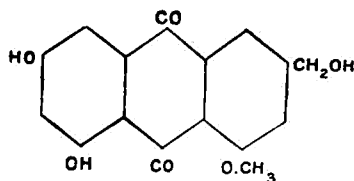


D'une souche de *Penicillium cyclopium* WESTLING, ANSLOW et ses collaborateurs (229) viennent de retirer l'acide émодique (I) 4 : 5 : 7-trihydroxyanthraquinone-2-carboxylique et une substance nouvelle (II) qui est la ω -hydroxyémодine ou 4 : 5 : 7-trihydroxy-2-(hydroxyméthyl)-anthraquinone, produits étroitement apparentés à l'émодine de *Frangula* (III). Ces trois substances possèdent encore entre elles les mêmes relations que celles qui existent entre la rhéine (acide 4 : 5-dihydroxyanthraquinone-2-carboxylique); l'émодine d'Aloès (4 : 5-dihydroxy-2-(hydroxyméthyl)-anthraquinone) et l'acide chrysophanique (4 : 5-dihydroxy-2-méthylanthraquinone) :



Le *Penicillium citreo-roseum* DIERCKX élabore de même la ω -hydroxyémодine — formule II — ou citroroséine (230).

Du *Penicillium roseo-purpureum* DIERCKX, POSTERNAK (231) isole encore la roséopurpurine sous forme d'aiguilles jaunes, de formule



C'est donc la 5:7-dihydroxy-2-hydroxyméthyl-4-méthoxyanthraquinone.

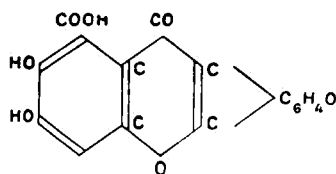
La carvioline, $C_{16}H_{12}O_6$, cristaux jaune de chrome, et la carviolacine, $C_{20}H_{16}O_7$, cristaux brunâtres, isolées de cultures de *Penicillium carmino-violaceum* BIOURGE (91), appartiennent aussi à la série anthraquinonique, mais leur formule de structure n'est pas complètement établie.

3. Pigments apparentés à la xanthone.

A. *Raveneline*. — Les *Helminthosporium Ravenelii* CURTIS et *turcicum* PASSERINI produisent aux dépens du glucose la raveneline, $C_{14}H_{10}O_5$, qui est une méthyltrihydroxyxanthone, RAISTRICK et ses collaborateurs (232).

B. *Citromycétine*. — Cristaux jaunes de formule $C_{14}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$ produits aux dépens de glucose, maltose ou glycérol par les *Citromyces glaber* WEHMER, *pfefferianus* et quelques souches affines. Elle indique sa présence par l'apparition d'une teinte vert foncé à l'aide de $FeCl_3$, HETHERINGTON et RAISTRICK (233).

Sa formule de structure non complètement élucidée y fait découvrir la condensation xanthonique :



Ce produit caractérise beaucoup mieux les *Citromyces* que l'acide citrique, puisque sur plusieurs centaines d'espèces appartenant à différents genres, quelques *Citromyces*, et pas tous encore, fournissent la coloration propre à la citromycétine. La réaction varie encore en intensité chez les espèces qui la produisent.

Le *Penicillium italicum* WEHMER, étudié par BIRKINSHAW et ses collaborateurs (212), développe également, sous l'action du chlorure ferrique en excès, une coloration vert émeraude dans le milieu de culture. La substance responsable, non encore isolée, est toutefois différente de la citromycétine.

C. *Rubrofusarine, aurofusarine, culmarine*. — Les pigments de *Fusarium*, magnifiques et variés de teinte, n'ont été isolés qu'en petit nombre. BESSEY, en 1904 (234), retire bien un pigment brut de *Fusarium culmorum* — jaune en solution acide, rouge en solution neutre, violet en solution alcaline. Mais c'est seulement en 1937 que l'étude de leur structure est abordée. ASHLEY, HOBBS et RAISTRICK (235) isolent du même *Fusarium culmorum* la rubrofusarine $C_{15}H_{12}O_5$, pigment rouge cristallin; l'aurofusarine $C_{30}H_{20}O_{12}$ (?) en prismes jaune orangé et la culmarine $C_{15}H_{26}O_2$, substance neutre en aiguilles incolores. La rubrofusarine serait l'ester monométhylique d'une méthyltrihydroxyxanthone, isomère, mais non identique à la raveneline.

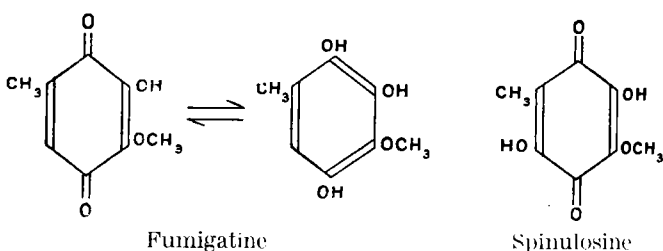
4. Pigments à noyau quinonique.

Ils sont présentés par ordre de complexité croissante et dérivent du noyau benzoquinone :



A. *Fumigatine*. — Elle fut isolée par ANSLOW et

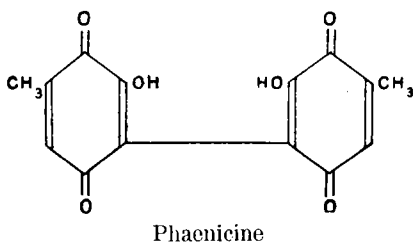
RAISTRICK d'une souche d'*Aspergillus fumigatus* FRESENIUS (236). Une souche sur les six étudiées la fournit. Aiguilles marron de formule $C_8H_8O_4$. Sa formule de structure en fait une 3-hydroxy-4-méthoxy-2 : 5-toluquinone, en équilibre *in vivo* avec l'hydroquinone correspondante. La proportion de celle-ci variant avec l'âge des cultures, il s'agit peut-être d'un système oxydo-réducteur :



B. *Spinulosine*. — Dès 1931, BIRKINSHAW et RAISTRICK (237) isolaient une méthoxy-dihydroxy-toluquinone de trois souches de *Penicillium* appartenant à la série *spinulosum*. En 1938, ils lui donnent le nom de spinulosine après la détermination complète de sa structure (236). La fumigatine, par condensation avec la méthylamine suivie d'hydrolyse par H_2SO_4 , peut être transformée en spinulosine ou hydroxyfumigatine. La synthèse de la spinulosine confirma son étude (238). La spinulosine est encore produite par une souche d'*Aspergillus fumigatus* FRESENIUS (239). Cristaux de teinte analogue à celle du $KMnO_4$ donnant avec le chlorure ferrique alcoolique une coloration brun sombre. Il n'a pas encore été possible d'isoler l'hydroquinone de la spinulosine.

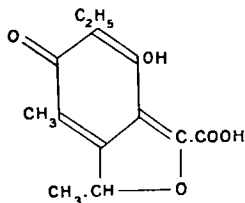
C. *Phaenicine*. — En 1933, FRIEDHEIM obtint du *Penicillium phaeniceum* (240) un pigment rouge qui représente la 2-2'-dihydroxy-4-4'-diméthyldiquinone, POSTERNAK (241). Le même pigment est produit par le *Penicillium rubrum* (242). Sur certains milieux, et notamment le

moût de bière, la phaenicine se trouve en partie sous forme de leuco-dérivé (tétrahydrophaenicine) :



D. *Lutéoleersine et alboleersine*. — Du mycélium d'*Helminthosporium leersii*, ATKINSON, ASHLEY et RAISTRICK ont retiré deux substances paraissant aussi *in vivo* constituer un système oxydo-réducteur (243). Il s'agit de la lutéoleersine $C_{26}H_{38}O_7$ — aiguilles jaune-rouge — et de l'alboleersine $C_{26}H_{40}O_7$ — aiguilles incolores. La lutéoleersine donne la réaction caractéristique des quinones. Sa formule de structure n'est pas connue.

E. *Citrinine*. — Cristaux jaunes de formule brute $C_{13}H_{14}O_5$, produit de métabolisme du *Penicillium citrinum* THOM (244) et d'une des cinq souches des *Aspergillus* de la série *terreus* THOM, étudiées par RAISTRICK et SMITH (149) :

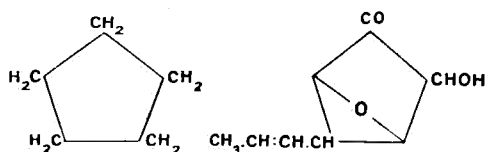


A côté de tous les pigments dont la structure vient d'être décrite, il en est d'autres à structure plus spéciale ou non encore établie.

A. *Terréine* : $C_8H_{10}O_3$. — Elle est produite par deux des cinq souches de la série *terreus* (149); dans l'une, la

citrinine l'accompagne. Des trois autres souches, l'une produit de l'acide succinique, une de l'acide oxalique et la troisième un mélange de ces deux acides.

La terréine, pigment dérivé du cyclopentane, est la 4-propényl-2-hydroxy-3:5-oxycyclopentane-1-one (245):

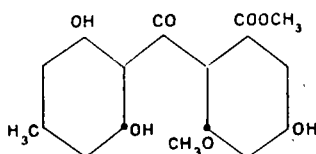


B. *Monascorubrine*. — Le *Monascus purpureus* WENT donne la monascorubrine, $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_5$, en cristaux rouges; le mycélium âgé fournit encore la monascoflavine, $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_4$, en cristaux jaunes (246).

C. *Oosporine, aurantine*. — Les *Oospora* élaborent plusieurs pigments. Ainsi l'*Oospora aurantia* métabolise, à côté d'oosporine $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$, cristaux incolores donnant une coloration brun-pourpre avec FeCl_3 , de l'aurantine, $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_3$, en cristaux développant la même teinte sous l'action de FeCl_3 (247). De l'*Oospora sulfurea-ochracea*, trois composés cristallins de formules $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_8$ — coloration violette avec FeCl_3 alcoolique; — $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4$ — cristaux jaune pâle donnant avec le FeCl_3 dans l'alcool une coloration verte; — $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_8$ — ne donnant aucune coloration avec FeCl_3 , sont encore isolés (248).

D. *Sulochrine*. — Du mycélium de l'*Oospora sulfurea-ochracea*, NISHIKAWA (249) isole la sulochrine de formule $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_7$. Elle se présente sous forme d'aiguilles jaune clair donnant une coloration vert foncé avec le FeCl_3 alcoolique. La formule de structure décèle le noyau benzo-phénonique découvert en tout premier lieu dans l'erdine

et la géodine, les produits chlorés de métabolisme déjà décrits :



E. *Aspergilline*. — Terminons en citant l'aspergilline (250) des spores d'*Aspergillus niger*, pigment type des mélanines solubles dans les alcalis. Elle contient du Fe et est analogue à l'hémoglobine.

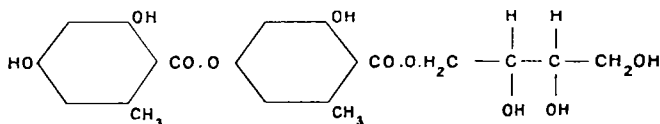
REMARQUES.

I. — Certains produits de métabolisme fungiens peuvent être comparés à des principes lichéniques.

A. Les acides à noyau orcinique du *Penicillium brevicompactum* DIERCKX et les acides orsellique et lécanorique des genres *Rocella*, *Parmelia*, *Lecanora*.

B. L'acide gras polybasique, $C_{17}H_{28}O_6$, du *Penicillium spiculisporum* à la fois avec les acides lichéniques oxyrocellique, $C_{17}H_{32}O_5$, isolé par HESSE de différents *Rocella*, et l'acide proto- α -lichenstérinique, $C_{18}H_{30}O_5$, du *Citraria inslandica*.

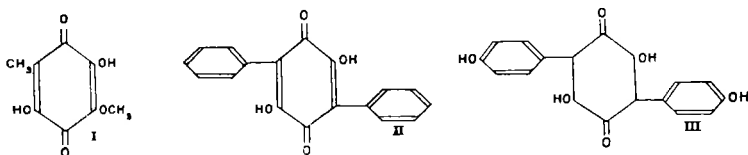
Des moisissures synthétisent encore des principes isolés déjà de lichens. Ainsi l'érythritol obtenu du mycélium des *Penicillium brevicompactum* DIERCKX et *cyclopium* WESTLING se trouve dans l'érythrine de *Rocella tinctoria*, qui est l'ester de l'acide lécanorique (ou diorsellique) avec l'érythritol :



Erythrine

L'exemple le plus frappant et le dernier en date est fourni par le physcion, extrait de l'*Aspergillus ruber* du groupe *glaucus* (228). Il semblerait dès lors que les acides lichéniques reçoivent en grande partie leur nature, si pas entièrement, du champignon du lichen, comme on sait déjà qu'il lui imprime sa forme.

Remarquons encore la frappante analogie de certains produits de métabolisme, telle la spinulosine (I), avec des principes extraits de Basidiomycètes supérieurs comme l'acide polyporique (II) de *Polyporus nidulans* (251) et l'atromentine (III) de *Paxillus atromentosus* BATCH (252).



II. — En règle générale, nombre de produits de métabolisme sont caractéristiques et spécifiques d'espèces, de genres ou de groupes. Mais ce n'est pas toujours le cas.

A. LA PHAENICINE du *P. rubrum* (*Biverticillata symmetrica* de THOM) et du *P. phaeniceum* (*Monoverticillata ramigena* de THOM).

B. L'ACIDE KOJIQUE du groupe des *Aspergillus Flavus-Oryzae-Tamarii* et du *Penicillium Daleae* ZALESKI (*Asymmetrica funiculosa* de THOM).

C. L'ACIDE 6-MÉTHYLSALYCILIQUE des *Penicillium griseofulvum* DIERCKX (*Asymmetrica funiculosa*) et *flexuosum* DALE (*Fasciculata*).

D. L'ACIDE PUBÉRULIQUE des *P. puberulum* BAINIER (*Velutina*) et *aurantio-virens* BIOURGE (*Lanata-typica*).

E. LA CITROROSÉINE (ω -hydroxyémordine) des *P. cyclo-*

pium WESTLING (*Fasciculata*) et *citreo-roseum* DIERCKX (*Velutina*).

F. LA SPINULOSINE du *Penicillium spinulosum* THOM (*Monoverticillata-stricta*) et de l'*Aspergillus fumigatus* FRESENIUS.

G. LA CITRININE du *Penicillium citrinum* THOM (*Velutina*) et de l'*Aspergillus terreus* THOM.

III. — A maintes reprises déjà, nous avons insisté sur l'existence de « races chimiques » pour rendre compte de la distinction à établir entre deux souches de morphologie identique, mais dont le métabolisme diffère à traitement égal.

Rappelons pour mémoire l'acide kojique produit par une seule souche de *Penicillium Daleae* ZALESKI et encore la fumigatine élaborée par une souche sur six d'*Aspergillus fumigatus* FRESENIUS.

Les cas de ce genre se multiplient chaque jour, et d'exception qu'ils étaient deviennent presque la règle.

Si l'on fait varier les conditions de milieu, une même souche oriente différemment son métabolisme. Nous connaissons l'exemple classique de l'*Aspergillus niger*. A cet égard, rappelons que les produits de structures les plus diverses sont fournis par le *Penicillium griseo-fulvum* DIERCKX, à savoir les acides fumarique, 6-méthyl-salicylique, gentisique, fulvique, de même la griséofulvine et le mannitol.

Il arrive, comme pour la série des cinq acides tétroniques substitués du *Penicillium Charlesii* et celle à noyau orcinique du *Penicillium brevi-compactum*, qu'un unique système enzymatique de base semble avoir présidé à l'élaboration de différents produits, un seul terme donnant naissance à la série entière, par des modifications de détail.

IV. — On peut remarquer que les polyhydroxyméthyl-anthraquinones des espèces de la série *glaucus* sont méthylées, tandis que celles des espèces du genre *Helminthosporium* ne le sont pas. Le système enzymatique de méthylation ferait donc défaut à ces dernières. De plus, dans tous les cas où la formule de constitution est établie, toutes les polyhydroxyanthraquinones, aussi bien produites par les espèces de la série des *Asp. glaucus* que celles d'*Helminthosporium*, dérivent du 2-méthylanthracène.

V. — Nous donnerons encore les colorations obtenues avec divers produits de métabolisme sous l'action du chlorure ferrique :

Rouge. Acide de Sumiki, acide kojique (1/200.000).

Pourpre. Melléine (1/100.000), acide 6-hydroxy-2-méthylbenzoïque, oosporine, aurantine.

Brun foncé. Acide pubérulique, la spinulosine.

Jaune. Les différents acides-alcools (citrique, d-gluconique, lactique, malique).

Verte. L'acide fulvique, la citromycétine, la sulochrine, les milieux de culture du *Penicillium italicum* WEHMER.

Bleue. L'acide gentisique.

Bleu-violet. L'acide mycophénolique.

§ 4. Polysaccharides.

Bien que les moisissures soient incapables d'élaborer des glucides à l'instar des plantes supérieures, elles peuvent, en revanche, lorsque ceux-ci leur sont procurés, procéder à l'édification de polysaccharides qui concourent peut-être à la formation de divers produits de métabolisme à moindre poids moléculaire.

POLYGLUCOSES. — Le *Penicillium expansum* (253) produit la mycodextrane $\alpha = +251^\circ$, non colorable par l'iode.

D'une souche d'*Aspergillus niger* on a extrait également

un polyglucose, WELLS et ses collaborateurs (254); de même du mycélium de trois souches de *Penicillium digitatum*, BIRKINSHAW et ses collaborateurs (212), et du *Fumago vagans* (124).

POLYGALACTOSES. — L'*Aspergillus niger* produit, à partir du glucose, la mycogalactane $\alpha = +284^\circ$, ne donnant à l'hydrolyse que du galactose (255).

Le galactocarolose, autre polygalactose, est également fourni par le *Pen. Charlesii* cultivé sur milieu glucosé (88).

Ces synthèses, aux dépens de sucres différents du glucose, ne constituent pas une exception, loin de là.

POLYMANNOSE. — Le mannocarolose, $\alpha_{5780} = +66^\circ$, synthétisé par le *Pen. Charlesii* à partir de glucose, se compose de 8 ou 9 d-mannose unis par les positions 1-6 (256).

Citons, parmi les polysaccharides plus complexes édifiés à partir de glucose : le varianose $\alpha = +15^\circ$, produit de métabolisme du *Pen. varians* SMITH, donnant par hydrolyse du d-glucose, du d-galactose et un troisième sucre, le l-altrose ou le d-idose; le *Pen. luteum* ZUKAL produit un polysaccharide acide dénommé acide lutéique, qui, par hydrolyse acide, se brise en une molécule d'acide malonique pour deux molécules de glucose. L'acide malonique est uni par un groupement carboxyle à un polysaccharide neutre, le lutéose, duquel il peut être éloigné par hydrolyse alcaline (257).

Le glycogène lui-même, principale matière de réserve de la levure, est produit par certaines espèces d'*Aspergillus*; les auteurs ont décrit parfois l'existence d'un amidon de « spore » ou de « champignon » colorable en bleu par l'iode, mais qui semble un produit de moindre condensation que l'amidon proprement dit. La chitine, le polymère anhydre acétylé de la glucosamine entre dans la constitution des parois cellulaires des *Aspergillus* et *Penicillium*.

§ 5. Graisses et stérols.

La production industrielle de matières grasses par les moisissures n'est vraiment bien étudiée que depuis peu et sous la menace de disette provoquée par les événements. Rappelons à cet égard l'utilisation de l'*Oïdium lactis* et de l'*Endomyces vernalis* (11). BROWNE (258) trouva qu'un *Citromyces* produisait une graisse de propriétés semblables à celles du beurre, au taux de 27,5 % du poids du mycélium. La recherche de la nature des graisses produites est d'origine assez récente. Pour PEARSON et RAPER (259), le degré de non-saturation des acides gras élaborés se révèle plus grand à basse température. En règle générale, les graisses du mycélium contiennent les acides palmitique, stéarique, tétracosanique — $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$ — oléique, linoléique et linolénique dans la proportion d'un tiers d'acides saturés pour deux tiers d'acides non saturés dans le cas du *Penicillium javanicum* (260).

De l'« *Aspergillus Citromyces* », RUPPOL (261) a isolé, en plus des acides palmitique, stéarique, oléique et linolénique, les acides caproïque et cérotique.

Le zinc est favorable à la production de matières grasses par l'*Aspergillus niger*, mais reste inactif vis-à-vis du *Pen. javanicum*. Pour ce dernier, le colombium, le molybdène, le fer et le chrome conviennent le mieux (262). Par contre, SCHULZ trouve que le zinc retarde la formation de graisses par l'*Aspergillus niger*, alors que le manganèse l'augmente (263). Le fer contribuerait de même à la production de matières grasses par l'*Aspergillus niger* (264).

L'insaponifiable des graisses de moisissures renferme assez souvent de l'ergostérol libre : *Penicillium puberulum*, *P. aurantio-brunneum*, *P. carmino-violaceum*, *P. citromyces*, *Aspergillus fischeri*, *oryzae*, *sydowi*, *niger*; ou sous forme d'ester palmitique chez les *Penicillium* du groupe *brevi-compactum* (265).

Il convient de signaler la présence dans la matière grasse extraite d'un *Aspergillus* (266), d'un complexe lipodique libérant du galactose par hydrolyse. Il serait

du type « cérébroside », à savoir un corps optiquement actif composé de galactose, d'une base toujours indénifiable — la sphingosine — et d'un acide de nature variable. Cette catégorie de substances se rencontre notamment dans les tissus nerveux des mammifères, principalement dans la substance cérébrale.

On peut remarquer que ces amino-lipides de moisissures sont accompagnés de stérols tout comme les cérébrosides le sont de cholestérine.

§ 6. Enzymes.

Organismes hétérotrophes, les moisissures regorgent d'enzymes, à tel point que l'*Aspergillus oryzae* n'en renferme pas moins de vingt. Il est hors du cadre de ce travail de nous y étendre et rappelons à ce sujet la revue des enzymes et de leurs propriétés par WAKSMAN (267), de même celle des hydrolases par COLIN (268). Ne disons qu'un mot des amylases fongiques. Celles-ci jouent un rôle d'importance dans le traitement des matières premières, comme le riz en Extrême-Orient. C'est ainsi que CALMETTE, étudiant les levains chinois, ferments de l'alcool annamite, y découvrit une moisissure à grand pouvoir saccharifiant, à laquelle il donna le nom provisoire d'*Amylomyces Rouxii*, à ranger dans les Mucorinées. D'autres espèces depuis, ont remplacé le *Mucor Rouxii* : l'*Amylomyces* β (*Rhizopus japonicus*) et l'*Amylomyces* (*Rhizopus tonkinensis*). Actuellement, c'est au tour du *Rhizopus Delamar*. Un procédé similaire s'effectue à l'aide du *Mucor Boulard*. Dans le procédé TAKAMINE, on vise spécialement la production de l'enzyme. Du riz, préalablement traité à la vapeur et refroidi, estensemencé des spores de l'*Aspergillus oryzae*. Après le temps requis, la culture est séchée à 50° environ, tamisée pour recueillir les spores à nouveau formées. L'extraction aqueuse du mycélium peut remplacer le malt (taka-koji) ⁽¹⁾.

(1) La partie bibliographique développée dans le présent chapitre s'arrête à la date du 31 décembre 1940.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES (suite).

93. TAKODORO, T., *Journ. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1935, **11**, 365.
94. HIDA, T., *Shanghai Sc. Inst.*, 1935, IV, **1**, 201.
95. DE BARY, A., *Bot. Zeitg.*, 1886, **44**, 394-404, 409-426.
96. WEHMER, C., *Bot. Zeitg.*, 1891, **49**, 233.
97. RAISTRICK, H., et CLARK, A. B., *Biochem. Journ.*, 1919, **13**, 329, 344.
98. BERNHAUER, K., et SCHEUER, Z., *Biochem. Zeitschr.*, 1932, **253**, 11.
99. WEHMER, C., *Ber. Berl. Akad.*, 1893, 519.
100. WEHMER, C., *Zentralbl. Bakt.*, 1897, II, **3**, 102.
101. CHRZASZCZ, T., et TIUKOW, D., *Biochem. Zeitschr.*, 1929, **204**, 106.
102. CURRIE, I. N., *Journ. Biol. Chem.*, 1917, **31**, 15.
103. MOLLIARD, M., *C. R. Acad. Sciences*, 1919, **168**, 360.
104. VAN BEYNUM, J., et PETTE, J. W., *Journ. Dairy Research*, 1939, **10**, 250.
105. PERQUIN, L. H. C., *Dissert.*, Delft, 1938.
106. EULER, H., *Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie*, Braunschweig, 1909, B. III, 192.
107. CHRZASZCZ, T., et TIUKOW, D., *Biochem. Zeitschr.*, 1930, **229**, 343.
108. BERNHAUER, K., *Ergebnisse der Enzymforschung*, 1934, III, 185, 227.
109. BUTKEWITSCH, WL., et MELNIKOVA, A. A., *Microbiology*, 1936, **5**, 259.
110. JOHNSON, E. M., KNIGHT, E. C., et WALKER, T. K., *Biochem. Journ.*, 1937, **31**, 903.
111. TOMLINSON, T. G., *The New Phytologist*, 1937, **36**, 418.
112. VIRTATEN, A. I., et PULKKI, L., *Ann. Acad. Sc. Fenn.*, 1930, sér. A, **33**, n° 3.
113. VIRTATEN, A. I., *Comment. Phys.-Math.*, Helsingfors, 1925, **2**, 20.
114. SCHEFFER, *Dissert.*, Delft, 1928.
115. JOHNSON, E. M., *Thesis*, Manchester University, 1934.
116. BUCHNER, E., et WÜSTENFELD, H., *Biochem. Zeitschr.*, 1909, **17**, 395.
117. BUTKEWITSCH, WL. S., *Biochem. Zeitschr.*, 1924, **145**, 442.
118. FRANZEN, H., et SCHMIDT, F., *Ber. der Deutsch. chem. Gesellsch.*, 1925, **58**, 222.
119. AMELUNG, H., *Chem. Zeitg.*, 1930, **54**, 118.
120. MOLLIARD, M., *C. R. Acad. Sciences*, 1922, **174**, 881.
121. BOUTROUX, L., *C. R. Acad. Sciences*, 1880, **91**, 236.
122. FALK, R., et KAPUR, S. N., *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 1924, **57**, 920.
123. SAKAGUCHI, K., *Journ. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1932, **8**, 264.
124. BIRKINSHAW, J. H., et RAISTRICK, H., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, XVII, 331.
125. RAISTRICK, H., et RINTOUL, W., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, I.
126. TAKAHASHI, T. et ASAI, T., *Proc. Imp. Acad.*, Japan, 1927, **3**, 86.
127. MAY, O. E., HERRICK, H. T., MOYER, A. J., et HELLBACH, R., *Ind. Eng. Chem.*, 1929, **21**, 1198.
128. PORGES, N., CLARK, T. F., et GASROCK, E. A., *Ind. Eng. Chem.*, 1940, **32**, 107.
129. ANGELETTI, A., et CERRUTI, C. F., *Ann. Chim. appl.*, 1930, **20**, 424.

130. ITO, G., *Journ. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1933, **9**, 552.
131. WEHMER, C., *Ber.*, 1918, **51**, 1663.
132. CALAM, C. T., OXFORD, A. E., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1939, **33**, 1488.
133. RAISTRICK, H., et SIMONART, P., *Biochem. Journ.*, 1933, **27**, 628.
134. WEHMER, C., *Biochem. Zeitschr.*, 1928, **197**, 418.
135. THIES, W., *Centralbl. Bakt.*, 1930, **II**, **82**, 321.
136. TAKAHASHI, T., et SAKAGUCHI, K., *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1925, **1**, (5), 46.
137. TAKAHASHI, T., et ASAI, T., *Centralbl. Bakt.*, 1933, **89**, 81.
138. BUTKEWITSCH, WL., et FEDEROFF, M. W., *Biochem. Zeit.*, 1929, **206**, 240; 1929, **207**, 302; 1930, **219**, 87, 103.
139. WARD, G. E., LOCKWOOD, L. B., MAY, O. E., et HERRICK, H. T., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1936, **58**, 1286.
140. EHRLICH, F., *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1911, **44**, 3737.
141. FORSTER, J. W., et WAKSMAN, S. A., *J. Amer. Chem. Soc.*, 1939, **61**, 127.
142. BERNHAUER, K., et THOLE, H., *Biochem. Zeitschr.*, 1936, **287**, 167-171.
143. WAKSMAN, S. A., et FOSTER, J. W., *C. R. Acad. Sciences*, 1938, **207**, 483.
144. KANEL, E., *Microbiologia*, 1935, **4**, 636.
145. GOTTSCHALK, A. Z., *Physiol. Chem.*, 1926, **152**, 136; 1927, **172**, 314; 1929, **182**, 311.
146. FITZ, *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1873, **6**, 48.
147. EMMERLING, O., *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 1897, **30**, 454.
148. BIRKINSHAW, J. H., CHARLES, J. H. V., HETHERINGTON, A. C., et RAISTRICK, H., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, IX, 153.
149. RAISTRICK, H., et SMITH, G., *Biochem. Journ.*, 1935, **29**, 606.
150. CLUTTERBUCK, P. W., RAISTRICK, H., et RINTOUL, M. L., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, 301.
151. BIRKINSHAW, J. H., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1932, **26**, 441.
152. YABUTA, T., KATSUJI, K., et HAYASHI, T., *Journ. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1934, **10**, 1059.
153. ANDERSON, A. K., EVERETT, E. L., et ADAMS, P. D., *J. Agr. Research.*, 1933, **46**, 473.
154. WUNSCHENDORFF, M., et KILLIAN, C., *C. R. Acad. Sciences*, 1928, **187**, 572.
155. BERNHAUER, K., BÖCKL, N., et SIEBENNÄUGER, H., *Biochem. Zeitschr.*, 1932, **253**, 37.
156. SZENT-GYORGYI, ANNAU, BANGA, GOSZY, HUSZAK, LAKI et STAUB, *Hoppe-Seyl. Zeitschr.*, 1935, **236**, 1.
157. CHRZASZCZ, T., *Centralbl. Bakt.*, 1901, **7**, 326.
158. MIYAJI, K., *Res. Bull.*, 1930, 10; Gifu Imp. Coll. Agr. (*J. Amer. Chem. Soc.*, 1937, **59**, 545).
159. WAKSMAN, S. A., et FOSTER, J. W., *J. Agric. Research*, 1938, **57**, 873.
160. BERNHAUER, K., et BÖCKL, N., *Biochem. Zeitschr.*, 1932, **253**, 16, 25.
161. KINOSHITA, *Bot. Mag.*, 1931, **45**, 60.
162. KINOSHITA, *Acta Phytochim.*, Tokyo, 1931, **5**, 271.
163. THOMAS, P., *Manuel de Biochimie*, Masson et Cie, édit., Paris, 1936, p. 532.
164. CHRISTOPHER, T. C., OXFORD, A. E., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1939, **33**, 1488.

165. OXFORD, A. E., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1934, **28**, 1321.
166. BIRKINSHAW, J. H., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1934, **28**, 828.
167. ALSBERG, C. L., et BLACK, O. F., *Bull. U. S. Bur. Pl. Ind.*, 1913, n° 270.
168. BIRKINSHAW, J. H., OXFORD, A. E., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1936, **30**, 394.
169. KIN-ICHIRO, SAKAGUCHI, K., et INOUE, T., *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1938, **14**, 126.
170. SAKAGUCHI, K., INOUE, T., et TADA, S., *Zentralbl. Bakt.*, 1939, Abt. II, 100, 302.
171. SUMIKI, Y., *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1929, **5**, 10.
172. BIRKINSHAW, J. H., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1936, **30**, 2194.
173. SAITO, *Bot. Mag.*, Tokyo, 1907, **21**, 249.
174. YABUTA, T., *Journ. Coll. Agr.*, Tokyo, 1912, **5**, 51.
175. YABUTA, T., *Journ. Chem. Soc.*, 1924, **122**, 939.
176. BIRKINSHAW, J. H., CHARLES, J. H. V., LILLY, C. H., et RAISTRICK, H., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, VII, 127.
177. TAKAHASHI et ASII, *Centralbl. Bakt.*, 1933, II, **88**, 286.
178. KINOSHITA, K., *Acta Phytochim.*, Tokyo, 1927, **3**, 31.
179. KATAGIRI, H., et KITAHARA, K., *Mem. Coll. Agr.*, Kyoto, 1933, n° 26, 1.
180. MAY, O. E., WARD, G. E., et HERRICK, H. T., *Zentralbl. Bakt.*, 1932, **86**, 129.
181. DI CAPUA, A., *Gaz. Chim. It.*, 1933, **63**, 296.
182. KLUYVER, A. J., et PERQUIN, L. H. C., *Biochem. Zeitschr.*, 1933, **266**, 65 et 82.
183. KATAGIRI, H., et KITAHARA, K., *Centralbl. Bakt.*, 1937, II, 3616.
184. GOULD, B. S., *Biochem. Journ.*, 1938, **32**, 797.
185. FRIEDEMANN, T. E., *Science*, 1934, **80**, 34.
186. ANSLOW, W. K., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1931, **25**, 39.
187. OXFORD, A. E., RAISTRICK, H., et SIMONART, P., *Biochem. Journ.*, 1935, **29**, 1102.
188. RAISTRICK, H., et SIMONART, P., *Biochem. Journ.*, 1933, **27**, 628.
189. NISHIKAWA, E., *Journ. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1933, **9**, 1059.
190. YABUTA, T., et SUMIKI, Y., *Journ. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1933, **9**, 1264; 1934, **10**, 703.
191. TAMURA, T., *Journ. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1939, **15**, 112.
192. BIRKINSHAW, J. H., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1932, **26**, 441.
193. OXFORD, A. E., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1932, **26**, 1473.
194. WYKMAN, N., *Liebigs Ann. Chem.*, 1931, **485**, 61.
195. YUILL, J. L., *Biochem. Journ.*, 1934, **28**, 222.
196. RAISTRICK, H., et SMITH, G., *Biochem. Journ.*, 1933, **27**, 1812.
197. SUMIKI, Y., *Journ. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1933, **9**, 714.
198. OXFORD, A. E., RAISTRICK, H., et SIMONART, P., *Biochem. Journ.*, 1935, **29**, 1102.
199. WOOLLEY, D. W., et PETERSON, W. H., *Journ. Biol. Chem.*, 1936, **114**, 85.
200. WOOLLEY, D. W., et PETERSON, W. H., *Journ. Biol. Chem.*, 1937, **121**, 507.
201. MAY, O. E., et WARD, G. E., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1934, **56**, 1597.
202. RAISTRICK, H., et SMITH, G., *Biochem. Journ.*, 1936, **30**, 1315.
203. CALAM, C. T., CLUTTERBUCK, P. W., OXFORD, A. E., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1939, **33**, 579.

204. OXFORD, A. E., RAISTRICK, H., et SIMONART, P., *Biochem. Journ.*, 1939, **33**, 240.
205. BERNHAUER, K., et THELEN, H., *Biochem. Zeitschr.*, 1932, **253**, 30.
206. BIRKINSHAW, J. H., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1936, **30**, 801.
207. ELFVING, F., *Studien über die einwirkung des Lichtes auf die Pilze*, Helsingfors, 1890.
208. BIRKINSHAW, J. H., CHARLES, J. H. V., RAISTRICK, H., et STOYLE, J. A. R., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, V, 93.
209. SCHOEN, M., et ERAS, E., *Enzymologia*, 1937, IV, 198.
210. OXFORD, A. E., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1935, **29**, 1599.
211. OBATON, F., *C. R. Acad. Sciences*, 1935, **200**, 1129.
212. BIRKINSHAW, J. H., CHARLES, J. H. V., et RAISTRICK, H., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, XVIII, 355.
213. THOM, C., et RAPER, K. B., *Science*, 1932, **76**, 548.
214. TIEGS, E., *Biol. Abstr.*, 1925, I, 50.
215. BIRD, M. L., et CHALLENGER, F. J., *Journ. Chem. Soc.*, 1939, 163.
216. METZ, O., *Arch. Mikrobiol.*, 1930, I, 197, 251.
217. BREMER, *Svensk. Bot. Tidskr.*, 1918.
218. NIETHAMMER, A., *Arch. Mikrobiol.*, 1938, **9**, 23, 30.
219. BORTELS, H., *Biochem. Zeitschr.*, 1927, **182**, 301, 358.
220. CHARLES, J. H. V., RAISTRICK, H., ROBINSON, R., et TODD, A. R., *Biochem. Journ.*, 1933, **27**, 499.
221. RAISTRICK, H., ROBINSON, R., et TODD, A. R., *Biochem. Journ.*, 1933, **27**, 1170.
222. RAISTRICK, H., ROBINSON, R., et TODD, A. R., *Biochem. Journ.*, 1934, **28**, 559.
223. RAISTRICK, H., ROBINSON, R., et TODD, A. R., *Journ. Chem. Soc.*, 1933, 488.
224. GOULD, B. S., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1934, **28**, 1640.
225. ASHLEY, J. N., RAISTRICK, H., et RICHARDS, T., *Biochem. Journ.*, 1939, **33**, 1291.
226. RAISTRICK, H., ROBINSON, R., et TODD, A. R., *Journ. Chem. Soc.*, 1937, 80.
227. CRUIKSHANK, J. H., RAISTRICK, H., et ROBINSON, R., *Journ. Chem. Soc.*, 1938, 2056, 64.
228. PERKIN et HUMMEL, *Journ. Chem. Soc.*, 1894, **65**, 923.
229. ANSLOW, W. K., BREEN, J., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1940, **34**, 159.
230. POSTERNAK, TH., *C. R. Soc. Phys. Hist. nat. Genève*, 1939, **56**, 28.
231. POSTERNAK, TH., *Helv. Chim. Acta*, 1940, **23**, 1046, 1053.
232. RAISTRICK, H., ROBINSON, R., et WHITE, D. E., *Biochem. Journ.*, 1936, **30**, 1303.
233. HETHERINGTON, A. C., et RAISTRICK, H., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, XI, 209.
234. BESSEY, *Flora*, 1904, **93**, 301.
235. ASHLEY, J. N., HOBBS, B. C., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1937, **31**, 385.
236. ANSLOW, W. K., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1938, **32**, 687.
237. BIRKINSHAW, J. H., et RAISTRICK, H., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, 245.

238. ANSLOW, W. K., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1938, **32**, 803.
239. ANSLOW, W. K., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1938, **32**, 2288.
240. FRIEDHEIM, E. A. H., *C. R. Soc. Biol. Paris*, 1933, **112**, 1030.
241. POSTERNAK, TH., *Helv. Chim. Acta*, 1938, **21**, 1326.
242. POSTERNAK, TH., *Arch. Sc. Phys. Nat.*, 1939, (5), **21**, (144), 28, 29.
243. ASHLEY, J. N., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1938, **32**, 449.
244. HETHERINGTON, A. C., et RAISTRICK, H., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, XIV, 269.
245. CLUTTERBUCK, P. W., RAISTRICK, H., et REUTER, F., *Biochem. Journ.*, 1937, **31**, 987.
246. NISHIKAWA, E., *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1932, **8**, n° 1, 4-6.
247. NISHIKAWA, E., *Proc. Imp. Acad. Japan*, 1934, **10**, 414.
248. NISHIKAWA, E., *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1936, **12**, 47.
249. NISHIKAWA, E., *Acta Phytochim.*, Tokyo, 1939, **11**, 167, 185.
250. LIROSSIER, G., *C. R. Acad. Sciences*, 1891, **112**, 489, 492.
251. KÖGL, *Liebigs Ann.*, 1926, **477**, 78.
252. KÖGL et BECKER, *Liebigs Ann.*, 1928, **465**, 211, 243.
253. DOX, A. W., et NEIDIG, R. E., *Journ. Biol. Chem.*, 1914, **18**, 167.
254. WELLS, P. A., MOYER, A. J., et MAY, O. E., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1936, **55**, 555.
255. DOX, A. W., et NEIDIG, R. E., *Journ. Biol. Chem.*, 1914, **19**, 235.
256. HAWORTH, W. N., RAISTRICK, H., et STACEY, M., *Biochem. Journ.*, 1935, **29**, 612.
257. RAISTRICK, H., et RINTOUL, M. L., *Philos. Trans. B.*, 1931, **220**, XIII, 255.
258. BROWNE, C. A., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1906, **28**, 453.
259. PEARSON, L. K., et RAPER, H. S., *Biochem. Journ.*, 1927, **21**, 875.
260. WARD, G. E., et JAMIESON, G. S., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1934, **56**, 973.
261. RUPPOL, E., *Journ. Pharm. Belgique*, 1937, **19**, n° 4, 63.
262. WARD, G. E., LOCKWOOD, L. B., MAY, O. E., et HERRICK, T. H., *Ind. Engin. Chem.*, 1935, **27**, 318.
263. SCHULZ, G., *Planta*, 1937, **27**, 196-218.
264. KAUFFMANN-COSLA, D., et BRÜLL, *Arch. Intern. Pharmacodynamie*, 1937, **57**, 188.
265. OXFORD, A. E., et RAISTRICK, H., *Biochem. Journ.*, 1933, **27**, 1176.
266. RUPPOL, E., *XII^e Congrès Intern. Pharmacie*, Bruxelles, 1935. p. 617.
267. WAKSMAN, S. A., *Abstr. Bact.*, 1922, **6**, 265, 331.
268. COLIN, H., *Les diastases. I. Les hydrolases*. Doin et C^{ie}, Paris, 1931.

(Suite, p. 120.)

DEUXIÈME PARTIE

INTRODUCTION.

Ainsi que nous l'avons souligné au début de ce travail, nous nous trouvions en présence d'une vaste récolte de moisissures, en partie déjà déterminée par les soins de MM. MOSSERAY ⁽¹⁾, CASTAGNE, chef des travaux chimiques au Laboratoire de Tervueren, et les nôtres. Cette tâche indispensable d'identification ne nous a point fait oublier qu'elle ne devait constituer pour nous qu'une entrée en matière. Les recherches biochimiques, en dernier ressort, restent le but assigné à ce travail.

L'importance, sans cesse accrue, des industries de fermentation, plus particulièrement à l'aide de moisissures, n'échappe plus guère à personne. L'avenir semble davantage leur être assuré que pour les industries chimiques de synthèse organique, qui peuvent les supplanter encore de nos jours. Le cas de l'acide citrique a d'ailleurs posé un solide jalon de la voie nouvelle.

Ainsi que le faisait remarquer, il y a peu de temps, un des maîtres de la microbiologie (269), l'industrie organo-synthétique s'alimente à une réserve limitée de carbone constituée en gros de houille, de lignite, de pétrole, c'est-à-dire aux produits d'un monde végétal préhistorique.

Notre choix d'études s'est porté sur l'ensemble des *Aspergillus* que nous possédions, à plage conidienne de

(1) Assistant au Jardin Botanique de l'État à Bruxelles, lieutenant d'infanterie, mort au champ d'honneur en mai 1940, à Pittem-lez-Thielt.

coloration foncée. Nous avons tout d'abord à nous limiter; de plus cette classe de moisissures est, à tout présumer, la plus riche en souches productrices d'acides organiques, comme en témoignent les recherches innombrables d'auteurs sur différentes espèces ou races de la série « niger »; ne disons plus sur l'*Aspergillus niger*, que nous savons être une espèce « hétérogène » (270).

Ne devant pas ici faire œuvre de systématicien, nous devons tout de même introduire, pour la clarté de notre étude et les conclusions à en tirer, une classification qui, bien que simple, réponde à des coupures naturelles dans le groupe hétérogène des « *Black Aspergilli* » de THOM et CHURCH. Nous la trouvons dans la coloration de l'avvers des cultures à laquelle d'ailleurs des caractères microscopiques constants se joignent parfois (271).

Nous scinderons dès lors la section des *Aspergillus* de la série « niger » en quatre sous-sections, d'importance numérique fort inégale, à savoir :

1° Les CARBONACEI : colonies noir jais, ampoules subglobuleuses, conidies très grosses (6 à 10 μ) et verruqueuses : *A. carbonarius* (BAINIER) THOM; *A. pseudo-carbonarius* (BAINIER) MOSSERAY.

2° Les FULIGINOSO-FUSCI ou « niger » proprement dits : couleur brun plus ou moins foncé (fuligo); ampoules normalement globuleuses; conidies 2,5-5 μ ; très variables par les dimensions des appareils conidiens.

3° Les VIOLACEO-FUSCI : couleur violacée, ampoules globuleuses, stérigmates et phialides, conidies rondes ou elliptiques : *A. violaceo-fuscus* GASP.; *A. atro-purpureus* ZIMM.; *A. purpureus* BLOCHWITZ; *A. awamori* USAMI.

4° Les VIOLACEI (Luchuensis-group de Boedijn) : couleur violette ou mauve, ampoules subglobuleuses; stérig-

mates seuls et très courts; conidies rondes ou elliptiques : *A. japonicus* SAÏTO; *A. Luchuensis* INUI; *A. malvaceus* MOSSERAY.

Toutes les souches « mises en observation » dans l'étude générale que nous présentons en premier lieu appartiennent à un nombre restreint d'espèces comparativement au total des cultures, plus de deux cents. C'est que certaines races ne peuvent être départagées que par l'analyse biochimique, le microscope ne décelant rien qui les différencie. Aussi n'avons-nous pas craint de retenir des souches visiblement semblables, mais, par exemple, d'origine différente. Quant à l'origine des cultures, elle s'établit comme suit :

A. Matériel d'herbiers (plantes vasculaires).

B. Graines ou fruits expédiés en bocaux hermétiquement clos ou en boîtes soudées.

C. Échantillons de terre parvenus du Congo belge en boîtes zinguées parfaitement étanches.

D. Une bonne part des *Aspergillus* de la collection de feu RAOUL MOSSERAY, dont celui-ci donna, en 1934, une monographie partielle (271), furent de même passés en revue.

E. A titre de comparaison, des souches indigènes et exotiques (Amérique, Australie, etc.) furent encore examinées.

Le mode de prélèvement aseptique s'est fait comme d'habitude.

CHAPITRE I.

ÉTUDE GÉNÉRALE.

§ 1. Technique.

Nous avons invariablement utilisé le milieu de composition suivante, inspiré du travail de WELLS, MOYER et MAY (254), ayant trait à l'établissement de la balance du carbone d'une souche à haut rendement en acide citrique :

Glucose hydraté commercial :	220	gr.	(soit 200 gr d'anhydre.)
KH_2PO_4		0,3	"
NH_4NO_3		2,25	"
MgSO_4 sec.		0,12	"
H_2O distillée ordinaire.		1,000	cc.

100 cc. de milieu sont répartis en erlenmeyer de 300 cc. La stérilisation est effectuée à l'autoclave à 110°-115° durant 25 à 30 minutes; ensuite le contenu de chaque erlenmeyer reçoit 2,7 cc. de HNO_3 au N/4, ce qui donne le chiffre 13 comme acidité de départ du contenu d'un erlenmeyer, en NaOH N/10.

L'ensemencement s'opère à l'aide de 5 cc. d'eau distillée stérile, secoués au préalable dans un tube de culture abondamment sporulé et assez âgé, de manière que les conidies se détachent en masse. L'essai se poursuit à l'obscurité, dans une étuve réglée à 29°-30° durant 11 jours. La période de fermentation terminée, le filtrat est porté à un volume déterminé, la plaque mycélienne étant au préalable examinée.

1. Légende :

- +++ Plaque noire ou sombre, complètement sporulée.
- ++ Plaque sporulée par bouquets.
- + Plaque lâchement sporulée,
- 0 pratiquement non sporulée,
- 0' non sporulée, de plus fragile.
- 00 Mycélium stérile, à boules ou tortillons, parfois en dépôt sur le fond.

2. L'acidité totale de chaque erlenmeyer est évaluée en cc. de NaOH N/10, sur phénolphtaléine.

3. L'acidité d'un échantillon étant connue, la quantité exacte de NaOH est ajoutée avec précaution à un autre sans la présence d'indicateur, de manière à déceler la présence éventuelle de pigments acidimétriques.

4. La coloration obtenue à l'aide de FeCl_3 très dilué est indiquée par le signe 0 pour autant qu'elle n'est pas différente du jaune vif au jaune verdâtre (réaction de Berg due aux acides-alcools, comme l'acide citrique). D'une autre teinte, elle indiquerait la présence de corps phénoliques. (Voir première partie.)

5. La détection des acides oxalique et citrique s'est faite comme suit :

Acide oxalique :

Neutralisation exacte à l'AmOH. Précipitation à l'aide de CaCl_2 . Contrôle : insolubilité de l'oxalate calcique dans l'acide acétique.

Acide citrique :

a) En l'absence d'acide oxalique, on traite le filtrat par le réactif de DENIGÈS (272), provoquant l'apparition d'un précipité dense et blanc de sulfoacétone-dicarbonat de mercure.

b) Comme l'acide oxalique précipite à froid déjà le réactif de Denigès, l'acide citrique est identifié sous forme de pentabromacétone, d'après la réaction de STAHR (273). Cette réaction sensible est utilisée de même, comme moyen de contrôle, chaque fois que celle de Denigès donne un résultat négatif.

§ 2. Résultats.

Violaceo-fusoi.

N°	Origine — Substratum — Détermination	Mycelium	Acidité		Oxalique	Citrique (*)		Virage	FeCl ₃
			totale	pro- duite		Dg.	St.		
743	Coll. Mosseray. — <i>A. violaceo-fuscus</i> . . .	0'	20	7	0	0	—	0	0
727	Coll. Mosseray. — <i>A. violaceo-fuscus</i> . . .	00	30	23	0	0	—	0	0
744	Coll. Mosseray. — <i>A. violaceo-fuscus</i> . . .	00	30	23	0	0	—	0	0
741	Coll. Mosseray. — <i>A. atro-purpureus</i> . . .	0'	30	23	0	0	—	0	0
748	Coll. Mosseray. — <i>A. violaceo-fuscus</i> . . .	00	35	28	0	0	—	0	0
726	Coll. Mosseray. — <i>A. violaceo-fuscus</i> . . .	00	35	28	0	0	—	0	0
737	Coll. Mosseray. — <i>A. violaceo-fuscus</i> . . .	++	35	28	0	0	—	0	0
742	Coll. Mosseray. — <i>A. atro-purpureus</i> . . .	00	40	33	0	0	—	0	0
755	Coll. Mosseray. — <i>A. atro-purpureus</i> . . .	0	45	38	0	+	+	0	0
728	Coll. Mosseray. — <i>A. atro-purpureus</i> . . .	00	50	43	0	0	—	0	Orangé-brun
750	Coll. Mosseray. — <i>A. atro-purpureus</i> . . .	0	60	53	0	—	+	—	—
243	Congo belge, herbier	—	67	60	0	+	—	0	0
739	Coll. Mosseray. — <i>A. violaceo-fuscus</i> . . .	+++	125	118	0	+	—	0	0
745	Coll. Mosseray. — <i>A. violaceo-fuscus</i> . . .	+++	305	298	0	+	—	0	0
751	Coll. Mosseray. — <i>A. avamori</i>	0	600	593	0	—	+	—	—

(*) Dg. = Denigés; St. = Stahre. Le tiret indique l'absence d'observation.

Violacei.

N°	Origine — Substratum — Détermination	Mycélium	Acidité		Oxalique	Citrique		Virage	FeCl ₃
			totale	pro- duite		Dg.	St.		
729	Coll. Mosseray. — <i>A. malvaceus</i>	00	45	2	Tr.	0	—	0	0
400	Congo belge, herbier. — <i>A. japonicus</i> . .	0	46	3	0	Tr.	—	—	—
734	Coll. Mosseray. — <i>A. japonicus</i>	00	30	17	0	0	0	0	—
733	Coll. Mosseray. — <i>A. japonicus</i> (mut.) . .	00	30	17	0	0	0	0	—
769	Coll. Mosseray. — <i>A. luchuensis</i>	0	34	21	0	0	0	0	—
732	Coll. Mosseray. — <i>A. japonicus</i> (norm.) .	0'	35	22	0	0	—	0	0
753	Coll. Mosseray. — <i>A. atro-violaceus</i> . . .	0	35	22	0	—	0	—	—
752	Coll. Mosseray. — <i>A. atro-violaceus</i> . . .	0	37	24	0	—	0	—	—
768	Coll. Mosseray. — <i>A. luchuensis</i>	+	123	110	0	0	+	—	—

Carbonacei.

66	Brésil, graine café. — <i>A. pulchellus</i> (C.M.)	+++	60	47	—	+	+	—	—
68	<i>A. pulchellus</i> (C.M.)	+++	225	212	—	—	+	0	—

Fuliginoso-fusci.

N°	Origine - Substratum	Détermination	Mycélium	Acidité		Oxalique	Citrique		Virage	FeCl ₃
				totale	pro- duite		Dg.	St.		
612	Mayombe, écorce de <i>Cinchona</i>		+++	7,5	- 5,5	0	0	—	0	0
203	Belgique, bouchon		+++	7,5	- 5,5	0	—	—	0	0
338	Congo belge, fruit de palme		+++	7,5	- 5,5	0	0	—	0	0
444	Congo belge.		+++	7,5	- 5,5	0	0	—	0	0
193	Congo belge.		+++	11	- 2	0	0	0	0	—
602	Congo belge, ricin		+++	15	2	0	0	—	0	0
483	Congo belge.		+++	15	2	0	Tr.	—	0	0
606	Portugal, froment. — <i>A. luteo-niger</i> . . .		0	15	2	0	+	—	0	0
609	Congo belge.		+++	15	2	0	+	—	0	0
234	Argentine, blé		+++	15	2	0	Tr.	—	0	0
241	Congo belge, feuille d' <i>Artocarpus</i>		+++	15	2	0	+	—	0	0
247	Chili, froment		+++	15	2	0	0	—	0	0
443	Congo belge.		+	15	2	0	0	—	0	0
770	Cameroun, graine. — <i>A. guttifer</i> (C.M.). .		+++	15	2	0	0	0	0	0
486	Congo belge, sur <i>Austranella</i>		+++	18	5	0	0	0	0	—
489	Belgique (Campine), lignite		0	19	6	0	—	0	0	—
—	Congo belge, feuille d' <i>Artocarpus</i>		+++	20	7	0	0	—	0	0

Fuliginoso-fusci (suite).

N°	Origine — Substratum — Détermination	Mycelium	Acidité		Oxalique	Citrique		Virage	FeCl ₃
			totale	pro- duite		Dg.	St.		
54	Belgique. — <i>A. biourgei</i> (C.M.)	0	21	8	0	—	?	0	—
—	Congo belge	+++	22	9	0	+	—	0	0
607	Congo belge, terre	+++	22	9	0	Tr.	—	0	0
—	Congo belge, terre	++	22	9	0	—	+	0	—
570	Congo belge	0	22	9	0	+	—	—	—
492	Belgique, morceau de bois	+++	22	9	0	0	0	0	—
445	Congo belge	+++	22,5	9,5	0	0	—	0	0
17	<i>A. turbingensis</i> (C.M.)	0	29	16	0	++	+	—	—
24	<i>A. carbonarius</i> (C.M.)	0	29	16	0	Tr.	+	—	—
—	Congo belge, herbier	++	30	17	0	—	+	—	—
608	Congo belge, racine de manioc	+++	30	17	0	+	—	0	0
613	Grains argentins, pâte	+++	30	17	0	+	—	0	0
235	Argentine, grains	+++	30	17	0	+	—	0	0
240	Belgique, nêfle.	+++	30	17	0	Tr.	—	0	brun-rouge
49A	Exotique, graine de café. — <i>A. rutilans</i>	+++	30	17	0	—	+	0	—
38	Cameroun. — <i>A. guttifer</i> (C.M.)	+++	30	17	0	—	0	—	—
439	Congo belge	+++	35	22	+	—	0	0	0 Type ox. pur
603	Congo belge, mangue	+++	37	24	0	+	—	0	0

—	Congo belge, feuille d' <i>Artocarpus</i>	+++	37,5	24,5	0	+	—	0	0
773	Afrique. — <i>A. buntingii</i> (C.M.)	0	40	27	0	Tr.	0	0	0
423	Australie, grains	+++	44	31	+	—	+	0	0
615	Congo belge	+++	45	32	0	+	—	0	0
254	Congo belge	0	45	32	0	+	—	—	—
607	Congo belge, terre	+++	48	35	0	+	—	0	—
—	Congo belge	+++	52,5	39,5	0	+	—	0	0
776	Congo belge, écorce de <i>Cinchona</i>	+++	55	42	0	+	—	0	0
—	Congo belge	+++	60	47	0	+	+	—	—
42	Terre de Giseh. — <i>A. niger</i> VAN TIEGHEM.	0	60	47	0	+	+	—	—
44	<i>A. microcephalus</i> (C.M.)	0	60	47	0	+	+	—	—
45	<i>A. anomalus</i> (C.M.)	++	60	47	0	+	+	—	—
248	Congo belge, baies de café.	+++	60	47	0	Tr.	—	0	0
—	Congo belge, terre	+++	60	47	0	0	—	0	0
778	Portugal, froment	+++	60	47	0	0	—	0	Dépôt ocre
433	Congo belge	++	60	47	0	+	—	0	0
337	Congo belge, fruit de palme	+++	63,5	50,5	0	0	—	0	0
—	Congo belge, herbier	+++	66	53	0	Tr.	—	0	Dépôt ocre
—	Belgique, citron	+	66	53	0	+	+	—	—
—	Congo belge, feuille d' <i>Artocarpus</i>	+++	67,5	54,5	0	+	—	0	0
446	Congo belge	+	67,5	54,5	0	+	—	0	0
442	Congo belge	+++	67,5	54,5	0	0	—	0	0

Fuliginoso-fusci (suite).

N°	Origine — Substratum — Détermination	Mycélium	Acidité		Oxalique	Citrique		Virage	FeCl ₃
			totale	pro- duite		Dg.	St.		
—	Congo belge, baies de café en fermentation	0	74	58	0	+	—	0	0
198	Belgique, cave-étiquette	+++	75	62	0	+	—	0	0
308	Congo belge, <i>Cinchona</i>	+	75	62	+	—	—	0	— Type ox. pur
614	Belgique, pomme.	+++	75	62	0	+	—	0	—
—	Congo belge, herbier	++	76	63	+	+	+	—	—
197	Congo belge, écorce de <i>Cinchona</i>	++	82	69	0	+	—	0	—
32	Saïgon. — <i>A. niger</i> (C.M.)	0	88	75	+	+	+	—	—
775	Congo belge, écorce de <i>Cinchona</i>	+	88	75	+	—	0	0	0 Type ox. pur
780	Uruguay, froment	0	93	80	0	+	—	0	0
604	Congo belge, mangue	+++	97	84	0	+	—	0	0
611	Congo belge, terre	+++	97	84	0	+	—	0	0
431	Congo belge	++	97,5	84,5	0	+	—	0	0
—	Congo belge	0	101	88	0	+	+	—	—
333	Congo belge, écorce de <i>Cinchona</i>	0	105	92	0	+	—	0	—
194	Congo belge. — <i>A. carbonarius</i> ?	+++	105	92	0	+	—	0	—
—	Congo belge, herbier	0	105	92	0	+	—	0	—
231	Congo belge, graine de ricin	++	120	107	+	—	—	0	— Type ox. pur
332	Congo belge, écorce de <i>Cinchona</i>	0	120	107	0	+	—	0	—

49B	Exotique, baie de café. — <i>A. rutilans</i> . . .	0	420	107	+	—	+	0	—
56	Congo belge, terre. — <i>A. niger</i> VAN TUSCHEM.	++	420	107	0	—	+	0	—
195	Congo belge, écorce de <i>Cinchona</i> . . .	++	428	415	0	+	—	0	—
—	Congo belge.	+	433	420	+	+	?	—	—
230	Congo belge, graine de ricin	0	435	422	0	+	—	0	—
328	Congo belge, <i>Cinchona</i>	0	435	422	0	+	—	0	—
98	Congo belge.	0	436	423	+	—	0	—	— Type ox. pur
99	Congo belge.	++	440	427	+	—	0	—	— Type ox. pur
—	Congo belge.	++	442	429	0	+	—	0	—
329	Congo belge, écorce de <i>Cinchona</i>	++	442	429	0	+	—	0	—
20	<i>A. pseudo-niger</i> (C.M.)	0	449	436	0	+	+	—	—
—	Congo belge, herbier	++	450	437	0	—	+	—	—
53	<i>A. élatior</i> (C.M.)	0	450	437	0	—	+	jaune vif	—
95	Argentine, grains	++	462	449	0	+	—	—	—
67B	<i>A. ficuum</i> (C.M.)	+	463	450	0	+	+	—	—
—	Congo belge.	0	465	452	+	—	+	—	—
M 37	Côte de l'Or. — <i>A. fuliginosus</i> (C.M.). . .	0	465	452	—	—	+	—	—
29	<i>A. pseudo-élatior</i> (C.M.)	0	472	459	—	+	+	—	—
420	Congo belge.	0	476	463	+	—	0	0	0 Type ox. pur
60	<i>A. churchii</i> (C.M.)	0	480	467	0	—	+	0	—
28	Paris, bronchite (C.M.)	0	495	482	+	+	+	—	—
191	Congo belge. — <i>A. fuliginosus</i> ?	++	495	482	0	+	—	0	—

Fuliginoso-fusci (suite).

N°	Origine - Substratum - Détermination	Mycélium	Acidité		Oxalique	Citrique		Virage	FeCl ₃
			totale	pro- duite		Dg.	St.		
—	Congo belge.	0	206	193	0	+	—	0	0
96	Congo belge, papier d'herbier	0	207	194	+	0	—	—	— Type ox. pur
326	Congo belge, écorce de <i>Cinchona</i>	0	210	197	0	+	—	0	—
774	Congo belge, quinquina Gilbert	+	214	201	+	—	+	0	0
—	Congo belge, herbier	++	222	209	0	+	—	—	—
—	Congo belge, terre	++	225	212	0	—	+	0	—
772	Congo belge, papier d'herbier	0	228	215	0	+	0	—	—
97	Belgique (Campine), lignite	+	234	221	+	—	+	—	—
427	Congo belge, feuille d' <i>Artocarpus</i>	++	236	223	0	+	—	0	0
428	Congo belge, arachide.	++	240	227	—	0	—	0	jaune-brun
—	Belgique, fruit.	0	240	227	0	—	+	0	—
71	<i>A. velutinus</i> (C.M.)	0	247	234	0	+	—	—	—
—	Congo belge.	0	249	236	0	+	+	—	—
759	? (C.M.)	0	270	257	0	—	+	—	—
—	Congo belge, fruit d' <i>Artocarpus</i>	++	286	273	0	+	—	0	0
190	Congo belge, ricin	++	300	287	0	+	—	0	—
202	Congo belge, jus de ferm. baies de café .	++	315	302	0	+	—	0	0
425	Belgique, bouchon	++	346	303	0	+	—	0	0

—	Congo belge, <i>Artocarpus</i>	++	322	309	+	+	—	—
196	Congo belge, tronc de palmier	++	345	332	0	+	0	0
201	Congo belge, jus de ferm. baies de café .	0	360	347	0	+	0	0
43W	<i>A. pseudo-citriscus</i> (C.M.).	+++	360	347	+	—	—	—
39	? (C.M.)	++	363	350	0	+	—	—
64	Côte d'Ivoire. — <i>A. olivaceo-fuscus</i> (C.M.).	0	382	369	0	+	—	—
94	Argentine, grains	++	390	377	+	—	—	—
483	Congo belge.	0	390	377	+	—	0	0
—	Congo belge, baies de café.	++	396	383	+	—	0	0
—	Congo belge, arachide.	0	418	405	0	+	—	—
426	Congo belge, jus de ferm. baies de café .	+++	429	416	0	+	0	0
61T	Equateur ? (C.M.).	++	435	422	0	+	+	—
25	Paris, figues (C.M.).	0	472	459	0	+	—	—
206	Belgique	++	477	464	+	—	—	—
242	Brésil, cacao	0	480	467	0	+	0	—
239	Congo belge, fruit de palme	+	487,5	474,5	0	+	0	0
48	Côte d'Ivoire (C.M.).	+	510	497	+	—	0	—
34	Vienne ? — <i>A. Niger</i> VAN TIEGHEM (C.M.).	0	513	500	+	+	—	—
33	Paris ? — <i>A. niger</i> VAN TIEGHEM (C.M.) .	++	530	517	—	+	—	—
47	<i>A. citricus</i> (C.M.).	0	540	527	0	+	—	—
421	Congo belge, tronc de palmier	+++	550	537	0	+	0	0
429	Belgique	++	561	548	0	+	0	0

Fuliginoso-fusci (suite et fin).

N°	Origine — Substratum — Détermination	Mycélium	Acidité		Oxalique	Citrique		Virage	FeCl ₃
			totale	pro- duite		Dg.	St.		
205	Belgique, laboratoire	++	563	550	+	—	+	—	—
339	Congo belge	+++	570	557	0	+	—	0	0
51	Portugal, sables (C.M.)	0	570	557	0	—	+	0	—
59	Congo belge, otite moyenne (C.M.). . . .	0	570	557	0	—	+	jaune or	—
—	Congo belge, herbier	++	570	557	0	—	+	jaune or	—
781	Congo belge, quinquina Gilbert	++	583	570	0	+	—	0	0
204	Congo belge, graines de cacao	+	585	572	0	+	—	0	—
419	Congo belge.	0	585	572	0	+	—	0	—
200	Congo belge, terre	+++	593	580	0	+	—	0	0
50	Congo belge, otite moyenne (C.M.). . . .	0	615	602	+	—	+	0	—
58	Côte de l'Or. — <i>A. niger</i> VAN TIEGHEM (C.M.)	0	615	602	+	—	0	0	— Type ox. pur
782	Congo belge	++	627	614	0	+	—	0	0
46	<i>A. tubingensis</i> (C.M.)	—	630	617	0	—	+	—	—
63g	Cameroun. — <i>A. luteo-niger</i> (C.M.). . . .	0	645	632	0	—	+	0	—
22	Côte d'Ivoire. — <i>A. variegatus</i> (C.M.). . .	0	712	699	0	+	+	—	—
610	Congo belge	0	720	707	0	+	+	0	—
26	<i>A. densus</i> (C.M.)	+	735	722	0	+	+	—	—
—	Congo belge, herbier	0	775	762	0	+	—	0	0

—	Congo belge.	++	791	778	0	+	+	—	0	—	—
—	Congo belge, baies de café.	+	807	794	0	+	+	—	—	—	—
63W	Cameroun. — <i>A. luteo-niger</i> (C.M.).	++	810	797	0	—	+	+	jaune or	0	—
27	? (C.M.).	0	810	797	+	+	+	+	—	—	—
18	<i>A. niger</i> VAN TIEGHEM (C.M.).	0	832	819	+	+	+	+	—	—	—
32	Indochine (C.M.).	0	897	884	+	+	+	+	—	—	—
37	Côte de l'Or. — <i>A. fuliginosus</i> (C.M.).	+++	909	896	0	+	+	+	—	—	—
—	Congo belge, herbier	0	915	902	0	—	+	+	—	—	—
422	Amérique du Sud, froment noirci	0	945	932	0	+	+	—	0	—	—
—	Belgique	0	1010	997	+	+	+	+	—	—	—
43R	<i>A. pseudo-citricus</i> (C.M.).	++	1050	1037	0	—	+	+	—	—	—
—	Congo belge, herbier	0	1080	1067	+	+	+	+	—	—	—
447	Congo belge.	0	1100	1087	0	+	+	—	0	—	0
763	? (C.M.).	+	1100	1087	0	—	+	+	—	—	—
—	Congo belge, mangue	0	1149	1136	0	—	+	+	0	—	—
761	<i>A. fuliginosus</i> (C.M.).	++	1155	1142	0	—	+	+	—	—	—
19	Fruits exot. — <i>A. niger</i> VAN TIEGHEM (C.M.).	+	1321	1308	+	+	+	+	—	—	—
46	<i>A. granulatus</i> (C.M.).	0	1500	1487	0	—	+	+	—	—	—
758	Equateur ? — <i>A. fuliginosus</i> (C.M.).	0	1516	1503	0	—	+	+	—	—	—
41	<i>A. niger</i> VAN TIEGHEM (C.M.).	0	1537	1524	0	+	+	+	—	—	—
40	Belgique, air. — <i>A. citrino-niger</i> (C.M.).	0	2034	2021	0	+	+	+	—	—	—

§ 3. Conclusions.

A. — PRODUCTION D'ACIDES.

Conclusions à tirer de l'étude des 15 souches de *Violaceo-fusci* :

1. Développement insignifiant de la plaque mycélienne, souvent réduite à des tortillons ou boutons en surface.

2. Très faible acidité produite par fermentation. L'acide oxalique est partout indécélable, l'acide citrique apparaît avec une fréquence minime, soit dans 6 cultures sur 15 ou une fréquence de 40 %.

Conclusions à tirer de l'étude des 9 *Violacei* :

1. Développement toujours insignifiant de la plaque mycélienne.

2. Acidité produite par fermentation toujours faible.

L'acide oxalique est absent partout et l'acide citrique n'accuse qu'une fréquence de 20 %.

Conclusions à tirer de l'étude des 2 *Carbonacei* :

Bien que la plaque mycélienne se soit développée, l'acidité produite est faible. L'acide oxalique est absent des deux cultures, tandis que l'acide citrique y est décelable.

On peut maintenant comparer ces trois groupes d'étendue taxonomique faible avec les *Fuliginoso-fusci* ou *niger* proprement dits dont souvent on les rapproche.

L'étude assez complète de 176 souches nous autorisera à formuler certaines conclusions générales et à souligner le comportement biochimique du groupe entier en présence de conditions culturelles précises.

1. Partout la plaque mycélienne est bien développée, la sporulation est en raison inverse de l'acidité produite,

si bien que la puissance d'acidification d'une souche peut être appréciée par le seul examen du mycélium de surface, dans ce cas épais et pelotonné, ferme et glabre. Un autre indice est l'apparition de « stries de diffusion » perceptibles à l'examen par transparence et agitation faible des récipients de culture.

2. De l'examen du tableau de fréquence et de la courbe qui suivent, il ressort nettement que le groupe des *niger* proprement dits se caractérise par la production d'une forte acidité fixe. Cependant, les souches à rendement puissant restent rares. Il nous a fallu passer en revue 176 souches pour en déceler une seule dont l'acidité produite équivaut à 2021 cc. de soude caustique N/10. Ce résultat, il est vrai, récompense à lui seul du labeur requis pour ce genre de recherches.

L'analyse qualitative révèle ce qui suit :

L'acide citrique apparaît dans 146 cultures sur 176, soit un pourcentage de 83 %. Si l'on tient compte que 5 souches n'accusent aucun accroissement d'acidité, cet acide est produit dans plus de 85 % des cas où la moisissure acidifie le milieu. Nous pensons pouvoir admettre que la détection de cet acide n'a pu s'opérer dans une dizaine de cas, sa concentration y étant trop faible et le réactif de Denigès n'ayant pas été appuyé du réactif de STAHR. Si bien qu'on peut admettre que l'acide citrique se présente comme un produit constant de métabolisme de l'espèce multiple *Aspergillus niger*, cultivée en milieu déséquilibré.

L'acide oxalique apparaît dans 34 cultures sur un total de 176, soit un pourcentage de 20 %.

REMARQUES.

1. L'acide citrique est partout présent dans les milieux fortement acidifiés, alors que l'acide oxalique en est tou-

jours absent. C'est ainsi que les souches à très haut rendement acide sont du type « citrique pur », celles à pouvoir acidifiant moyen du type mixte « oxalico-citrique ».

2. 9 souches (d'acidité respective 35, 75, 88, 120, 136, 140, 176, 207, 615) se révèlent du type « oxalique pur ».

3. 109 souches se révèlent du type « citrique pur ».

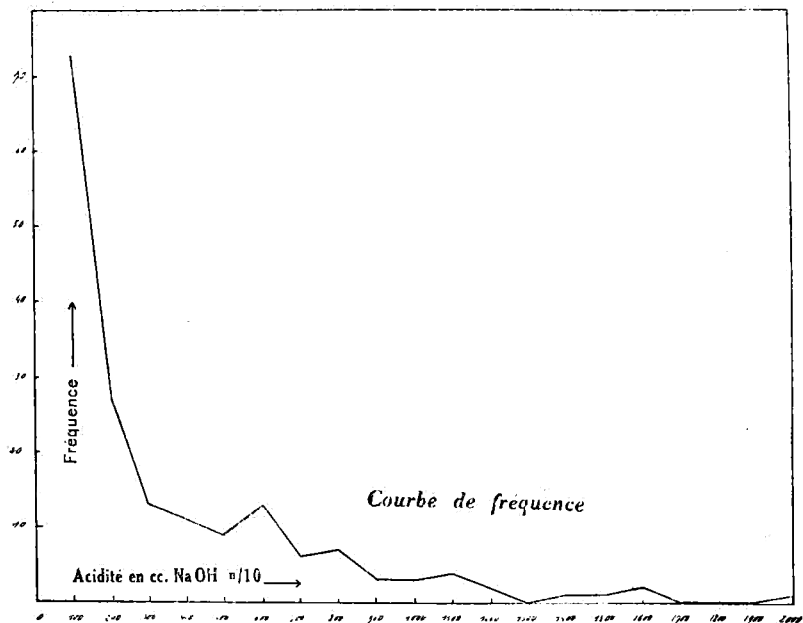
Tableau de fréquence

cc NaOH N/10	Nombre	Oxalique	Citrique
0 — 100	73	6	50
100 — 200	27	9	22
200 — 300	13	2	12
300 — 400	11	5	11
400 — 500	9	3	9
500 — 600	13	1	13
600 — 700	6	2	5
700 — 800	7	1	7
800 — 900	3	2	3
900 — 1000	3	1	3
1000 — 1100	4	1	4
1100 — 1200	2	0	2
1200 — 1300	0	0	0
1300 — 1400	1	1	1
1400 — 1500	1	0	1
1500 — 1600	2	0	2
1600 — 1700	0	0	0
1700 — 1800	0	0	0
1800 — 1900	0	0	0
1900 — 2000 et plus	1	0	1
	176	34	146

4. D'un point de vue plus colonial, il faut remarquer qu'aucune des 120 souches provenant du Congo belge ou du centre africain ne mérite de mention spéciale pour la production de l'acide citrique.

B. — ACTION DU FeCl_3 .

La coloration jaune intense prise par le milieu de culture sous l'action du perchlorure de fer dilué se rap-



porte de toute évidence à l'acide citrique, réagissant comme acide-alcool (réaction de Berg). Rappelons que cette teinte jaune obtenue pour la totalité des essais est considérée comme négative dans les tableaux; seules deux cultures ont développé une teinte brun-rouge.

C. — PIGMENTS.

Pour quatre souches, la neutralisation du milieu de culture amène l'apparition d'une teinte jaune or, surtout

intense pour une d'entre elles. Il s'agit d'un pigment acido-métrique, à forme incolore en milieu acide. Dans un cas plus surprenant (souche 61 T), le seul d'ailleurs que nous ayons enregistré, une légère alcalinité provoque l'apparition d'une teinte jaunâtre qui, d'elle-même, lentement par repos et à partir de la surface, beaucoup plus rapidement par agitation, vire graduellement au jaune verdâtre, au vert sale, au vert franc, au violet, au violet-rouge, puis au rouge 46 du code Ségué.

L'alcalinisation brutale donne d'emblée une teinte brun rougeâtre. Par réacidification, le milieu redevient incolore. A notre connaissance, c'est la première fois qu'un *Aspergillus* du groupe *niger* développe dans son milieu de culture un tel pigment, de nature anthraquinonique, semble-t-il. Des recherches sont en cours pour élucider ce point.

CHAPITRE II.

ETUDE COMPARATIVE DE TROIS SOUCHES A, B, C.

A l'effet d'obtenir des indications utiles sur la courbe d'acidification de souches différentes et de pouvoir comparer ensuite les résultats, nous avons fait appel à trois d'entre elles qui, sur les 205 examinées, ont fourni les chiffres d'acidité les plus élevés, soit 1500 pour A, 1516 pour B, 2034 pour C. (N^{os} 16, 758, 40 de la collection.)

§ 1. Essai qualitatif.

L'essai consiste à étudier l'influence de doses croissantes de NH_4NO_3 sur la nature et la quantité des acides produits. Les chiffres d'acidité se rapportent à 1 cc. de milieu de culture prélevé aux dates indiquées à l'aide d'une pipette stérile, après agitation circulaire et lente des erlenmeyer. Ils sont empiriquement multipliés par 10 pour faciliter la

TABLEAU I. — Souche A.

N°	NH ₄ NO ₃ gr. %	cc. base 0,1 N pour 10 cc. milieu						Acides		Sporulation		
		3 j.	5 j.	7 j.	9 j.	11 j.	14 j.	oxalique	citrique	3 j.	5 j.	14 j.
1	0,000	9,5	18,0	19,5	22	25,5	31,0	+	+	++	++	++
2	0,025	15,0	38,0	50,0	57,5	60,0	70,0	+	+	+	+	+
3	0,050	15,5	45,0	59,5	67,0	72,0	75,0	+	+	0	0	0
4	0,075	17,5	55,0	73,0	80,3	86,5	98,0	0	+	0	0	0
5	0,100	20,5	63,5	88,0	104,0	111,0	120,0	0	+	0	0	0
6	0,125	19,5	63,0	94,5	114,5	123,5	135,5	0	+	0	0	0
7	0,150	26,5	72,5	108,0	131,5	144,0	156,0	0	+	0	0	0
8	0,175	26,0	77,0	117,0	144,5	159,0	176,0	0	+	0	0	0
9	0,200	25,5	81,0	120,5	154,0	174,5	190,0	0	+	0	0	0
10	0,225	19,0	76,0	121,0	156,5	180,0	205,0	0	+	0	0	0
11	0,250	22,5	59,0	75,5	85,5	89,0	90,0	0	+	+	++	++
12	0,275	17,0	63,0	118,0	160,5	180,0	195,0	0	+	0	0	0
13	0,300	24,5	74,0	132,5	185,0	205,0	210,0	0	+	0	0	0
14	0,325	20,5	62,5	105,0	144,0	176,0	198,0	0	+	0	0	0
15	0,350	16,5	52,5	89,5	127,5	156,5	172,0	0	+	0	0	0
16	0,400	14,5	44,5	73,5	102,0	128,0	173,0	0	+	0	0	0
17	0,450	13,5	42,0	72,0	102,0	128,0	162,0	0	+	0	0	0
18	0,500	12,5	43,0	74,0	106,0	128,5	160,0	0	+	0	0	0

lecture. Le milieu de composition précédemment détaillée est réparti à raison de 60 cc. dans des erlenmeyer en pyrex de 150 cc.

De ce premier essai qualitatif résulte ce qui suit :

1. Après 9 jours l'optimum est d'environ 0,3 gr. % d' NH_4NO_3 pour la souche A; 0,25 gr. pour la souche B.

TABLEAU II. — Souche B.

N°	NH ₄ NO ₃ gr. %	cc. base 0,1 N pour 10 cc. milieu						Acides		Sporulation 14 jours
		3 j.	5 j.	7 j.	9 j.	11 j.	14 j.	oxalique	citrique	
1	0,000	1,5	14,5	20,0	23,0	25,0	25,5	0	+	Sporulation décroissante ↓
2	0,025	2,5	13,5	21,0	28,5	34,5	38,5	0	+	
3	0,050	12,5	32,0	40,0	45,5	49,5	56,0	++	+	
4	0,075	8,5	22,0	40,0	51,5	59,0	69,5	++	+	
5	0,100	31,0	65,0	84,0	105,0	123,0	141,0	0	+	
6	0,125	32,0	70,5	87,5	108,5	128,0	155,0	0	+	
7	0,150	32,5	93,5	127,5	158,0	181,5	200,5	0	+	
8	0,175	30,5	88,5	117,0	145,0	167,5	183,0	0	+	
9	0,200	29,5	102,0	136,5	171,5	189,0	182,5	0	+	
10	0,225	26,5	108,0	158,5	202,0	204,0	183,5	0	+	
11	0,250	21,0	108,0	175,0	223,5	213,0	181,5	0	+	
12	0,275	19,5	89,0	144,5	210,0	204,0	174,0	0	+	
13	0,300	16,0	82,0	141,0	202,0	198,5	170,5	0	+	
14	0,325	14,5	55,0	112,5	164,0	184,0	151,5	0	+	
15	0,350	14,5	49,5	94,0	152,0	183,0	155,5	0	+	
16	0,400	12,5	34,5	56,0	80,0	99,0	139,5	0	+	
17	0,450	—	—	—	—	—	—	-	-	
18	0,500	9,5	25,0	39,0	57,0	74,0	93,0	0	+	

En ce qui concerne la souche C, l'optimum doit se situer entre 0,25 et 0,30 gr. %.

L'acidité aberrante trouvée pour 0,225 gr. % (tableau III, souche C) est due au fait qu'après 5 jours le numéro 10 se trouvait être sporulé en même temps que les numéros de tête 1, 2 et 3 alors que les numéros allant de 4 à 8 inclus ne sporulaient plus que par touffes de plus en plus

TABLEAU III. — Souche C.

N°	NH ₄ NO ₃ gr. %	cc. base 0.1 N pour 10 cc. milieu						Acides		Sporulation 14 jours
		3 j.	5 j.	7 j.	9 j.	11 j.	14 j.	oxalique	citrique	
1	0,000	1,5	6,5	7,0	8,0	8,5	7,5	+	+	+
2	0,025	5,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	+	+	+
3	0,050	9,0	38,5	41,5	43,0	42,0	45,0	+++	+	+
4	0,075	20,5	53,0	66,5	80,5	91,0	112,0	+++	+	
5	0,100	22,0	57,0	70,5	79,0	88,0	109,0	++	+	
6	0,125	24,0	69,5	98,0	119,0	142,0	168,5	+	+	
7	0,150	24,0	82,5	114,0	143,5	172,5	203,5	0	+	
8	0,175	29,5	101,5	148,5	191,0	220,0	221,5	0	+	
9	0,200	30,5	111,0	173,0	216,0	234,0	217,5	0	+	
10	0,225	30,5	95,0	123,0	139,5	148,5	168,5	0	+	
11	0,250	27,0	98,5	177,0	232,0	228,5	202,0	0	+	
12	0,275	27,0	98,0	169,5	227,0	220,5	188,0	0	+	
13	0,300	27,0	99,5	171,0	233,5	221,0	192,0	0	+	
14	0,325	24,0	73,0	115,0	149,0	175,5	206,5	0	+	
15	0,350	24,5	70,0	106,0	132,0	152,0	178,0	0	+	
16	0,400	20,0	60,0	90,0	111,0	125,5	133,0	0	+	
17	0,450	20,5	61,0	90,0	108,5	121,0	125,5	0	+	
18	0,500	19,5	55,5	83,5	102,5	119,5	124,0	0	+	

espacées et maigres jusqu'à cesser de le faire dans le restant de la série.

2. L'acide oxalique apparaît de pair avec l'acide citrique dans les trois cultures aux très faibles concentrations en NH₄NO₃ et disparaît très vite aux doses plus fortes.

3. Le liquide de métabolisme reste partout blanc jaunâtre pour les souches A et B. La souche C réagit différem-

ment. Le milieu liquide nutritif fonce graduellement sa teinte qui est jaune or. Le maximum d'intensité se situe au maximum d'acidité. Dès le numéro 14 se manifeste une chute brusque de coloration.

§ 2. Essai quantitatif.

Dans ce second essai, l'optimum de production d'acide citrique est serré de plus près, grâce aux résultats acquis précédemment.

Par mesure de contrôle, l'acide citrique est dosé sous forme de citrate de calcium, d'après le mode opératoire modifié par PERQUIN (105). En l'absence d'acide oxalique, on ajoute un excès de CaCl_2 . On évapore au bain-marie à environ 10 cc., puis, avec précaution, on neutralise à chaud par NH_4OH jusqu'à faible coloration jaune au méthylorange. La solution est de nouveau évaporée jusqu'à ce que tout le citrate cristallin de chaux se soit déposé. On sépare sur creuset filtrant 1G4 Jena, lave au maximum avec 10 cc. d'eau bouillante et sèche une nuit à 135° (100 mgr. de citrate de Ca proviennent de 77,09 mgr. d'acide citrique).

L'essai est mené durant 9 jours à 30° . Détail important, les erlenmeyer ne furent jamais secoués ni même déplacés. Avant chaque prise, lors de l'essai précédent, le contenu des erlenmeyer était convenablement homogénéisé par rotation circulaire, d'où parfois immersion accidentelle du mycélium. Le fait même de déboucher les erlenmeyer amène des perturbations certaines dues à l'influence de l'oxygène. (Nous ne trouvons pas d'autre explication à une sporulation anormale que par le fait d'une bourre d'ouate défectueuse ou une exposition trop longue à l'air de l'erlenmeyer débouché, lors de la prise d'échantillon.) Aussi, les conditions expérimentales vont se traduire par une plus grande régularité des résultats. Il ressort particulièrement du tableau III' (page 109) qu'un optimum

TABLEAU I'. — Souche A.

NH ₄ NO ₃ gr. %	Acidité en cc de NaOH N/10		Citrique anhydre d'après		Glucose présent par erlenmeyer	Glucose		pH début	pH final	Acide oxalique	Poids mycélium	Rendement sur sel de Ca	FeCl ₃ (Réactif de Berg.)	Sporulation
	primitive	produite (α)	α	sel de Ca		résiduel	consommé							
0,175	7	918	5,87	5,95	12,02	2,84	9,18	2,17	1,68	0	1,080	64,8 %	+	0
0,1875	7	848	5,43	5,30	12,02	3,35	8,67	2,17	1,74	0	1,087	61,1 %	+	0
0,200	7	778	4,98	5,00	12,02	3,78	8,24	2,17	1,78	0	0,994	60,6 %	+	0
0,2125	7	748	4,79	4,80	12,02	3,75	8,27	2,17	1,89	0	1,108	58,0 %	+	0
0,225	7	723	4,63	4,65	12,02	3,91	8,11	2,17	1,80	0	1,020	57,3 %	+	0
0,2375	7	778	4,98	5,00	12,02	3,42	8,60	2,17	1,78	0	1,118	58,1 %	+	0
0,250	7	668	4,27	4,24	12,02	4,16	7,86	2,17	1,85	0	0,867	54,0 %	+	0
0,2625	7	623	3,99	3,70	12,02	4,44	7,58	2,17	1,85	0	0,957	48,8 %	+	0
0,275	7	633	4,05	3,78	12,02	4,33	7,69	2,17	1,72	0	0,900	49,1 %	+	0
0,2875	7	867	4,96	4,71	12,02	2,47	9,55	2,17	1,60	0	1,063	49,3 %	+	0
0,2906	7	503	3,22	2,73	12,02	5,34	6,68	2,17	1,69	0	0,678	40,8 %	+	0
0,2937	7	508	3,25	2,77	12,02	5,32	6,70	2,17	1,67	0	0,741	41,3 %	+	0
0,3125	7	423	2,70	2,45	12,02	6,50	5,52	2,17	1,67	0	0,552	41,3 %	+	0

TABLEAU II'. — Souche B.

NH ₄ NO ₃ gr. %	Acidité en cc de NaOH N/10		Citrique anhydre d'après		Glucose présent par erlenmeyer	Glucose		Acide oxalique	Poids mycélium	Rendement sur sel de Ca	FeCl ₃ (Réactif de Berg.)	Spoutation
	primitive	produite (x)	α	sel de Ca		résiduel	consommé					
0,175	7	883	5,65	5,82	12,02	2,5	9,52	0	1,214	61,1 %	+	0
0,1875	7	906	5,80	5,35	12,02	2,3	9,72	0	1,219	55,0 %	+	0
0,200	7	948	6,07	6,10	12,02	2,3	9,72	0	1,158	62,7 %	+	0
0,2125	7	1018	6,51	6,70	12,02	1,8	10,22	0	1,151	65,5 %	+	0
0,225	7	1013	6,48	6,55	12,02	1,9	10,12	0	1,166	64,7 %	+	0
0,2375	7	1038	6,64	6,90	12,02	1,64	10,38	0	1,067	66,4 %	+	0
0,250	7	1043	6,67	6,70	12,02	1,60	10,42	0	1,092	64,3 %	+	0
0,2625	7	1053	6,74	6,80	12,02	1,60	10,42	0	1,110	65,2 %	+	0
0,275	7	1153	7,38	7,30	12,02	0,87	11,15	0	1,093	65,4 %	+	0
0,2875	7	1043	6,67	6,86	12,02	1,20	10,82	0	1,114	63,4 %	+	0
0,2906	7	1103	7,06	6,97	12,02	1,07	10,95	0	1,114	63,6 %	+	0
0,2937	7	1043	6,67	6,60	12,02	1,50	10,52	0	1,135	62,7 %	+	0
0,3125	7	993	6,35	6,50	12,02	2,25	9,77	0	1,040	66,5 %	+	0

TABLEAU III'. — Souche O.

NH ₄ NO ₃ gr. %	Acidité en cc Citrique anhydre de NaOH/10		Glucose présent par erlenmeyer	Glucose		pH début	pH final	Acide oxalique	Poids mycelium	Rendement sur sel de Ca	FeCl ₃ (Réactif de Berg.)	Sporelation
	primitive	produite (α)	α	sel de Ca	résidu	consommé						
0,175	7	1143	7,32	7,17	1,89	10,13	2,17	1,66	0,887	70,7 %	+	0
0,1875	7	1183	7,57	7,35	1,82	10,20	2,17	1,66	0,713	72,0 %	+	0
0,200	7	1188	7,60	7,46	1,68	10,34	2,17	1,66	0,754	72,4 %	+	0
0,2125	7	1313	8,40	8,21	1,07	10,95	2,17	1,61	0,799	75,0 %	+	0
0,225	7	1313	8,40	8,27	1,01	11,01	2,17	1,61	0,946	76,3 %	+	0
0,2375	7	1233	7,89	7,55	1,49	10,53	2,17	1,61	0,841	71,7 %	+	0
0,250	7	1233	7,89	7,55	1,60	10,42	2,17	1,61	0,791	72,4 %	+	0
0,2625	7	1003	6,42	6,24	2,89	9,13	2,17	1,66	0,877	68,3 %	+	0
0,275	7	1163	7,44	7,00	2,02	10,00	2,17	1,66	0,963	70,0 %	+	0
0,2875	7	973	6,23	6,00	3,00	9,02	2,17	1,71	0,837	66,5 %	+	0
0,2906	7	778	4,98	4,84	4,49	7,53	2,17	1,71	0,890	64,2 %	+	0
0,2937	7	608	3,89	3,66	5,92	6,10	2,17	1,71	0,614	60,0 %	+	0
0,3125	7	593	3,79	3,50	6,42	5,60	2,17	1,71	0,634	62,5 %	+	0

précis existe — soit 0,225 gr. % de NH_4NO_3 — pour la souche C, alors qu'il se présente moins net pour les souches A et B. C'est encore la souche C qui parvient à donner le rendement élevé de 76,3 gr. % d'acide citrique anhydre (calculé sur sel de Ca) obtenus aux dépens de 100 gr. de glucose anhydre consommé. Ce mode d'expression du rendement ne fait état d'aucune théorie relative à la nature du mécanisme de production de l'acide citrique. Nous reviendrons sur ce point pour la comparaison de nos résultats avec ceux des auteurs américains (voir p. 121).

CHAPITRE III.

ÉTUDE PARTICULIÈRE DE LA SOUCHE C.

(*A. citrino-niger*, C. M. n° 40.)

Ce chapitre fait suite aux précédents à près de quatre mois d'intervalle. Au cours de cet arrêt dans nos recherches, imposé par les événements, la souche C n'a rien perdu de sa vigueur, ainsi qu'en témoignent les résultats qui vont suivre.

§ 1. Essai KH_2PO_4 .

Deux essais similaires ont été menés l'un avec des produits chimiques purifiés en partie et de l'eau, distillée dans un appareil en verre; l'autre avec des produits commerciaux et de l'eau distillée ordinaire. La gamme de concentration croissante en KH_2PO_4 est la même pour les deux séries d'expériences.

ESSAI KH_2PO_4 , n° 1.

Composition du milieu de culture :

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,250 gr. (pro analysi Merck).
NH_4NO_3	2,200 " (pro analysi Merck).
Glucose anhydre Poulenc (recristallisé d'alcool)	200 "
KH_2PO_4	doses variables.
H_2O distillée (alambic en verre)	1,000 cc.

Le KH_2PO_4 a été purifié d'après la méthode de HOLCOMB et Mc KIBLIN pour en séparer le Fe et l'Al (273). 60 cc. de milieu de culture sont répartis en erlenmeyer-pyrex de 150 cc. Après stérilisation de 10 minutes à 120° , 1,6 cc. de HNO_3 N/4 sont ajoutés à chaque erlenmeyer et l'ensemencement s'opère par 2 cc. d'une suspension de spores provenant d'une culture jeune. L'essai, effectué en double à une température ne s'écartant guère de 30° et à l'obscurité, est mené durant 11 jours.

ESSAI KH_2PO_4 , n° 2.

Composition du milieu de culture :

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,250 gr. (pro analysi Merck).
 NH_4NO_3 2.200 " (pro analysi Merck).
 Glucose hydraté commercial . . . 220 " (200 gr., calculé en anhydre).
 KH_2PO_4 ordinaire, doses variables (Merck N° 4870).
 H_2O distillée (alambic ordinaire) 1000 cc.

Pour le reste, l'essai est en tout comparable au précédent.

KH_2PO_4 . No 1			KH_2PO_4 . No 2		
N°	KH_2PO_4 grs/L.	Acidité totale en cc. NaOH N/10	N°	KH_2PO_4 grs/L.	Acidité totale en cc. NaOH N/10
1	0,000	30 - 35	1	0,000	35 - 40
2	0,100	170 - 250	2	0,100	470 - 510
3	0,150	790 - 820	3	0,150	760 - 760
4	0,200	910 - 1020	4	0,200	1160 - 1180
5	0,250	1110 - 1120	5	0,250	1350 - 1370
6	0,280	1130 - 1170	6	0,280	1330 - 1330
7	0,300	1110 - 1160	7	0,300	1210 - 1340
8	0,330	1120 - 1150	8	0,330	1280 - 1310
9	0,350	1190 - 1200	9	0,350	1100 - 1190
10	0,400	1160 - 1180	10	0,400	1170 - 1230

CONCLUSIONS :

A. L'acidité optimale se produit pour des concentrations en KH_2PO_4 comprises entre 0,25 et 0,28 gr. au litre de milieu de culture.

B. La production d'acide citrique subit un affaiblissement en milieu de culture purifié. L'élimination partielle des métaux présents à l'état de traces dans les produits chimiques même à usage scientifique semble devoir en être la cause. Nous tâcherons d'en établir la preuve directe par l'étude de l'action de doses croissantes de Zn sous forme de $\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$, de Cu sous forme de $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$, de Mn sous forme de $\text{MnSO}_4, 4\text{H}_2\text{O}$ et de Fe sous forme de $\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$.

§ 2. Essai $\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$.

Composition du milieu de culture :

NH_4NO_3	2,200 gr. (pro analysi Merck).
KH_2PO_4	0,280 " purifié comme précédemment.
Glucose hydraté commercial	220 " (200 gr., calculé en anhydre).
$\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	doses variables.
H_2O distillée, alambic en verre	1.000 cc.

Le mode opératoire est identique à celui suivi pour l'essai KH_2PO_4 . Les essais sont de même effectués en double.

Les n^{os} 4 ont respectivement comme glucose résiduel 0,065 et 0,145 gr. ce qui donne comme rendement — calculé sur acidité totale — 76,1 % et 76,66 %.

Comme il résulte de l'examen du tableau, la courbe d'acidité présente plutôt un « plateau » qu'une valeur optimale proprement dite.

Les fortes acidités produites doivent être mises en relation avec l'emploi qui a été fait de glucose hydraté commercial au lieu de glucose anhydre pur recristallisé d'alcool.

MgSO₄, 7 H₂O

N°	MgSO ₄ , 7 H ₂ O grs/L.	Acidité totale en cc. NaOH N/10	Calculé en acide citrique anhydre	Glucose présent par erlenmeyer
1	0,375	1290 - 1190	8,256 - 7,616	12,000
2	0,350	1290 - 1340	8,256 - 8,576	12,000
3	0,325	1380 - 1400	8,832 - 8,960	12,000
4	0,300	1420 - 1420	9,088 - 9,088	12,000
5	0,275	1420 - 1380	9,088 - 8,832	12,000
6	0,250	1410 - 1400	9,024 - 8,960	12,000
7	0,225	1430 - 1400	9,152 - 8,960	12,000
8	0,200	1380 - 1400	8,832 - 8,960	12,000
9	0,175	1420 - 1400	9,088 - 8,960	12,000

§ 3. Essai ZnSO₄, 7 H₂O.

Composition du milieu de culture :

NH₄NO₃ 2,200 gr. (pro analysi Merck.)
 KH₂PO₄ 0,280 " (purifié comme précédemment.)
 MgSO₄, 7H₂O 0,250 "
 Glucose anhydre pur . . . 200 " (recristallisé d'alcool.)
 H₂O distillée (alambic en verre) 1000 cc.
 ZnSO₄, 7H₂O doses croissantes.

Pour le reste, le mode opératoire ne diffère pas du précédent.

Au cours des 11 jours de maintien des erlenmeyer dans l'étuve à gaz, la température n'a pu être maintenue à 30°. Le n° 1 s'est trouvé partiellement sporulé. D'une manière générale, le mycélium a tendance à se laisser submerger. Le Zn, à la dose de 2 mgr. par litre, réprime déjà fortement la production d'acides par la souche C.

N°	ZnSO ₄ , 7 aq. gr. %	Zn++ gr. en %	Acidité totale en cc. NaOH N/10	Poids du mycélium
1	0,000	0,0000	1243 - 1290	1,021
2	0,001	0,0002	1000 - 960	1,235
3	0,005	0,0011	750 - 720	1,184
4	0,010	0,0023	710 - 690	1,121
5	0,015	0,0034	690 - 650	1,084
6	0,020	0,0045	740 - 700	1,138
7	0,025	0,0057	720 - 700	1,084
8	0,030	0,0068	690 - 680	1,058
9	0,032	0,0073	600 - 540	1,052
10	0,035	0,0079	640 - 580	0,996

D'après WASSILJEW (275), le Zn agit différemment sur les souches d'*Aspergillus niger* : tantôt il augmente la quantité d'acide citrique, tantôt il l'abaisse.

Pour MOLLIARD (276), la formation d'acide citrique est freinée, elle est augmentée pour PORGES (277).

Il faut encore noter qu'avec le Zn, la souche C fournit l'acide citrique en mélange avec un peu d'acide oxalique.

§ 4. Essai CuSO₄, 5 H₂O.

Composition du milieu de culture :

NH₄NO₃ 2,200 gr. (pro analysi Merck.)
 KH₂PO₄ 0,280 " (purifié comme précédemment.)
 MgSO₄, 7H₂O 0,250 "
 Glucose anhydre pur 200 " (recristallisé d'alcool.)
 H₂O distillée, alambic en verre 1.000 cc.
 CuSO₄, 5 aq. doses croissantes.

La marche opératoire est exécutée comme précédemment.

N°	CuSO ₄ , 5 aq. gr. ‰	Cu ⁺⁺ gr. ‰	Acidité totale en cc. NaOH N/10	Poids du mycélium
1	0,0000	0,0000	1110 — 1010	0,956
2	0,0009	0,0002	1250 — 1220	1,016
3	0,004	0,0011	1300 — 1290	0,920
4	0,009	0,0023	1330 — 1320	0,980
5	0,013	0,0034	950 — 850	1,017
6	0,018	0,0045	470 — 430	0,851
7	0,022	0,0057	490 — 330	0,705
8	0,027	0,0068	280 — 220	0,650
9	0,028	0,0073	120 — 100	—

SPORULATION. — Les n° 1 et 2 sont sporulés aux trois quarts; le n° 3 est sporulé à moitié; le n° 4 présente une seule touffe sporulée. Pour les numéros qui suivent, la sporulation est générale dès les premiers jours, sur une plaque mycélienne assez mince.

La *coloration* du milieu de culture va du jaune au jaune verdâtre et au vert eau (solution ferreuse du Bertrand), et cela du n° 1 au n° 9.

On voit nettement par le tableau qui précède que le cuivre favorise la production d'acide citrique, surtout à la concentration approximative de 20 mgr. de Cu⁺⁺ au litre.

Nos résultats en cela sont en accord avec ceux de MULDER (15), qui prouva par les variations de pH que le cuivre favorise la production d'acides organiques.

§ 5. Essai MnSO₄, 4 H₂O.

La composition du milieu ainsi que le mode opératoire ont été indiqués aux paragraphes antérieurs, III et IV.

N°	MnSO ₄ , 4 aq. gr. ‰	Mn ⁺⁺ gr. ‰	Acidité totale en cc. NaOH N/10
1	0,000	0,0000	1080 — 1010
2	0,001	0,00022	190 — 160
3	0,0046	0,001	160 — 160
4	0,0092	0,0023	170 — 170
5	0,014	0,0034	190 — 180

RÉSULTATS :

La présence de manganèse provoque une sporulation luxuriante des cultures. Bien qu'essai témoin, le n° 1 se trouve sporulé presque entièrement. Le manganèse se révèle en plus très défavorable à la production d'acides organiques pour notre souche. De même, STEINBERG note une action dans le même sens (29).

§ 6. Essai FeSO₄, 7 H₂O.

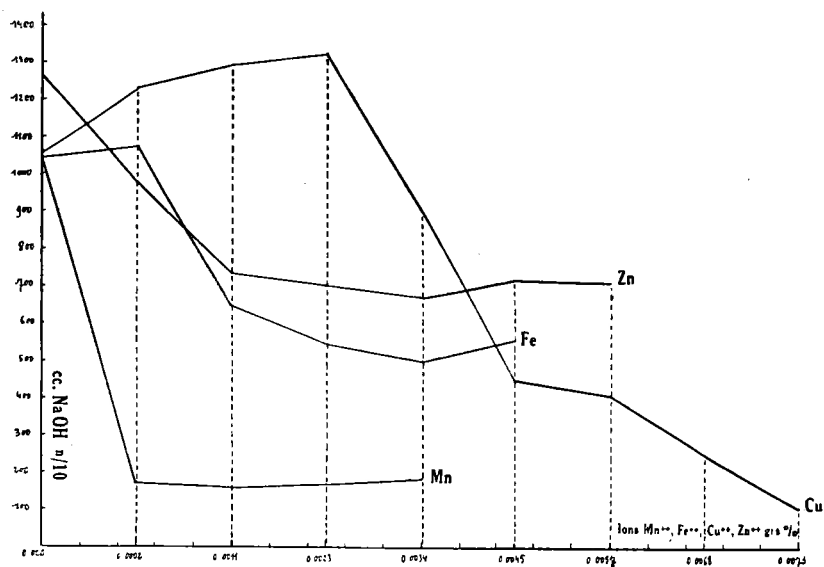
Même remarque, au sujet de la composition du milieu et du mode opératoire, qu'au § 5.

N°	FeSO ₄ , 7 aq. gr. ‰	Fe ⁺⁺ gr. ‰	Acidité totale en cc. NaOH N/10
1	0,000	0,0000	1080 — 1010
2	0,001	0,0002	1180 — 970
3	0,005	0,0011	670 — 630
4	0,011	0,0023	590 — 500
5	0,013	0,0045	520 — 480
6	0,020	0,0068	610 — 510

RÉSULTATS :

La présence du fer accentue la sporulation des cultures. A doses très faibles, il paraît favorable à la production

d'acides, mais très vite, déjà à la dose de 2 mgr. par litre, il devient nocif. Pour les auteurs, le fer réprime la production d'acide citrique par l'*Aspergillus niger* (102, 278, 105) ou l'augmente de 50 % lorsque quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 sont ajoutées à un litre de milieu (279).



Si nous tenons à résumer l'action des quatre éléments Zn, Cu, Mn, Fe sur la souche C, nous dirons qu'à des concentrations bien précisées le Cu stimule la production d'acide citrique, le Fe à un moindre degré. Quant au Zn et au Mn, ils la répriment, ainsi que le fait bien voir l'allure des courbes relatives à chaque métal.

Le surcroît d'acidité dû à l'utilisation d'eau distillée ordinaire — voir § 1, essai KH_2PO_4 — provient du fait qu'elle contient des traces de cuivre, tandis que l'eau distillée dans un appareil entièrement en verre en est exempt.

Il ressort encore de ces expériences que la sporulation se manifeste comme un phénomène inverse de la produc-

tion d'acide citrique. Une souche se trouvant en équilibre physiologique brûle complètement le glucose en CO_2 et H_2O et sporule abondamment.

§ 7. Essai comparatif glucose-saccharose.

Le milieu glucosé possède la composition habituelle :

NH_4NO_3		2,200 gr.	(pro analysi Merck.)
KH_2PO_4		0,280 "	(purifié comme décrit.)
$\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$		0,250 "	
Glucose hydraté commercial		220 "	(200 gr d'anhydre.)
H_2O distillée (alambic en verre)		1,000 cc.	

Le milieu saccharosé possède la même composition susdite en sels minéraux; le saccharose utilisé (sucre rangé de Tirlémont) s'y trouve à raison de 200 gr. au litre. Le sulfate de Fe (solution extemporanée de $\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$) et le sulfate de cuivre y sont ajoutés séparément ou en mélange aux concentrations indiquées.

Le milieu, comme à l'habitude, est réparti à raison de 60 cc. par erlenmeyer en pyrex de 150 cc., lequel estensemencé par 2 cc. d'une solution de spores (culture âgée de 10 jours), acidulé par 1,6 cc. d' $\text{HNO}_3\text{N}/4$ et mis à l'étuve 11 jours à 30° et à l'obscurité. Les essais sont effectués en triple.

Milieu glucosé.

Série	Fe %	Cu %	Acidité totale	Glucose résiduel	Rendement en Ac. G.	Mycélium
1	0	0	1405-1390-1435	0,28-0,34-0,20	76,7-76,3-77,8	0,958-0,845-0,92
2	0	0,004	1430-1440-1425	0,17-0,26-0,27	77,3-78,5-77,7	0,86-0,885-0,753
3	0,001	0	1330-1465-1315	— — —	— — —	0,938 — —
4	0,001	0,004	1370-1345-1330	— — —	— — —	0,854 — —

Milieu saccharosé.

Série	Fe%	Cu%	Acidité totale	Glucose résiduel	Rendement en Ac. C.	Mycélium
1	0	0	570- 550- 580	— — —	— — —	0,530 — —
2	0	0,004	250- 235- 280	— — —	— — —	0,383-0,402-0,57
3	0,001	0	1300-1315-1250	— — —	— — —	1,198 — —
4	0,001	0,004	1130-1240-1135	— — —	— — —	1,026 — —

CONCLUSIONS :

A. Le glucose commercial utilisé renferme suffisamment de Fe et pas assez de Cu pour parvenir aux conditions optimales (donc moins de 0,0011 % de Cu^{++} et plus de 0,0002 % de Fe^{++}).

B. L'obtention du rendement le plus élevé observé au cours de toute la série d'expériences est 78,5 %.

C. Sans l'addition de traces de Fe (0,001 % de FeSO_4) le sucre blanc (rangé de Tirlemont) est absolument impropre à la production d'acide citrique par la souche C, la plaque mycélienne se forme à grand'peine et reste fragile.

D. Fait singulier : le Cu qui augmente légèrement l'acidité en milieu glucosé, la réprime très fortement en milieu saccharosé, tandis qu'en mélange avec le Fe, l'inverse se présente. Le Cu n'a cependant pas empêché l'action de la sucrase comme en fait foi l'examen polarimétrique. L'inversion se révèle totale après les 11 jours, mais une faible proportion d'inverti a disparu.

§ 8. Essai pH (électrode à la quinhydrone).

La composition du milieu glucosé ainsi que le mode opératoire sont en tous points semblables à l'essai précédent. L'ensemencement se fit à l'aide de 2 cc. d'une culture vieille de 18 jours. L'essai est mené en double. Le

pH est amené aux diverses valeurs expérimentales à l'aide de $\text{HNO}_3 \text{ N}/4$.

Série	cc. $\text{HNO}_3 \text{ N}/4$	pH	Acidité totale
1	0,40	2,8	925 — 1040
2	0,55	2,6	690 — 1065
3	0,85	2,4	825 — 1325
4	1,25	2,2	695 — 1160
5	1,80	2,0	970 — 975
6	2,80	1,8	1300 — 1315
7	4,60	1,6	455 — 460

L'optimum de production d'acides est difficile à pointer; il se localise cependant entre pH 2,4 et 1,8. Sans la moindre cause apparente, de deux erlenmeyer d'une même série traités de façon identique, l'un se met à sporuler, l'autre pas. Par le fait même, de grandes différences dans le chiffre d'acidité s'établissent. Nous inclinons à penser que pH 1,8 convient le mieux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES (suite et fin).

269. KLUYVER, A. J., *Bull. Ecole Sup. Brass. Louvain*, 1939, **39**, n° 4, 166.
270. MOSSERAY, R., *Bull. Soc. Mycol. France*, 1933, **50**, (1), 120-123.
271. MOSSERAY, R., *La Cellule*, 1934, **43**, (2), 203, 285.
272. DENIGÈS, G., *C. R. Acad. Sciences*, 1899, **128**, 680; 1899, **132**, 32.
273. STAHRÉ, L., *Nordisk Farmaceutisk Tidskrift*, 1895, 2, 141.
274. HOLCOMB, R., et MC KIBLIN, R. R., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1928, **50**, 1695.
275. WASSILJEW, *Biochem. Zeitchr.*, 1935, **278**, 226-234.
276. MOLLIARD, M., *C. R. Acad. Sciences*, 1929, **189**, 417-420.
277. PORGES, *Amer. Journ. Bot.*, 1932, **19**, 559, 567.
278. GIORDANI, M., *La Chimica e l'Industria*, 1935, **17**, 77-81; *Chem. Abstr.*, 1935, **29**, 2217.
279. CHRZASZCZ, T., et PEYROS, E., *Biochem. Zeitschr.*, 1935, **280**, 325-336.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

1° Du point de vue pratique, de l'étude d'ensemble de près de 200 souches (d'origine principalement congolaise) appartenant au groupe hétérogène *Aspergillus niger*, il ressort que l'acide citrique se présente comme un produit de métabolisme constant en milieux de culture déséquilibrés. Par ailleurs, les souches à haut rendement en cet acide restent rares. L'une d'entre elles (souche C) a donné 78,5 % — calculé uniquement sur la base du glucose transformé — après l'application des doses optimales de certains sels.

A titre de comparaison, la souche C a été cultivée sur milieu normal Czapek-Dox de composition suivante, et dont le pH est de 7,4 :

Glucose	50	grs.
NaNO ₃	2	"
KH ₂ PO ₄	1	"
KCl	0,5	"
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,5	"
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0,04	"
Eau distillée	1,000	"

100 cc. de milieu répartis en erlenmeyer de 300 cc. et placés à l'étuve 11 jours à 30° et à l'obscurité n'ont fourni que des chiffres d'acidité variant entre 75 et 105, évalués en NaOH n/10, témoignant d'un rendement négligeable.

2° Quant au problème de la genèse de l'acide citrique, les idées de BERNHAUER en particulier paraissent inacceptables (108). L'hypothèse de cet auteur consisterait à faire admettre que le processus de base de la fermentation citrique serait le même que celui de la fermentation alcoolique, à savoir le passage par le stade aldéhydique (l'acétaldéhyde provenant par décarboxylation de l'acide pyruvique).

Un calcul simple indique dès lors que 3 moles de glucose peuvent fournir 6 moles d'acide pyruvique concourant à la formation de 2 moles d'acide citrique. Dans ces conditions, il est facile de voir que le rapport $\frac{\text{Acide citrique}}{\text{CO}_2}$ ne peut excéder la valeur de 1,45 ni celui $\frac{\text{Acide citrique}}{\text{glucose transformé}}$ celle de 71,1.

En effet, d'après le schéma de MEYERHOF (3, 4) :

1 glucose $\rightarrow$ 2 ac. phosphopyruvique $\rightarrow$ 2 ac. pyruvique + 2 phosph.

Sous l'action de la carboxylase, on a : $\text{CH}_3\text{CO.COOH} = \text{CO}_2 + \text{CH}_3\text{CHO}$. Et comme 3 moles d'aldéhyde sont requises pour une mole d'acide citrique, le rapport

$$\frac{\text{Acide citrique}}{\text{CO}_2} = \frac{192}{132} = 1,45.$$

De même, une mole de glucose fournissant 2 moles d'aldéhyde et une mole d'acide citrique nécessitant 3 moles d'aldéhyde, 3 M. glucose $\rightarrow$ 2 M. citrique. D'où l'on obtient comme autre valeur de rendement :

$$\frac{\text{Acide citrique (100)}}{\text{Glucose transformé}} = \frac{384 \times 100}{540} = 71,1 \text{ } \%.$$

En conséquence, ce rendement doit être calculé sur la base du glucose ayant servi uniquement à produire le CO_2 de décarboxylation et l'acide citrique.

Cette valeur s'obtient en retranchant du glucose initial la somme (glucose résiduel + glucose ayant servi à la production du mycélium + carbone en solution autre que celui de l'acide citrique et du glucose, évalué en glucose).

Bien que nous n'ayons pas effectué de balance de carbone de la souche C, nous admettrons 46,46 % de carbone dans le mycélium âgé de 11 jours. Ce pourcentage est déduit du travail de WELLS, MOYER et MAY (254). En adoptant ce chiffre, l'erreur causée est négligeable car le mycé-

lium est obtenu de la même manière et recueilli à la même époque que ces auteurs, soit après 11 jours. Il est remarquable au surplus de constater la fixité du pour cent de carbone que ceux-ci ont obtenue dans les 12 mycélium d'âges différents produits de manière identique, les oscillations restant comprises entre 45,31 et 47,77 %. Comptant pour nul le carbone en solution sous une forme autre que le glucose résiduel et l'acide citrique, — bien que l'addition de trois volumes d'alcool détermine un louche puis un précipité blanchâtre dans le milieu de culture, exactement comme pour la souche des auteurs précités (polysaccharide ?), — on constate ce qui suit.

Au § 7 de la page 118, les rendements en milieu glucosé prennent dès lors les valeurs suivantes :

Milieu glucosé.

Série	Rendement habituel	Rendement corrigé
1	76,72 — 76,32 — 77,83	84,76 — 83,33 — 85,60
2	77,34 — 78,50 — 77,73	84,45 — 87,00 — 84,00

Ces résultats, comparables à ceux des auteurs américains, infirment complètement l'hypothèse de l'existence d'un stade pyruvique au cours de la fermentation citrique par l'*Aspergillus niger*. Le processus de base de la fermentation alcoolique ferait donc défaut dans le cas de la fermentation citrique.

**Liste alphabétique des moisissures citées
dans la première partie.**

- Allomyces* (genre), 25.
Amylomyces Rouxii, 76.
Ashbya gossypii, 15.
Aspergillus albus, 48.
Aspergillus candidus, 48.
Aspergillus cinnamomeus, 37.
Aspergillus « *Citromyces* », 75.
Aspergillus clavatus, 46.
Aspergillus elegans, 57.
Aspergillus effusus TIRABOSCHI, 48.
Aspergillus fischeri, 22, 26, 75.
Aspergillus flavus LINK, 13, 23, 42, 48, 49, 71.
Aspergillus fumaricus WEHMER, 13, 39, 41.
Aspergillus fumigatus FRESENIUS, 11, 67, 72.
Aspergillus fuscus, 37.
Aspergillus giganteus, 18.
Aspergillus glaucus LINK, 46, 54, 60, 63, 73.
Aspergillus itaconicus, 44, 57.
Aspergillus melleus YUKAWA, 51.
Aspergillus nidulans, 48, 57.
Aspergillus niger (communément cité à chaque page).
Aspergillus ochraceus, 51.
Aspergillus oryzae, 12, 18, 19, 29, 46, 47, 48, 49, 56, 71, 76.
Aspergillus parasiticus SPEARE, 48.
Aspergillus ruber SPIECKERMANN et BREMER, 63, 71.
Aspergillus Sydowi, 54, 60, 75.
Aspergillus tamaris KITA, 48, 71.
Aspergillus terreus THOM, 41, 44, 54, 68, 72.
Aspergillus terricola, 21.
Aspergillus versicolor, 20.
Aspergillus virescens, 60.
Aspergillus Wentii, 37, 38, 42, 46, 59.

- Botrytis cinerea*, 57.
Byssosclamyces fulva OLLIVER et SMITH, 53.
Cephalothecium roseum CORDA, 21.
Circinella (genre), 40.
Citromyces (genre), 31, 75.
Citromyces cupricum MUSQUIN et ESTIENNE, 18.
Citromyces glaber WEHMER, 65.
Citromyces pfefferianus, 65.
Clasterosporium sp., 41, 42, 56, 57, 59.
Cunninghamella (genre), 40.
Endomyces vernalis, 11, 75.
Eremothecium Ashbyi, 15, 16, 25.
Fumago vagans PERS., 37, 41.
Fusarium sp., 11, 57, 66.
Fusarium culmorum, 66.
Fusarium heterosporum, 41.
Fusarium lini, 19.
Fusarium oxysporum, 41, 61.
Helminthosporium (genre), 62, 73.
Helminthosporium avenae, 63.
Helminthosporium catenarium, 62.
Helminthosporium cynodontis MARIGNONI, 62, 63.
Helminthosporium euchlaenae ZIMMERMAN, 63.
Helminthosporium gramineum RABENHORST, 62.
Helminthosporium geniculatum TRACY et EARLE, 56, 57, 59.
Helminthosporium leersii ATKINSON, 68.
Helminthosporium Ravenelii CURTIS, 65.
Helminthosporium tritici-vulgaris NISIKADO, 62.
Helminthosporium turcicum PASSERINI, 65.
Helminthosporium velutinum, 62.
Melanconium (genre), 19.
Monascus purpureus WENT, 69.
Monilia (genre), 42.
Monilia candida, 11.
Monilia formosa, 46.
Mucor (genre), 40, 42, 56.
Mucor Boulard, 76.
Mucor Boidin, 11.
Mucor Christianensis, 20.
Mucor griseo-cyanus, 20.

- Mucor hyemalis*, 62.
Mucor mucedo, 41, 60.
Mucor piriformis, 31.
Mucor ramosus, 20.
Mucor racemosus, 11, 41, 56, 59, 60.
Mucor Rouxii (*rouxianus*), 42, 76.
Mucor sphaerosporus, 20.
Mucor spinosus, 20.
Mucor stolonifer (*Rhizopus nigricans*), 40, 41.
Oidium lactis, 11, 75.
Oidium pullulans, 11.
Oospora aurantia, 69.
Oospora sulfurea-ochracea, 69.
Penicillium aurantio-brunneum, 75.
Penicillium aurantio-virens BOURGE, 41, 52, 71.
Penicillium brevi-compactum (groupe), 52, 75.
Penicillium brevi-compactum DIERCKX, 52, 59, 70, 72.
Penicillium camemberti, 11.
Penicillium carmino-violaceum BOURGE, 26, 65, 75.
Penicillium citrinum THOM, 68, 72.
Penicillium citro-roseum DIERCKX, 25, 64, 72.
Penicillium Charlesii, 25, 47, 72, 74.
Penicillium chrysogenum THOM, 26, 31, 37, 38, 57, 60.
Penicillium crateriforme GILMAN et ABBOT, 45.
Penicillium cyclopium WESTLING, 46, 59, 64, 70, 71.
Penicillium Dalciae ZALESKI, 13, 48, 71, 72.
Penicillium digitatum SACCARDO, 60, 74.
Penicillium ductauxii, 57.
Penicillium expansum, 73.
Penicillium flexuosum DALE, 51, 71.
Penicillium « glaucum », 53.
Penicillium griseo-futvum DIERCKX, 51, 54, 55, 57, 71, 72.
Penicillium guttulosum, 11.
Penicillium italicum WEHMER, 66, 73.
Penicillium javanicum, 19, 54, 75.
Penicillium lilacinum THOM, 18.
Penicillium luteum ZUKAL, 31, 74.
Penicillium minio-luteum DIERCKX, 45.
Penicillium notatum, 60.
Penicillium ochraceum BAINIER, 25.

- Penicillium oxalicum*, 29.
Penicillium phaeniceum, 67, 71.
Penicillium puberulum BAINIER, 26, 46, 52, 71, 75.
Penicillium palitans WESTLING, 56.
Penicillium purpurogenum, 18, 37, 39, 61.
Penicillium roqueforti, 11, 12.
Penicillium roseo-purpureum DIERCKX, 65.
Penicillium rubrum, 67, 71.
Penicillium spiculisporum LEHMAN, 41, 45, 70.
Penicillium spinulosum (série), 67.
Penicillium spinulosum THOM, 72.
Penicillium stoloniferum THOM, 52, 57.
Penicillium sylvaticum, 20.
Penicillium terrestre JENSEN, 47.
Penicillium varians SMITH, 74.
Penicillium viniferum, 46.
Rhizopus (genre), 23, 31, 40, 42.
Rhizopus Delamar, 76.
Rhizopus japonicus, 42, 76.
Rhizopus nigricans (*Mucor stolonifer*), 40, 41.
Rhizopus tonkinensis, 76.
Saprolegniées, 19.
Scopulariopsis brevicaulis, 60.
Sclerotinia sclerotiorum, 29.
Sphaeronema fimbriatum, 19.
Sterigmatocystis nigra, 12, 59.
Sterigmatocystis Phaenicis, 59.
Trichoderma (genre), 19.
Trichoderma Koningi, 11, 21.
Trichophyton interdigitale, 15.
-

TABLE DES MATIERES.

PREMIERE PARTIE.

	Pages.
INTRODUCTION	3
CHAPITRE PREMIER. — <i>Importance de l'étude biochimique des moisissures</i>	5
§ 1. Importance théorique	5
§ 2. Importance pratique	10
CHAPITRE II. — <i>Physiologie générale des moisissures</i>	12
§ 1. Milieux de culture	14
A. Apport minéral	15
B. Apport organique	19
§ 2. Rôle de l'oxygène	22
§ 3. Facteurs de croissance et vitamines	24
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	26
CHAPITRE III. — <i>Produits de métabolisme</i>	29
§ 1. Acides	29
A. Acides aliphatiques	29
B. Acides cycliques	46
C. Acides à structure inconnue	53
D. Acides aminés et chlorés	54
§ 2. Produits neutres	55
§ 3. Pigments	60
§ 4. Polysaccharides	73
§ 5. Graisses et stérols	75
§ 6. Enzymes	76
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES (<i>suite</i>)	77

DEUXIEME PARTIE.

INTRODUCTION	82
CHAPITRE PREMIER. — <i>Étude générale</i>	85
§ 1. Technique	85
§ 2. Résultats	87
§ 3. Conclusions	98
A. Production d'acides	98
B. Action de FeCl_3	101
C. Pigments	101

	Pages.
CHAPITRE II. — <i>Étude comparative de trois souches A, B, C</i>	102
§ 1. Essai qualitatif	102
§ 2. Essai quantitatif	106
CHAPITRE III. — <i>Étude particulière de la souche C</i>	110
§ 1. Essai KH_2PO_4	110
§ 2. Essai MgSO_4 , 7 H_2O	112
§ 3. Essai ZnSO_4 , 7 H_2O	113
§ 4. Essai CuSO_4 , 5 H_2O	114
§ 5. Essai MnSO_4 , 4 H_2O	115
§ 6. Essai FeSO_4 , 7 H_2O	116
§ 7. Essai comparatif glucose-saccharose	118
§ 8. Essai pH	119
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES (<i>suite et fin</i>)	120
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	121
LISTE ALPHABÉTIQUE DES MOISSURES CITÉES DANS LA PREMIÈRE PARTIE ...	124
TABLE DES MATIÈRES	128



Tome IX.

1. VAN WING, le R. P. J., *Études Bakongo. — II. Religion et Magie* (301 pages, 2 figures, 1 carte, 8 planches, 1938) fr. 60 »
2. TIARKO FOURCHE, J. A. et MORLIGHEM, H., *Les communications des indigènes du Kasai avec les âmes des morts* (78 pages, 1939) 12 »
3. LOTAR, le R. P. L., *La grande Chronique du Bomu* (163 pages, 3 cartes, 1940). 30 »
4. GELDERS, V., *Quelques aspects de l'évolution des Colonies en 1938* (82 pages, 1941) 16 »

Tome X.

1. VANHOVE, J., *Essai de droit coutumier du Ruanda* (Mémoire couronné au Concours annuel de 1940) (125 pages, 1 carte, 13 planches, 1941) fr. 33 »
2. OLBRECHTS, F. M., *Bijdrage tot de kennis van de Chronologie der Afrikaansche plastiek* (38 blz., X pl., 1941) 15 »
3. DE BEAUCORPS, le R. P. R., *Les Basongo de la Luniungu et de la Gohari* (Mémoire couronné au Concours annuel de 1940) (173 pages, 15 planches, 1 carte, 1941) 50 »
4. VAN DER KERKEN, G., *Le Mésolithique et le Néolithique dans le bassin de l'Uele* (118 pages, 5 fig., 1942) 25 »
5. DE BOECK, le R. P. L.-B., *Premières applications de la Géographie linguistique aux langues bantoues* (219 pages, 75 figures, 1 carte hors-texte, 1942) 65 »

Tome XI.

1. MERTENS, le R. P. J., *Les chefs couronnés chez les Ba Kongo orientaux. Etude de régime successoral* (Mémoire couronné au Concours annuel de 1938) (455 pages, 8 planches, 1942) 125 »

SECTION DES SCIENCES NATURELLES ET MEDICALES

Tome I.

1. ROBYNS, W., *La colonisation végétale des laves récentes du volcan Rumoka (laves de Kateruzi)* (33 pages, 10 planches, 1 carte, 1932). fr. 15 »
2. DUBOIS, le Dr A., *La lèpre dans la région de Wamba-Pawa (Uele-Nepoko)* (87 pages, 1932) 13 »
3. LEPLAE, E., *La crise agricole coloniale et les phases du développement de l'agriculture dans le Congo central* (31 pages, 1932) 5 »
4. DE WILDEMAN, E., *Le port suffrutescent de certains végétaux tropicaux dépend de facteurs de l'ambiance!* (51 pages, 2 planches, 1933) 10 »
5. ADRIAENS, L., CASTAGNE, E. et VLASSOV, S., *Contribution à l'étude histologique et chimique du Sterculia Bequaerti De Wild.* (112 pages, 2 planches, 28 fig., 1933). 24 »
6. VAN NITSEN, le Dr R., *L'hygiène des travailleurs noirs dans les camps industriels du Haut-Katanga* (248 pages, 4 planches, carte et diagrammes, 1933). 45 »
7. STEYAERT, R. et VRYDAGH, J., *Etude sur une maladie grave du cotonnier provoquée par les piqûres d'Helopeltis* (55 pages, 32 figures, 1933) 20 »
8. DELEVOY, G., *Contribution à l'étude de la végétation forestière de la vallée de la Lukuga (Katanga septentrional)* (124 pages, 5 planches, 2 diagr., 1 carte, 1933). 40 »

Tome II.

1. HAUMAN, L., *Les Lobelia géants des montagnes du Congo belge* (52 pages, 6 figures, 7 planches, 1934) fr. 15 »
2. DE WILDEMAN, E., *Remarques à propos de la forêt équatoriale congolaise* (120 p., 3 cartes hors texte, 1934) 26 »
3. HENRY, J., *Etude géologique et recherches minières dans la contrée située entre Ponthierville et le lac Kivu* (51 pages, 6 figures, 3 planches, 1934). 16 »
4. DE WILDEMAN, E., *Documents pour l'étude de l'alimentation végétale de l'indigène du Congo belge* (264 pages, 1934) 35 »
5. POLINARD, E., *Constitution géologique de l'Entre-Lulua-Bushimate, du 7^e au 8^e parallèle* (74 pages, 6 planches, 2 cartes, 1934) 22 »

Tome III.

1. LEBRUN, J., *Les espèces congolaises du genre Ficus L.* (79 pages, 4 figures, 1934). 12 »
2. SCHWETZ, le Dr J., *Contribution à l'étude endémiologique de la malaria dans la forêt et dans la savane du Congo oriental* (45 pages, 1 carte, 1934). 8 »
3. DE WILDEMAN, E., TROLLI, GRÉGOIRE et OROLOVITCH, *A propos de médicaments indigènes congolais* (127 pages, 1935) 17 »
4. DELEVOY, G. et ROBERT, M., *Le milieu physique du Centre africain méridional et la phytogéographie* (104 pages, 2 cartes, 1935) 16 »
5. LEPLAE, E., *Les plantations de café au Congo belge. — Leur histoire (1881-1935). — Leur importance actuelle* (248 pages, 12 planches, 1936) 40 »

Tome IV.

1. JADIN, le Dr J., <i>Les groupes sanguins des Pygmées</i> (Mémoire couronné au Concours annuel de 1935) (26 pages, 1935)	fr. 5 »
2. JULIEN, le Dr P., <i>Bloedgroeponderzoek der Efé-pygmeeën en der omwonende Negerstammen</i> (Verhandeling welke in den jaarlijkschen Wedstrijd voor 1935 eene eervolle vermelding verwierf) (32 bl., 1935)	6 »
3. VLASSOV, S., <i>Espèces alimentaires du genre Artocarpus</i> . — 1. <i>L'Artocarpus integrifolia L. ou le Jacquier</i> (80 pages, 10 planches, 1936)	18 »
4. DE WILDEMAN, E., <i>Remarques à propos de formes du genre Uragoga L. (Rubiaceées)</i> . — <i>Afrique occidentale et centrale</i> (188 pages, 1936)	27 »
5. DE WILDEMAN, E., <i>Contributions à l'étude des espèces du genre Uapaga BAILL. (Euphorbiacées)</i> (192 pages, 43 figures, 5 planches, 1936).	35 »

Tome V.

1. DE WILDEMAN, E., <i>Sur la distribution des saponines dans le règne végétal</i> (94 pages, 1936)	fr. 16 »
2. ZAHLBRUCKNER, A. et HAUMAN, L., <i>Les lichens des hautes altitudes au Ruwenzori</i> (31 pages, 5 planches, 1936)	10 »
3. DE WILDEMAN, E., <i>A propos de plantes contre la lèpre (Crinum sp. Amaryllidacées)</i> (58 pages, 1937)	10 »
4. HISSETTE, le Dr J., <i>Onchocercose oculaire</i> (120 pages, 5 planches, 1937)	25 »
5. DUREN, le Dr A., <i>Un essai d'étude d'ensemble du paludisme au Congo belge</i> (86 pages, 4 figures, 2 planches, 1937)	16 »
6. STANER, P. et BOUTIQUE, R., <i>Matériaux pour les plantes médicinales indigènes du Congo belge</i> (228 pages, 17 figures, 1937)	40 »

Tome VI.

1. BURGEON, L., <i>Liste des Coléoptères récoltés au cours de la mission belge au Ruwenzori</i> (140 pages, 1937)	fr. 25 »
2. LEPERSONNE, J., <i>Les terrasses du fleuve Congo au Stanley-Pool et leurs relations avec celles d'autres régions de la cuvette congolaise</i> (68 pages, 6 figures, 1937).	12 »
3. CASTAGNE, E., <i>Contribution à l'étude chimique des légumineuses insecticides du Congo belge</i> (Mémoire couronné au Concours annuel de 1937) (102 pages, 2 figures, 9 planches, 1938)	45 »
4. DE WILDEMAN, E., <i>Sur des plantes médicinales ou utiles du Mayumbe (Congo belge), d'après des notes du R. P. WELLENS † (1891-1924)</i> (97 pages, 1938)	17 »
5. ADRIAENS, L., <i>Le Ricin au Congo belge</i> . — <i>Étude chimique des graines, des huiles et des sous-produits</i> (206 pages, 11 diagrammes, 12 planches, 1 carte, 1938)	60 »

Tome VII.

1. SCHWETZ, le Dr J., <i>Recherches sur le paludisme endémique du Bas-Congo et du Kwango</i> (164 pages, 1 croquis, 1938)	fr. 28 »
2. DE WILDEMAN, E., <i>Dioscorea alimentaires et toxiques (morphologie et biologie)</i> (262 pages, 1938)	45 »
3. LEPLAE, E., <i>Le palmier à huile en Afrique, son exploitation au Congo belge et en Extrême-Orient</i> (108 pages, 11 planches, 1939)	30 »

Tome VIII.

1. MICHOT, P., <i>Étude pétrographique et géologique du Ruwenzori septentrional</i> (271 pages, 17 figures, 48 planches, 2 cartes, 1938)	fr. 85 »
2. BOUCKAERT, J., CASIER, H., et JADIN, J., <i>Contribution à l'étude du métabolisme du calcium et du phosphore chez les indigènes de l'Afrique centrale</i> (Mémoire couronné au Concours annuel de 1938) (25 pages, 1938)	6 »
3. VAN DEN BERGHE, L., <i>Les schistosomes et les schistosomoses au Congo belge et dans les territoires du Ruanda-Urundi</i> (Mémoire couronné au Concours annuel de 1939) (154 pages, 14 figures, 27 planches, 1939)	45 »
4. ADRIAENS, L., <i>Contribution à l'étude chimique de quelques gommes du Congo belge</i> (100 pages, 9 figures, 1939)	22 »

Tome IX.

1. POLINARD, E., *La bordure nord du socle granitique dans la région de la Lubi et de la Bushimai* (56 pages, 2 figures, 4 planches, 1939) . . . fr. 16 »
2. VAN RIEL, le Dr J., *Le Service médical de la Compagnie Minière des Grands Lacs Africains et la situation sanitaire de la main-d'œuvre* (58 pages, 5 planches, 1 carte, 1939) . . . 13 »
3. DE WILDEMAN, E., Drs TROLLI, DRICOT, TESSITORE et M. MORTIAUX, *Notes sur des plantes médicinales et alimentaires du Congo belge* (Missions du « Foréami ») (vi-356 pages, 1939) . . . 60 »
4. POLINARD, E., *Les roches alcalines de Chianga (Angola) et les tufs associés* (32 pages, 2 figures, 3 planches, 1939) . . . 12 »
5. ROBERT, M., *Contribution à la morphologie du Katanga; les cycles géographiques et les pénéplaines* (59 pages, 1939) . . . 10 »

Tome X.

1. DE WILDEMAN, E., *De l'origine de certains éléments de la flore du Congo belge et des transformations de cette flore sous l'action de facteurs physiques et biologiques* (365 pages, 1940) . . . fr. 60 »
2. DUBOIS, le Dr A., *La lèpre au Congo belge en 1938* (60 pages, 1 carte, 1940) . . . 12 »
3. JADIN, le Dr J., *Les groupes sanguins des Pygmoides et des nègres de la province équatoriale (Congo belge)* (42 pages, 1 diagramme, 3 cartes, 2 planches, 1940). 10 »
4. POLINARD, E., *Het doleriet van den samenloop Sankuru-Bushimai* (42 pages, 3 figures, 1 carte, 5 planches, 1941) . . . 17 »
5. BURGEON, L., *Les Colasposoma et les Euryope du Congo belge* (43 pages, 7 figures, 1941) . . . 10 »
6. PASSAU, G., *Découverte d'un Céphalopode et d'autres traces fossiles dans les terrains anciens de la Province orientale* (14 pages, 2 planches, 1941) . . . 8 »

Tome XI.

1. VAN NITSEN, le Dr R., *Contribution à l'étude de l'enfance noire au Congo belge* (82 pages, 2 diagrammes, 1941) . . . fr. 16 »
2. SCHWEITZ, le Dr J., *Recherches sur le Paludisme dans les villages et les camps de la division de Mongwalu des Mines d'or de Kilo (Congo belge)* (75 pages, 1 croquis, 1941) . . . 16 »
3. LEBRUN, J., *Recherches morphologiques et systématiques sur les caféiers du Congo* (Mémoire couronné au Concours annuel de 1937) (184 pages, 19 planches, 1941). 80 »
4. RODHAIN, le Dr J., *Etude d'une souche de Trypanosoma Cazalboui (Vivax)* (38 pages, 1941) . . . 11 »
5. VAN DEN ABEELE, M., *L'Erosion. Problème africain* (30 pages, 2 planches, 1941). . . 7 »
6. STANER, P., *Les Maladies de l'Hevea au Congo belge* (42 pages, 4 planches, 1941). 10 »
7. RESSELER, R., *Recherches sur la calcémie chez les indigènes de l'Afrique centrale* (54 pages, 1941) . . . 15 »
8. VAN DEN BRANDEN, le Dr J.-F., *Le contrôle biologique des Néosarsphénamines (Néosalvarsan et produits similaires)* (71 pages, 5 planches, 1942) . . . 20 »
9. VAN DEN BRANDEN, le Dr J.-F., *Le contrôle biologique des Glyphénarsines (Tryparsamide, Trypanarsyl, Novatoxyl, Trypotane)* (75 pages, 1942) . . . 20 »

Tome XII.

1. DE WILDEMAN, E., *Le Congo belge possède-t-il des ressources en matières premières pour de la pâte à papier?* (iv-156 pages, 1942) . . . 35 »
2. BASTIN, R., *La biochimie des moisissures (Vue d'ensemble. Application à des souches congolaises d'Aspergillus du groupe « Niger » THOM. et CHURCH.)* (125 pages, 2 diagrammes, 1942) . . . 35 »

SECTION DES SCIENCES TECHNIQUES

Tome I.

1. FONTAINAS, P., *La force motrice pour les petites entreprises coloniales* (188 pages, 1935) . . . fr. 19 »
2. HELLINCKX, L., *Etudes sur le Copal-Congo* (Mémoire couronné au Concours annuel de 1935) (64 pages, 7 figures, 1935) . . . 11 »
3. DEVROEY, E., *Le problème de la Lukuga, exutoire du lac Tanganika* (130 pages, 14 figures, 1 planche, 1938) . . . 30 »
4. FONTAINAS, P., *Les exploitations minières de haute montagne au Ruanda-Urundi* (59 pages, 31 figures, 1938) . . . 18 »
5. DEVROEY, E., *Installations sanitaires et épuration des eaux résiduaires au Congo belge* (56 pages, 13 figures, 3 planches, 1939) . . . 20 »
6. DEVROEY, E., et VANDERLINDEN, R., *Le lac Kivu* (76 pages, 51 figures, 1939) . . . 30 »

Tome II.

1. DEVROEY, E., *Le réseau routier au Congo belge et au Ruanda-Urundi* (218 pages, 62 figures, 2 cartes, 1939) fr. 60 »
2. DEVROEY, E., *Habitations coloniales et conditionnement d'air sous les tropiques* (228 pages, 94 figures, 33 planches, 1940) 65 »
3. LEGRAYE, M., *Grands traits de la Géologie et de la Minéralisation aurifère des régions de Kilo et de Moto (Congo belge)* (135 pages, 25 figures, 13 planches, 1940) 35 »

Tome III.

1. SPRONCK, R., *Mesures hydrographiques effectuées dans la région divagante du bief maritime du fleuve Congo. Observation des mouvements des alluvions. Essai de détermination des débits solides* (56 pages, 1941) fr. 16 »
2. BETTE, R., *Aménagement hydro-électrique complet de la Lufira à « Chutes Cornet » par régularisation de la rivière* (33 pages, 10 planches, 1941) 27 »
3. DEVROEY, E., *Le bassin hydrographique congolais, spécialement celui du bief maritime* (172 pages, 6 planches, 4 cartes, 1941) 50 »
4. DEVROEY, E. (avec la collaboration de DE BACKER, E.), *La réglementation sur les constructions au Congo belge* (290 pages, 1941) 50 »

COLLECTION IN-4°

SECTION DES SCIENCES MORALES ET POLITIQUES

Tome I.

1. SCHEBESTA, le R. P. P., *Die Bambuti-Pygmäen vom Ituri* (tome I) (1 frontispice, xviii-440 pages, 16 figures, 11 diagrammes, 32 planches, 1 carte, 1938) fr. 250 »

Tome II.

1. SCHEBESTA, le R. P. P., *Die Bambuti-Pygmäen vom Ituri* (tome II) (xii-284 pages, 189 figures, 5 diagrammes, 25 planches, 1941) fr. 135 »

SECTION DES SCIENCES NATURELLES ET MÉDICALES

Tome I.

1. ROBYNS, W., *Les espèces congolaises du genre Digitaria Hall* (52 pages, 6 planches, 1931) fr. 20 »
2. VANDERYST, le R. P. H., *Les roches oolithiques du système schisto-calcaireux dans le Congo occidental* (70 pages, 10 figures, 1932) 20 »
3. VANDERYST, le R. P. H., *Introduction à la phytogéographie agrostologique de la province Congo-Kasai. (Les formations et associations)* (154 pages, 1932) 32 »
4. SCAËTTA, H., *Les famines périodiques dans le Ruanda. — Contribution à l'étude des aspects biologiques du phénomène* (42 pages, 1 carte, 12 diagrammes, 10 planches, 1932) 26 »
5. FONTAINAS, P. et ANSOTTE, M., *Perspectives minières de la région comprise entre le Nil, le lac Victoria et la frontière orientale du Congo belge* (27 pages, 2 cartes, 1932) 10 »
6. ROBYNS, W., *Les espèces congolaises du genre Panicum L.* (80 pages, 5 planches, 1932) 25 »
7. VANDERYST, le R. P. H., *Introduction générale à l'étude agronomique du Haut-Kasai. Les domaines, districts, régions et sous-régions géo-agronomiques du Vicariat apostolique du Haut-Kasai* (82 pages, 12 figures, 1933) 25 »

Tome II.

1. THOREAU, J., et DU TRIEU DE TERDONCK, R., *Le gîte d'uranium de Shinkolobwe-Kasolo (Katanga)* (70 pages, 17 planches, 1933) fr. 50 »
2. SCAËTTA, H., *Les précipitations dans le bassin du Kivu et dans les zones limitrophes du fossé tectonique (Afrique centrale équatoriale). — Communication préliminaire* (108 pages, 28 figures, cartes, plans et croquis, 16 diagrammes, 10 planches, 1933) 60 »
3. VANDERYST, le R. P. H., *L'élevage extensif du gros bétail par les Bampombos et Baholos du Congo portugais* (50 pages, 5 figures, 1933) 14 »
4. POLINARD, E., *Le socle ancien inférieur à la série schisto-calcaire du Bas-Congo. Son étude le long du chemin de fer de Matadi à Léopoldville* (116 pages, 7 figures, 8 planches, 1 carte, 1934) 40 »

Tome III.

- SCAËTTA, H., *Le climat écologique de la dorsale Congo-Nil* (335 pages, 61 diagrammes, 20 planches, 1 carte, 1934) fr. 100 »

Tome IV.

1. POLINARD, E., *La géographie physique de la région du Lubilash, de la Bushimate et de la Lubi vers le 6° parallèle Sud* (38 pages, 9 figures, 4 planches, 2 cartes, 1935) 25 »
2. POLINARD, E., *Contribution à l'étude des roches éruptives et des schistes cristallins de la région de Bondo* (42 pages, 1 carte, 2 planches, 1935). 15 »
3. POLINARD, E., *Constitution géologique et pétrographique des bassins de la Kotto et du M'Bari, dans la région de Bria-Yalinga (Oubangui-Chari)* (160 pages, 21 figures, 3 cartes, 13 planches, 1935) 60 »

Tome V.

1. ROBYNS, W., *Contribution à l'étude des formations herbeuses du district forestier central du Congo belge* (151 pages, 3 figures, 2 cartes, 13 planches, 1936) 60 »
2. SCAËTTA, H., *La genèse climatique des sols montagnards de l'Afrique centrale. — Les formations végétales qui en caractérisent les stades de dégradation* (351 pages, 10 planches, 1937) 115 »

Tome VI.

1. GYSIN, M., *Recherches géologiques et pétrographiques dans le Katanga méridional* (259 pages, 4 figures, 1 carte, 4 planches, 1937) fr. 65 »
2. ROBERT, M., *Le système du Kundelungu et le système schisto-dolomitique* (Première partie) (108 pages, 1940). 30 »
3. ROBERT, M., *Le système du Kundelungu et le système schisto-dolomitique* (Deuxième partie) (35 pages, 1 tableau hors-texte, 1941) 13 »

SECTION DES SCIENCES TECHNIQUES

Tome I.

1. MAURY, J., *Triangulation du Katanga* (140 pages, figure, 1930) fr. 25 »
2. ANTHOINE, R., *Traitement des minerais aurifères d'origine filonienne aux mines d'or de Kilo-Moto* (163 pages, 63 croquis, 12 planches, 1933) 50 »
3. MAURY, J., *Triangulation du Congo oriental* (177 pages, 4 fig., 3 planches, 1934). 50 »

Tome II.

1. ANTHOINE, R., *L'amalgamation des minerais à or libre à basse teneur de la mine du mont Tsi* (29 pages, 2 figures, 2 planches, 1936) fr. 10 »
2. MOLLE, A., *Observations magnétiques faites à Elisabethville (Congo belge) pendant l'année internationale polaire* (120 pages, 16 figures, 3 planches, 1936). 45 »
3. DEHALU, M., et PAUWEN, L., *Laboratoire de photogrammétrie de l'Université de Liège. Description, théorie et usage des appareils de prises de vues, du stéréoplanigraphe C, et de l'Aéromultiplex Zeiss* (80 pages, 40 fig., 2 planches, 1938) 20 »
4. TONNEAU, R., et CHARPENTIER, J., *Etude de la récupération de l'or et des sables noirs d'un gravier alluvionnaire* (Mémoire couronné au Concours annuel de 1938) (95 pages, 9 diagrammes, 1 planche, 1939) 35 »
5. MAURY, J., *Triangulation du Bas-Congo* (41 pages, 1 carte, 1939) 15 »

Tome III.

HERMANS, L., *Résultats des observations magnétiques effectuées de 1934 à 1938 pour l'établissement de la carte magnétique du Congo belge* (avec une introduction par M. Dehalu) :

1. Fascicule préliminaire. — *Aperçu des méthodes et nomenclature des Stations* (88 pages, 9 figures, 15 planches, 1939) fr. 40 »
2. Fascicule I. — *Elisabethville et le Katanga* (15 avril 1934-17 janvier 1935 et 1^{er} octobre 1937-15 janvier 1938) (105 pages, 2 planches, 1941) 50 »
3. Fascicule II. — *Kivu, Ruanda, Région des Parcs Nationaux* (20 janvier 1935-26 avril 1936) (138 pages, 27 figures, 21 planches, 1941) 75 »
4. Fascicule III. — *Région des Mines d'or de Kilo-Moto, Ituri, Haut-Uele* (27 avril-16 octobre 1936) (71 pages, 9 figures, 15 planches, 1939). 40 »
5. HERMANS, L., et MOLLE, A., *Observations magnétiques faites à Elisabethville (Congo belge) pendant les années 1933-1934* (83 pages, 1941) 40 »

Tome IV.

1. ANTHOINE, R., *Les méthodes pratiques d'évaluation des gîtes secondaires aurifères appliquées dans la région de Kilo-Moto (Congo belge)* (218 pages, 56 figures, planches, 1941) fr. 75 »
2. DE GRAND RY, G., *Les graben africains et la recherche du pétrole en Afrique orientale* (77 pages, 4 figures, 1941) 25 »

Sous presse.

- VAN DER KERKEN, G., *L'Ethnie Mongo* (in-8°).
- SCHWETZ, F., *Recherches sur les Moustiques dans la bordure orientale du Congo belge* (in-8°).
- SCHWETZ, F., *Recherches sur les Mollusques dans la bordure orientale du Congo belge* (in-8°).
- SCHWETZ, F., *Recherches sur le Paludisme dans la bordure orientale du Congo belge* (in-8°).
- Dr PETER SCHUMACHER, M. A., *Expedition zu den zentralafrikanischen Kivu-Pygmäen* (in-4°) :
- I. Die physische und soziale Umwelt der Kivu-Pygmäen;
 - II. Die Kivu-Pygmäen.
- ADRIAENS, L. et WAGEMANS, G., *Contribution à l'étude chimique des sols salins et de leur végétation au Ruanda-Urundi* (in-8°).
- VAN NITSEN, R., *Le pian* (in-8°).
- SOHIER, A., *Le mariage en droit coutumier congolais* (in-8°).
- GELDERS, V., *Le clan dans la Société indigène. Etude de politique sociale belge et comparée* (in-8°).
- DEHALU, M., *La gravimétrie et les anomalies de la pesanteur en Afrique orientale* (in-4°).
- POLINARD, E., *Etude pétrographique de l'entre-Lulua-Lubilash, du parallèle 7°30' S. à la frontière de l'Angola* (in-4°).
- PASSAU, G., *La vallée du Lualaba dans la région des Portes d'Enfer (Katanga, Congo belge)* (in-4°).
- DE WILDEMAN, E., *Les latex des Euphorbiacées. Considérations générales* (in-8°).

BULLETIN DES SÉANCES DE L'INSTITUT ROYAL COLONIAL BELGE

	Belgique.	Congo belge.	Union postale universelle.
Abonnement annuel.	fr. 60.—	fr. 70.—	fr. 75.— (15 Belgas)
Prix par fascicule	fr. 25.—	fr. 30.—	fr. 30.— (6 Belgas)

Tome I (1929-1930)	608 pages	Tome VII (1936)	626 pages
Tome II (1931)	694 »	Tome VIII (1937)	895 »
Tome III (1932)	680 »	Tome IX (1938)	871 »
Tome IV (1933)	884 »	Tome X (1939)	473 »
Tome V (1934)	738 »	Tome XI (1940)	598 »
Tome VI (1935)	765 »	Tome XII (1941)	592 »

M. HAYEZ, Imprimeur de l'Académie royale de Belgique, rue de Louvain, 112, Bruxelles.
(Domicile légal: rue de la Chancellerie, 4) N° réf. 2019

Made in Belgium