REVUE CRITIQUE

RÔLE PHYSIOLOGIQUE DE LA LIPOGÉNÈSE CHEZ LES CHAMPIGNONS

Par Ph.-J. LUTERAAN et M. LANGERON

SOMMAIRE

Introduction.

I. — *Quelques définitions préliminaires.*

II. — *Pouvoir lipoformateur et capacité de production d'alcool dans leurs rapports avec les caractères biologiques de genre et d'espèce.*

1. Organismes fermentatifs vrais.
2. Autres champignons producteurs d'alcool.
3. Les champignons à graisses.

III. — *Action de l'oxygène.*

1. Sur l'assimilation.
2. Sur la lipogénèse.
3. Sur la production de pigments caroténoïdes.
4. Sur la production de pigments et d'antibiotiques.
5. Sur la production d'alcool éthylique.

IV. — *Action des glycides.*

1. Glycides et production de lipides.
2. Glycides et production d'alcool éthylique.
3. Action sur des métabolismes particuliers.

V. — *Action des alcools.*

1. Les monols.
2. Les polyols.

VI. — *Action des aldéhydes.*

1. Action sur la croissance et sur l'assimilation.
2. Aldéhydes et lipogénèse.
3. Aldéhydes et production d'alcool.

VII. — *Action des acides organiques.*

1. Diacides en C⁴.
2. Acide pyruvique.
3. Acide lactique.
4. Acide acétique.
5. Autres acides organiques.
6. Acides organiques, lipogénèse et production d'alcool.

VIII. — *Action des substances azotées.*

1. Influence de la nature de la substance azotée sur la production d'alcool et sur la lipogénèse.
2. Action du déséquilibre azoté.
3. Protéogénèse maxima et protéogénèse minima.
4. Lipogénèse maxima et lipogénèse minima.
5. Problème de la formation des graisses à partir des protéides.
6. Action de substances azotées sur la production de carotènes.
7. Valeur d'assimilation et valeur catalytique de l'élément azoté.

IX. — *Action de substances complexes ou en mélange.*

1. Leur absorption.
2. Leur assimilation et leur fermentation.
3. Leur action sur la croissance.
4. Leur action sur la consommation d'oxygène, sur la production aérobie, sur la production anaérobie de gaz carbonique.
5. Leur action sur la lipogénèse.

X. — *Influence de la concentration du milieu.*

1. Concentrations minima.
2. Concentrations maxima et action de la pression osmotique.
3. Action de la déshydratation.

XI. — *Influence de la réaction du milieu.*

1. Généralités.
2. Action sur l'assimilation.
3. Action sur la fermentation.
4. Action sur la consommation d'oxygène et le dégagement de gaz carbonique.
5. Action sur la lipogénèse.
6. Action sur d'autres métabolismes.

XII. — *Action des éléments minéraux.*

1. Sur la fermentation alcoolique.
2. Sur l'assimilation.
3. Sur la lipogénèse.
4. Sur la croissance.
5. Sur diverses activités métaboliques.

XIII. — *Action des facteurs de croissance.*

XIV. — *Relations de la lipogénèse avec diverses fonctions physiologiques.*

1. Rapports avec la protéogénèse et la multiplication cellulaire.
2. — avec l'absorption.
3. — avec l'assimilation.
4. — avec la respiration.
5. — avec l'excrétion.
6. — avec la production d'autres corps gras.
7. — avec la production de pigments et d'antibiotiques.
8. — avec la production d'alcool.

XV. — *Lipogénèse et différenciation morphologique.*

1. Rapports avec l'immersion dans les milieux de culture solides.
2. — avec la filamentisation chez les levures.
3. — avec la production de zonations.
4. Autres phénomènes de convergence morphologique.

XVI. — *Théories relatives au rôle physiologique de la lipogénèse.*

1. La lipogénèse est-elle un signe de dégénérescence protoplasmique ?
2. Les lipides doivent-ils être considérés comme substances de réserve ?
3. La lipogénèse intervient-elle dans la perméabilité cellulaire ?
4. La synthèse des corps gras intervient-elle dans la protéogénèse ?

XVII. — *Conception actuelle du rôle physiologique de la lipogénèse.*

1. Le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire des champignons.
2. La notion de convergence physiologique.
3. La lipogénèse comme manifestation d'une fonction antioxygène physiologique.
4. Les processus de déshydrogénation en aérobiose.
5. Le rôle catalytique de l'oxygène.

XVIII. — *Résumé et conclusions.*

INTRODUCTION

La *lipogénèse* est la synthèse biochimique des acides gras et des graisses neutres. Ses rapports sont souvent étroits avec la synthèse d'autres corps gras : lipides complexes, stérols, éléments d'insaponifiable X ; aussi, une distinction si précise de la lipogénèse peut-elle apparaître quelque peu artificielle. Notons immédiatement que quatre propriétés des lipides intéressent plus particulièrement le biologiste : ils sont *très réduits*, *autoxydables*, *tensio-actifs* et ils constituent des *solvants particuliers* ; certaines de ces propriétés se retrouvent chez d'autres corps gras, notamment chez les *carotènes*, élément constituant de l'insaponifiable X.

La lipogénèse est constante en aérobiose chez les champignons qui sont, sans exception, des organismes aérobies ; elle fait défaut, de même que la production de carotènes, en anaérobiose.

Il sera démontré, au cours du présent exposé, que toutes les circonstances tendant à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, normalement bas chez les champignons, favorisent la synthèse des lipides et leur excrétion finale, tandis que les circonstances inverses favorisent la synthèse et l'excrétion d'alcool éthylique.

Nous préciserons également les rapports de la lipogénèse avec diverses grandes fonctions physiologiques : protéogénèse, respiration, absorption, assimilation, excrétion. Ceci permettra d'établir qu'elle est la manifestation constante, mais non exclusive, d'une fonction physiologique jusques ici non reconnue : la *fonction anti-oxygène physiologique*.

I. — QUELQUES DÉFINITIONS PRÉLIMINAIRES

On confond souvent, sous une dénomination commune, des phénomènes physiologiques très différents.

1. — L'obtention définitive d'un corps plus réduit, à partir d'un corps originel, est un processus de *synthèse* ; par exemple, il y a synthèse de l'alcool éthylique à partir de l'acétaldéhyde au cours de la fermentation alcoolique ; mais il existe évidemment d'autres processus de synthèse biologiques que les réductions, il peut y avoir par exemple des processus de condensation (synthèse de l'acétylméthylcarbinol, des pénicillines, de l'aneurine, etc...).

2. — Il faut conserver, au terme de *fermentation*, le sens que lui donnait Pasteur, qui la considérait avant tout comme un phénomène catabolique toujours anaérobie ; elle porte généralement sur les glycides, se traduit habituellement par un dégagement de gaz carbonique ; mais on ne doit pas perdre de vue que, en dehors des fermentations dites synthétisantes, il y a des processus de synthèse plus ou moins limités, au cours des fermentations banales.

3. — La production d'alcool éthylique, faisant toujours suite au catabolisme des glycides, se présente en réalité sous des aspects très distincts :

La *fermentation alcoolique* est produite par des levures dites *zymatiques*, exceptionnellement par d'autres champignons également *zymatiques*, mais qui présentent en anaérobiose une *réduction morphologique* à l'état d'éléments cellulaires dissociés, arrondis,

faiblement bourgeonnants. La multiplication cellulaire est nulle en anaérobiose absolue ; en pratique, elle est restreinte, car l'anaérobiose n'est jamais absolue, parce qu'il est difficile de s'opposer à la diffusion de l'oxygène dans le sein de milieux de cultures liquides (Istin, 1947) ; cette multiplication cellulaire restreinte contraste avec le taux de consommation des glycides, qui atteint près de 100 p. 100, quelle que soit la concentration en ces substances. On reconnaît facilement un pouvoir zymatique en pratiquant un *ensemencement minime* dans un tube de fermentation type Langeron et Guerra ; aucun champignon azymatique ne produit d'alcool dans ces conditions. Beaucoup de facteurs agissent sur l'intensité d'une fermentation, mais aucun sur le pouvoir zymatique, à l'égard de tel ou tel sucre qui reste fixe et constant pour une espèce déterminée ; cette fixité et cette constance permettent d'affirmer qu'on est en présence d'un caractère *génotypique*. Comme caractères biochimiques essentiels de la fermentation produite par les levures vivantes, on peut citer la non dégradation des pentoses, la synthèse de l'alcool évidente à partir de l'acétaldéhyde.

La *respiration intra-moléculaire* est surtout le fait de champignons filamenteux *azymatiques* appartenant aux groupes les plus divers et se développant normalement en aérobiose ; les caractères physiologiques et morphologiques observés sont absolument normaux ; la respiration intra-moléculaire constitue plutôt une marque de différenciation physiologique chez des champignons plus évolués que les levures. La production d'alcool par respiration intra-moléculaire s'observe banalement chez des moisissures se développant à la surface de confitures ou de fruits (notamment épicarpe de certaines Rutacées) ; dans ce dernier cas, le ramollissement s'étend bien au delà de la zone d'extension des hyphes. La respiration intra-moléculaire augmente fortement avec la concentration en glycides. *Elle est toujours associée à la lipogénèse constante en aérobiose*. Enfin, nous avons noté que la respiration intra-moléculaire était fréquemment précédée de la production de pigments diffusibles, liée au brusque passage d'un mycélium aérien en anaérobiose. Comme autres caractères, on peut citer l'utilisation possible des pentoses, la non nécessité de la phosphorylation (Nord et coll.). La consommation des glycides est limitée et tous les sucres assimilables peuvent être utilisés au cours de la respiration intra-moléculaire, ce qui constitue le moyen le plus facile de déterminer si un sucre donné est assimilable ou non par un champignon filamenteux.

La *résistance à l'asphyxie* est un phénomène passif s'observant chez des champignons azymatiques en anaérobiose. Molliard ense-

mence *Sterigmatocystis nigra* dans un matras contenant un milieu liquide nutritif ; il ferme ensuite à la lampe ce matras, qui reste en communication avec un manomètre à air libre ; lorsque tout l'oxygène est consommé, le développement cesse, mais il continue à se dégager du gaz carbonique ; en somme, il y a eu adaptation provoquée d'un organisme azymatique à l'anaérobiose ; à la respiration intra-moléculaire, succède la résistance à l'asphyxie.

La résistance à l'asphyxie se distingue d'une quatrième forme de production d'alcool éthylique, appelée *fermentation propre* et au cours de laquelle un fragment d'organe végétal ou animal riche en glycides, placé en anaérobiose, est capable de produire de l'alcool aux dépens de ses glycides cellulaires. Ce dernier processus n'existe pas chez les champignons ; Stier et Stannard, puis Spiegelmann et Mozawa ont démontré que la levure était incapable d'utiliser ses propres glycides en anaérobiose.

4. — Lorsque la méthode manométrique de Warburg est utilisée, on emploie, par convention, les termes suivants :

respiration, symbole Q_{O_2} : c'est le nombre de mm^3 d'oxygène absorbés en une heure par une quantité de microorganismes ou de tissu dont le poids sec est de 1 mgr. ;

fermentation anaérobie, symbole $Q_{CO_2}^N$: c'est le nombre de mm^3 de gaz carbonique dégagés en une heure, en atmosphère d'azote, par une quantité de microorganismes ou de tissu dont le poids sec est de 1 mgr. ;

fermentation aérobie, terme auquel nous préférons celui de *production aérobie de gaz carbonique* (car il ne préjuge pas de son mécanisme), symbole $Q_{CO_2}^{O_2}$: c'est le nombre de mm^3 de gaz carbonique dégagés en une heure, en atmosphère d'oxygène, par une quantité de microorganismes ou de tissu dont le poids sec est de 1 mgr.

On conçoit l'importance de l'étude de la fermentation, de l'assimilation, de la respiration, des variations du quotient respiratoire pour aborder celle des synthèses et des *désassimilations*.

5. — Le terme d'*assimilation*, lorsqu'il s'agit de champignons, signifie exclusivement assimilation en aérobie.

L'assimilation d'une substance peut être reconnue par plusieurs méthodes : dosages chimiques, mesure de la consommation d'oxygène, mesure de la croissance ; on peut utiliser pour les levures la méthode auxanographique de Beijerinck.

L'assimilation de nombreuses substances est certainement liée à

leur déshydrogénation préalable ; ainsi, en est-il pour l'acide lactique, l'alcool. Nous avons pu mettre en évidence une forme particulière d'assimilation que nous avons appelée *assimilation anaérobie* ; elle s'opère aux dépens de sucres non reconnus assimilables par la méthode de Beijerinck, au niveau d'éléments fungiques immergés dans le sein de milieux de culture solides, et elle aboutit notamment à la production de lipides ; cette forme d'assimilation n'existe que chez des champignons à pouvoir réducteur puissant.

6. — *L'excrétion* est une fonction physiologique particulièrement importante ; elle se présente sous deux formes distinctes :

— excrétion franche avec rejet dans le milieu extérieur ;

— accumulation dans le sein de la cellule ou au niveau des membranes.

A. — Citons comme exemples d'excrétion franche :

— l'excrétion d'alcools : alcool éthylique, glycérol, mannitol, etc... (voir tableau XIII) ;

— l'excrétion de cétones (voir p. 353) ;

— l'excrétion d'acides organiques : acide acétique, acide succinique, acide fumarique, acide malique, acide citrique ; l'ordre exposé est déjà évocateur d'un mécanisme biochimique de formation des acides précités (voir p. 310 et fig. 3) ; excrétion d'acide lactique et, dans des conditions plus particulières, d'acide gluconique, d'acide oxalique.

On doit envisager comme exceptionnelles, et obtenues seulement dans des conditions expérimentales, les excrétions d'acétaldéhyde, d'aldol et d'acide pyruvique.

Doivent être également envisagés comme processus d'excrétion : l'élimination de l'ion ammonium (voir p. 331), celle de l'anhydride carbonique, celle de l'acide sulfhydrique.

Deux formes d'excrétion franche doivent particulièrement retenir l'attention :

a. La formation de *pigment diffusible* a lieu précisément au point où le mycélium pénètre la gélose ou à partir de la surface d'un milieu liquide, lorsque ce champignon a recouvert intégralement cette surface au cours de son développement. Tout se passe donc comme si la formation de ces pigments était liée à la modification brusque du type respiratoire, imposée au mycélium par passage de l'air en milieu relativement anaérobie.

Il existe deux catégories de pigments diffusibles : ceux dont la formation est liée à l'action d'une tyrosinase, éventualité très fré-

quente chez les champignons filamenteux, ceux dont la production cesse ou diminue dans toutes les circonstances qui tendent à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire au delà de sa valeur normale, par exemple pigment diffusible d'*Eremothecium ashbyi*. Chez les champignons, ces deux sortes de pigments peuvent exister et il suffit de modifier les conditions de milieu et de culture pour voir apparaître l'une et disparaître l'autre.

Ainsi, les pigments diffusibles liés à l'action d'une tyrosinase n'apparaissent pas lorsque le champignon se développe dans le sein d'un milieu liquide et non à sa surface. Les autres, tels les flavines (par exemple chez les Rhodotorulacées), peuvent être formés et excrétés dans ces conditions ; leur production est plus nettement liée à des circonstances tendant à abaisser la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire.

Souvent, les pigments diffusibles présentent une fluorescence particulière à la lumière de Wood ; les variations dans la teinte de cette fluorescence constituent un élément complémentaire de diagnose pour certains champignons filamenteux.

b. L'excrétion de certains polypeptides, notamment de la pénicilline, polypeptide acylé, est le seul exemple d'excrétion de corps conjugué que nous connaissons chez les champignons. Ce corps est *autoxydable*.

B. — Dans d'autres cas, l'excrétion *s'opère dans les limites de l'espace cellulaire* ; c'est notamment le cas de lipides et de certains pigments fuligineux ; ce rapprochement inattendu se trouvera justifié au cours du présent exposé.

Les lipides se présentent sous trois formes au cours de la vie cellulaire. Chez la cellule très jeune, on ne trouve ni globules graisseux, ni enclaves ; cependant, la formation de lipides est certaine, mais ils paraissent à ce premier stade exclusivement liés à la structure cellulaire.

Puis, ce sont des globules lipidiques, multiples, réfringents, brassés dans un cytoplasme en pleine activité.

Enfin, ces globules graisseux tendent à confluer en enclaves lipidiques multiples ou uniques. Ces enclaves lipidiques les plus importantes dans les cellules âgées ou mortes ne peuvent être considérées comme substances de réserve à l'égard de la cellule productrice.

On observe facilement ces trois stades en examinant l'extrémité d'un mycélium à croissance toujours centrifuge ; les enclaves lipidiques apparaissent nettement en amont de la partie cytoplasmique active. L'accumulation de corps gras peut revêtir une autre forme lorsque le champignon prend une forme kystique (Langeron, 1945) ;

on peut trouver des globules graisseux ou des enclaves dans des chlamydospores réelles ou fonctionnelles (chlamydospores intercalaires de Mucédinées, chlamydospores de *Torulopsis pulcherrima* ou de *Candida albicans*, téléutospores, etc...). Il a été démontré que les pigments caroténoïdes des Rhodotorulacées, dont le support sont les graisses péricapsulaires (Champeau et Lutéraan), ne sont jamais excrétés, ce qui oppose bien cette variété de corps gras aux lipides en général.

Nous avons observé chez certaines Dématiées, notamment chez *Pullularia pullulans* en culture sur lame, que les pigments s'accumulaient principalement au niveau de membranes de cellules âgées ou mortes.

C. — Enfin, la respiration cellulaire elle-même peut être considérée comme un processus d'excrétion de l'hydrogène (Wurmser) ; l'accumulation de cette substance amènerait théoriquement un abaissement progressif du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, si l'oxygène ne pouvait plus jouer son rôle d'accepteur final par l'intermédiaire de catalyseurs appropriés et si elle n'était pas compensée par des processus de réduction plus ou moins importants. Le schéma ci-dessous de Wurmser, fondé sur les conceptions de H. Wieland, sur l'individualisation d'un système desmolytique et sur ses recherches personnelles, figure ce qui a été précédemment énoncé.

FIG. 1. — D'après WURMSER, 1939.

II. — POUVOIR LIPOFORMATEUR ET CAPACITÉ DE PRODUCTION D'ALCOOL DANS LEURS RAPPORTS AVEC LES CARACTÈRES BIOLOGIQUES DE GENRE OU D'ESPÈCE

1. — Les organismes fermentatifs vrais

Ce sont avant tout les *Saccharomycétacées*, mais des espèces appartenant à différents genres sont absolument azymatiques sans qu'aucun élément apparent, présence de pigments visibles par exemple, ne puisse expliquer cette éventualité.

Le champignon appelé banalement « la levure » est l'une des races : levure de boulangerie, levure de bière, levure de vin, de *Saccharomyces cerevisiae*, races qui présentent à leur tour de nombreuses variétés biologiques.

On distingue notamment de façon très schématique :

les *levures hautes*, donnant parfois un voile, levures respiratoires, parce que le spectre des cytochromes y serait complet, dépourvues de mélibiose ;

les *levures basses*, ne donnant jamais de voile, levures de fermentation, où le spectre des cytochromes ne serait que partiel, faisant fermenter complètement le raffinose.

On distingue encore des *levures froides*, susceptibles de produire des fermentations à température relativement basse : par exemple, *Saccharomyces carlsbergensis*, qui est en même temps une levure basse.

Certaines Mucoracées, par exemple *Mucor racemosus*, sont susceptibles de vivre en anaérobiose, en prenant un aspect levuriforme à éléments dissociés et en produisant une fermentation alcoolique vraie, éventualité assez exceptionnelle chez les champignons de ce groupe ; et il apparaît nettement, dans certaines fermentations naturelles, que ce sont les levures associées qui produisent la fermentation alcoolique, préparée par l'hydrolyse des glycides complexes, due à des Mucorales ; enfin, la plupart des Mucorales susceptibles de produire de l'alcool le font par un processus autre que la fermentation alcoolique véritable et qui est voisin de celui observé chez les Aspergillacées et les *Fusarium*.

2. — Autres champignons producteurs d'alcool

Ce sont essentiellement des Aspergillacées et des *Fusarium*.

Les Aspergillacées sont des champignons généralement pigmen-

tés, à nutrition variable, toujours azymatiques, osmophiles et à grand pouvoir d'accommodation osmotique, à grande tolérance vis-à-vis de la réaction du milieu, tant du côté acide que du côté basique, les milieux acides ou neutres convenant mieux à leur développement. Ils produisent fréquemment des pigments diffusibles et des substances antibiotiques. Se développant très facilement sur des milieux purement synthétiques, ils sont par contre très sensibles à la déficience en un oligo-élément, ce qui en fait un objet de choix pour ce genre d'études. Tels sont les caractères biologiques essentiels des Aspergillacées, dont les spores, transportées par l'air, se développent facilement sur les supports les plus divers. L'espèce la plus étudiée est *Sterigmatocystis nigra* (Raulin 1870, Gabriel Bertrand, Terroine et ses collaborateurs, Molliard, Javillier et ses élèves, etc...). Certaines Aspergillacées sont thermophiles.

Les *Fusarium*, de spécification délicate, ont un comportement très voisin de celui des Aspergillacées. Ils ont été étudiés au point de vue production alcool et lipogénèse, par Nord, Damm, Niethammer, etc... Parmi les espèces les plus intéressantes, citons *Fusarium lini*, *Fusarium oxysporum*.

Tous ces champignons sont strictement azymatiques et ne produisent d'alcool que par respiration intra-moléculaire. Celle-ci s'observe chez bien d'autres champignons encore que les Aspergillacées et les *Fusarium*.

3. — Les champignons à graisses

La lipogénèse étant constante en aérobiose, cette dénomination est évidemment arbitraire ; elle se rapporte aux champignons chez lesquels le rendement peut être rendu tel que l'exploitation industrielle des corps gras qu'ils produisent devient possible ; on peut d'ailleurs forcer artificiellement la lipogénèse chez tous les champignons cultivables.

Le groupe très hétérogène des champignons dits à graisses comprend tout d'abord les Mucorales qui ont une individualité biologique très nette : leur croissance est rapide, les cultures sont envahissantes ; à l'inverse des Aspergillacées, elles sont très sensibles à la déficience en facteurs de croissance, notamment en aneurine ou en l'une de ses fractions (Schopfer) ; en conséquence, il est plus difficile de les cultiver sur un milieu synthétique et elles constituent un matériel de choix pour l'étude des facteurs de croissance chez les champignons. Les corps gras sont surtout localisés dans

les chlamydospores intercalaires, mais peuvent s'accumuler dans les éléments mycéliens, voire dans les spores (Niethammer). La sexualité des Mucorales a fait l'objet d'études importantes par la méthode des confrontations (Blakeslee, Burgeff), méthode qui a démontré l'action à distance par des substances diffusibles et aussi peut-être par un autre mécanisme ; Schopfer a envisagé cette sexualité dans ses rapports avec le métabolisme des corps gras ; il est à noter que les zygotes de *Phycomyces* se formant au pied des cultures sont relativement riches en carotènes et que, selon Schopfer, la formation des carotènes serait parallèle à celle des lipides chez les Mucorales. Les espèces les plus étudiées au point de vue lipogénèse sont *Mucor racemosus*, *Mucor hiemalis*, *Phycomyces nitens*, *Phycomyces blakesleanus*, *Rhizopus nigricans*, *Rhizopus oligosporus*, *Zygorhynchus moelleri*, *Mortieriella pusilla*, etc...

Parmi les levures à graisses, on distingue les levures vraies ascospores et les champignons levuriformes anascospores.

Les levures vraies blastosporées présentent une teneur non négligeable en lipides ; sur les vieilles cultures en aérobiose, on trouve des enclaves lipidiques cellulaires parfois énormes et faciles à mettre en évidence par le lactophénol-soudan III ; *Saccharomyces cerevisiae*, divers *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Pichia*, etc... ont un pouvoir lipogénétique relativement élevé.

C'est une levure vraie arthrosporee, *Endomycosis vernalis* (Ludwig 1896), Dekker, qui a le rendement en lipides le plus considérable ; c'est une levure azymatique à croissance lente et qui tend surtout à se faire en épaisseur.

Les levures anascospores comprennent trois genres essentiels du point de vue lipogénèse :

— le genre *Candida* (Berkhout 1923), Langeron et Guerra 1938, dont *Candida reukaufi* (ancien *Nectaromyces reukaufi*) à pouvoir zymatique tardif, discret, exclusif à l'égard du glucose, et *Candida lipolytica* azymatique. Cette levure, pourvue d'une lipase et d'une tyrosinase, se signale par son pouvoir réducteur puissant et, malgré sa dénomination, par son pouvoir lipiformateur marqué.

— le genre *Torulopsis* avec deux espèces principales : *Torulopsis lipofera* (den Dooren de Jong, 1926) azymatique ; *Torulopsis pulcherrima* (Lindner) Beijerinck, caractérisé macroscopiquement par la netteté des secteurs alternativement blancs et colorés, par un pigment brun rougeâtre diffusible et de nature mélanique, microscopiquement par des cellules *pulcherrima* à membrane épaisse avec double contour, renfermant des graisses et qui sont des

chlamydospores (Langeron et Guerra, 1941). *Torulopsis pulcherrima* ne présente qu'un pouvoir zymatique tardif, discret, exclusif à l'égard du glucose ;

— le genre *Rhodotorula* à pigments caroténoïdes, toujours azymatique ; des lipides péricapsulaires seraient le support des pigments caroténoïdes. Nillson, Enebo, Lundin et Myrbäck ont étudié la lipogénèse chez *Rhodotorula glutinis*.

Les caractères biologiques des Aspergillacées et des *Fusarium* ont été déjà indiqués.

Il n'y a pas d'étude d'ensemble de la lipogénèse chez les Hypocréales. *Claviceps purpurea* est à cet égard le genre le plus important, parce que Tanret en a isolé l'ergostérol et parce que Stoll en a entrepris une étude chimique systématique ; il est particulièrement riche en corps gras de toute espèce.

La lipogénèse a été moins étudiée chez les Basidiomycètes inconstamment et difficilement cultivables. Citons, parmi les Hémiangiocarpes, les Bolétales avec l'espèce *Boletus edulis* ; parmi les Angiocarpes, les Lycoperdacées. Souvent, les corps gras ont une localisation plus particulière chez les Autobasidiomycètes ; hyphes oléifères de certains Agarics, cystides et notamment gléocystides. Peut-être, ces localisations particulières sont-elles en rapport avec la protéogénèse intense et l'hydratation intense qui se manifestent lors de l'éclosion des carpophores. Récemment, on a signalé (P. Heim, 1946) que chez certaines Phalloïdées, il existe des chromoplastes véritables renfermant des cristaux de carotènes. Chez les Protobasidiomycètes, notamment chez les Urédinales, où l'on observe une accumulation de gouttelettes graisseuses et la présence de carotènes dans les urédospores et les téléutospores, le rôle physiologique des corps gras n'a pas été précisé.

Parmi les Adélomycètes, *Geotrichum candidum* (ancien *Oidium lactis*), qui est une Hyphomycétale thallosporée (Géotrichale, *sensu* Langeron, 1948), présente une croissance facile et rapide, avec un pouvoir lipogénétique relativement important, même en culture, sur des milieux pauvres tels que le petit lait. Il est azymatique. Fait remarquable, ce champignon se développe très bien en milieu liquide, sous une couche de pétrole lampant ou d'huile de paraffine qui paraissent stimuler sa croissance.

Kluyver et Custers établissent que le taux de consommation des sucres est très variable en aérobiose suivant les espèces de levures, mais est toujours inférieur à celui qui est obtenu au cours de la fermentation. A cet effet, ils utilisent des levures qui assimilent, mais ne fermenteraient pas le sucre étudié, ce qui élimine une fermentation associée.

Les résultats suivants sont obtenus au bout de 16 jours à 30° C. :

TABLEAU II (d'après KLUYVER et CUSTERS)

AVEC LE SACCHAROSE	QUANTITÉ INITIALE	POUVOIR RÉDUCTEUR DU MILIEU		QUANTITÉ RESTANTE	QUANTITÉ CONSOMMÉE EN MG.	CONSOMMATION EN %
		Initial	Après hydrolyse			
A. — Assimilations						
<i>Brettanomyces anomalus</i> ..	1458	20	1047	976	482	33,1
<i>Candida parakrusei</i>	1458	46	883	795	663	45,5
<i>Candida albicans</i> (souche 493)	1458	21	51	28	1430	98,1
B. — Fermentation						
<i>Saccharomyces cerevisiæ</i> ..	1458	15	18	3	1455	99,8

AVEC LE LACTOSE	QUANTITÉ INITIALE	POUVOIR RÉDUCTEUR DU MILIEU	QUANTITÉ RESTANTE	QUANTITÉ CONSOMMÉE	CONSOM- MATION EN %
A. — Assimilations					
<i>Saccharomyces cerevisiæ</i>	1468	1448	1428	20	1,4
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> ..	1468	1438	1418	30	2,1
B. — Fermentation					
<i>Saccharomyces fragilis</i>	1468	20	0	1448	100,0

TABLEAU III (d'après KLUYVER et CUSTERS)

GENRE ET ESPÈCE	QUANTITÉ INITIALE DE MAL- TOSE	POUVOIR RÉDUC- TEUR DU MILIEU EN MG DE MALTOSE	QUANTITÉ RESTANTE LE MAL- TOSE	QUANTITÉ DE MAL- TOSE CON- SOMMÉE EN MG	CONSUMATION DE MAL- TOSE EN %
A. — Assimilations					
<i>Brettanomyces anomalus</i> ...	1443	1450	1423	20	1,4
<i>Candida parakrusei</i>	1443	1358	1331	112	7,7
<i>Zygosaccharomyces marxianus</i>	1443	1464	1437	6	0,4
<i>Torulopsis dattila</i>	1443	856	829	614	42,6
<i>Torulopsis utilis</i>	1443	1434	1407	36	2,5
<i>Saccharomyces ludwigi</i> ..	1443	1444	1417	26	1,8
<i>Saccharomyces fragilis</i>	1443	1438	1411	32	2,2
<i>Torula cremoris</i>	1443	1464	1437	6	0,4
B. — Fermentation					
<i>Saccharomyces cerevisiæ</i> ...	1443	33	6	1437	99,6

Il y a donc bien diminution du taux de consommation des gly-
cides au cours de l'assimilation et cette diminution progresse dans
l'ordre général : saccharose, maltose, lactose.

Quel est le mécanisme de cette action de l'oxygène ? Clifton (1947)
étudie l'assimilation « oxydative » des hydrates de carbone par
Saccharomyces cerevisiæ :

TABLEAU IV (CLIFTON)

HYDRATES DE CARBONE (carbone = 0 mg. 72)	AUGMENTATION DU CARBONE CELLULAIRE	CARBONE DU GAZ CARBONIQUE	CARBONE TOTAL RÉCUPÉRÉ
Glycose.....	0,33	0,34	0,67
Fructose.....	0,43	0,27	0,70
Saccharose.....	0,46	0,29	0,75
Maltose.....	0,50	0,22	0,72

Il ressort de ces expériences que le taux d'augmentation du carbone cellulaire se produit dans l'ordre général : glycose, saccharose, maltose, en présence d'oxygène, tandis que la quantité de gaz carbonique dégagé varie en ordre inverse.

Or, nous verrons que le glycose est plus lipoformateur que le maltose, et que ce dernier favorise plutôt la formation de glyrides cellulaires.

Il sera démontré encore que *les facteurs venant régler et limiter l'assimilation de glyrides, régler et limiter la consommation d'oxygène sont la nature et l'intensité de certaines synthèses, au premier plan desquelles se place la lipogénèse*. On agit facilement sur la nature et l'intensité de ces synthèses en modifiant les conditions de milieu et de culture, ce qui permet en même temps d'en établir le mécanisme et le rôle physiologique (voir fig. 3, p. 319).

L'action de l'oxygène ne s'exerce pas que sur l'assimilation des glyrides. Elle s'exerce sur celle d'autres substances ternaires : alcools aldéhydes, acides organiques, et aussi sur l'assimilation de substances azotées ; il existe, à cet égard, de grandes différences avec ce qui est observé dans la vie anaérobie, différences qui seront mises en évidence dans les chapitres suivants. Les résultats obtenus

GRAPHIQUE 1

confirmeront la conception énoncée précédemment. Ils montreront surtout l'importance des processus de déshydrogénation et de transfert catalytique de l'hydrogène en aérobiose.

L'action de l'oxygène sur l'assimilation se traduit encore par des différences dans la consommation de l'oxygène. Selon Clifton, le

GRAPHIQUE 2

GR. 3. — (KLUYVER et CUSTERS, *Candida parakrusei*).

GR. 4. — En abscisse : concentration en sucre des solutions. En ordonnée : accroissement en glycides cellulaires dans 12 gr. 5 de levures placées dans ces solutions pendant 45 heures.

GR. 5. — En abscisse : concentration en sucre des solutions. En ordonnée : accroissement en glycides cellulaires dans 12 gr. 5 de levures placées dans ces solutions pendant 45 heures.

pourcentage d'oxygène consommé tend à croître dans l'ordre : maltose, saccharose, fructose, glycose.

Kluyver et Custers (1940) étudient, par la méthode manométrique de Warburg, la respiration de levures qui assimilent des disac-

GRAPHIQUE 6 (SHEDLEY, MACLEAN et HOFFERT)

GRAPHIQUE 7

charides qu'elles ne feraient pas fermenter. Ils obtiennent, avec *Candida parakrusei*, les résultats suivants (graphiques 1, 2 et 3) :

L'augmentation de la consommation d'oxygène dans l'ordre maltose, saccharose, glycose est générale et se vérifie avec d'autres levures (*Candida albicans*, *Brettanomyces anomalus*, etc...).

Ainsi, se trouve précisée l'action si remarquable de l'oxygène sur l'assimilation des glycides.

2. — Action sur la lipogénèse

Naegeli et Loew (1878-1879) découvrent l'action de l'oxygène sur la lipogénèse.

Smedley Mac Lean et Hoffert (1923) démontrent chez la levure que la lipogénèse augmente avec la pression en oxygène et la concentration en glycides (graphiques 6 et 7 : en abscisses, la concentration en sucre des solutions ; en ordonnées, l'accroissement des lipides dans 12 gr. 5 de levures placées dans ces solutions pendant 45 heures).

Selon ces mêmes auteurs, l'addition d'eau oxygénée au milieu de culture accroît la production de lipides.

L'augmentation de la tension en oxygène ne modifie par contre pas ou peu le taux des glycides cellulaires dans ces mêmes conditions (voir graphiques 6 et 7).

En effet, la tension en oxygène nécessaire à la formation du glycogène cellulaire est minime ; il est abondant chez les levures, constituant un voile muqueux récemment apparu à la surface de milieux liquides en tubes étroits.

Ainsi, la lipogénèse tend à augmenter elle aussi, dans l'ordre maltose, saccharose, glycose, surtout lorsque la tension en oxygène est importante.

3. — Action sur la production de pigments caroténoïdes

La pigmentation des Rhodotorulacées passe par trois stades : phase de constitution ;

pigmentation maxima, dont la persistance est liée au pouvoir antioxygène des lipides et des carotènes chez ces levures ;
décoloration.

Les Rhodotorulacées ont toujours des pigments caroténoïdes (Diddens et Lodder) et sont toujours azymatiques (Diddens et Lodder). Le rapprochement de ces deux faits a conduit à attribuer un rôle respiratoire à certains éléments d'insaponifiable et notamment à la partie caroténoïde de l'insaponifiable X.

J. Méry démontre directement l'influence de l'oxygène sur la formation de pigments caroténoïdes ; ils ne peuvent se former en son

absence ; leur production et leur persistance augmentent dans l'ordre général : maltose, saccharose, glycose.

4. — Action sur la production de pigments et d'antibiotiques

Si on ensemence *Penicillium chrysogenum* sur gélose inclinée et sous huile de paraffine, il ne produit ni pigment, ni pigment diffusible. Le rôle des pigments dans la respiration sera établi plus longuement, en confrontant circonstances favorisant la lipogénèse et circonstances favorisant la production de pigments mélaniques (voir tableau XLIV).

L'augmentation de la pression d'oxygène favorise la production de pénicilline, comme elle favorise la production de lipides. Or, la pénicilline, comme les lipides, est autoxydable. Dans la pénicilline F ou dihydropénicilline, le radical acyle est représenté par celui de l'acide caproïque.

FIG. 2. — Expérience de Denis Cochin (*in* MANIL, 1947).

La boule I est ensemencée d'une trace de levure.

Les orifices O et O' scellés après élimination de l'air.

Quand il y a fermentation dans la boule I, on ensemence par un mouvement de balancement la boule II ; puis, lorsqu'il y a fermentation, la boule III.

A partir de la boule III, aucune fermentation ne se déclare.

5. — Action sur la production d'alcool éthylique

1° Au cours de la fermentation alcoolique

On doit distinguer *in vivo* deux ordres d'action distincts :

— l'oxygène est nécessaire, à l'état de traces, pour permettre la multiplication cellulaire et le renouvellement des catalyseurs cellulaires ;

— une tension en oxygène excessive inhibe plus ou moins rapidement et complètement la fermentation alcoolique.

Pasteur recherche le poids de sucre consommé par rapport au poids de levure formée (pouvoir ferment) :

TABLEAU V (PASTEUR)

CONDITIONS DE CULTURE	CONCENTR. EN SUCRE	VOLUME DE LA SOL.	POIDS DE SUCRE	SUCRE P CONSOMMÉ	LEVURE p FORMÉE	POUVOIR FERMENT P/p
Aération intense (3 jours)	5 ‰	200 »	10 g.	10 g.	0 g. 44	23
Aération modérée (9 jours)	»	3000 »	150 g.	150 g.	1 g. 97	76
Anaérobiose (9 jours) ..	»	»	»	145 g. 5	1 g. 37	105
Anaérobiose absolue (3 mois)	»	»	»	45 g.	0 g. 255	176

Il démontre que le pouvoir ferment s'élève lorsque la tension en oxygène tend à être nulle et qu'en anaérobiose complète et prolongée, la multiplication cellulaire s'arrête. La fermentation languissante, elle-même, cesse ; en introduisant des traces d'oxygène dans le milieu, il la fait repartir.

Denys Cochin (1881, *in* Manil 1947), par une expérience aussi élégante que simple, établit l'inhibition complète de la multiplication cellulaire en anaérobiose absolue (fig. 2).

L'oxygène ne constitue pas qu'un « aliment » respiratoire, son rôle catalytique se déduit des expériences de Denys Cochin et d'H.-T. Brown (1914). On a confronté, comme l'a exposé Béraud (1945), les quantités minima d'oxygène nécessaires à la multiplication cellulaire et celles qui seraient nécessaires à la respiration de la levure pendant le même laps de temps et qui se trouvent être considérablement supérieures ; ainsi, se trouve confirmée, chiffres en mains, une action d'ordre catalytique de l'oxygène sur la protéogénèse et sur la multiplication cellulaire.

D'autre part, on appelle réaction de ou effet Pasteur l'action inhibitrice de l'oxygène sur la zymase alcoolique, action établie *in vitro* et *in vivo*.

In vivo, on peut étudier l'action de l'oxygène suivant plusieurs méthodes :

— la première n'est autre que celle utilisée par Chevillard, Hamon, Mayer et Plantefol (1930), pour l'étude de la respiration des tissus végétaux ; on diminue progressivement la tension en oxy-

gène, et, pour chacune de ses valeurs, on inscrit la quantité d'oxygène consommé et de gaz carbonique dégagé.

— la deuxième méthode étudie inversement l'action d'une tension en oxygène progressivement croissante sur la production d'alcool. L'emploi de cette seconde méthode ne devrait s'appliquer qu'aux réactions de fermentation dues à des organismes anaérobies. Or, les champignons, et, semble-t-il, tous les organismes producteurs d'alcool éthylique, sont aérobies.

Par la méthode manométrique de Warburg, on mesure, au cours d'une oxybiose ou d'une anoxybiose *de courte durée*, leur action sur la fermentation ; ainsi, se trouvent écartées les difficultés inhérentes à l'application des précédentes méthodes.

La technique micromanométrique de Warburg est applicable non seulement aux organismes vivants, mais encore à l'étude des réactions enzymatiques. On l'applique aux organismes vivants suivant deux procédés différents :

— ou bien on les met directement en contact, dans les fioles, avec le milieu convenablement tamponné dont on veut étudier l'action ;

— ou bien on les entraîne préalablement sur un tel milieu et on les place dans une solution sucrée standard sans azote et convenablement tamponnée.

On doit tenir compte pour l'interprétation des résultats :

— du passé immédiat de la levure ;

— de la composition du mélange-tampon ; celle-ci n'est pas indifférente sur les réactions observées, comme l'ont indiqué Nickerson et Chadwyck ; il faut tenir compte du « complexe organisme-milieu » (E. Rabaud), même au cours des actions de courte durée.

Finalement, la meilleure interprétation est celle qui s'appuie sur les résultats obtenus par différentes méthodes, *sans négliger la simple observation de ce qui peut se passer dans un tube à essai*.

On constate, en effet, que bien des levures zymatiques font fermenter un liquide sucré en couche mince et en présence d'air ; c'est le cas de levures hautes ou de levures produisant un voile à la surface de milieux liquides, par exemple *Candida krusei*, ce qui n'empêche nullement de telles levures d'être fréquemment des ferments puissants.

Istin (1947) étudie, par un procédé spécial, la fermentation produite par une levure du vin appartenant au genre *Saccharomyces*, en présence et en l'absence d'air ; ce procédé lui permet de doser l'alcool au cours d'une fermentation en présence d'air, alcool qui se serait autrement évaporé en partie.

TABLEAU VI (d'après ISTIN)

	EN AÉROBIOSE	EN ANAÉROBIOSE
Sucre initial	637	637
Alcool dissous	8	428
Alcool dans l'air	311	
Sucre résiduel	63	122
Sucre manquant	195	87

La quantité d'alcool produite en présence d'air n'est donc pas négligeable.

Meyerhof (1925), par la technique micromanométrique, démontre que l'effet Pasteur est plus intense à l'égard de la levure de boulangerie qu'à l'égard de la levure de brasserie.

TABLEAU VII (AUBEL, d'après MEYERHOF)

	QO ₂ SUR TAMPON SEUL	SUR TAMPON + 5% DE GLUCOSE		
		QO ₂	Q _{CO₂} ^{N₂}	Q _{CO₂} ^{O₂}
L; de boul.....	10	90 à 100	250 à 300	60 à 100
L. de brass.....	10	20	250 à 300	200

(chiffres moyens donnés par E. Aubel)

Custers (1940) confronte des résultats obtenus avec *Brettanomyces claussenii* et avec *Saccharomyces cerevisiae* (souche Delft I) ; les différences dans la production aérobie de gaz carbonique, qui l'emporte sur la production anaérobie de ce gaz chez *Brettanomyces claussenii*, sont inverses de celles observées chez *Saccharomyces cerevisiae*. Custers considère comme négative ou inverse la réaction de Pasteur avec *Brettanomyces claussenii*.

On constate que la levure de brasserie tend à se comporter en aérobiose comme un organisme moins aérobie, on dira à potentiel d'oxydo-réduction cellulaire plus bas que la levure de boulangerie.

De même, *Brettanomyces claussenii* a un potentiel d'oxydo-réduc-

TABLEAU VIII (CUSTERS)

Milieu : 2 p. 100 de glucose et phosphates, pH 4, 5, 30° C.

TEMPS EN HEURES	<i>Brettanomyces clausenii</i>			<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
	Q O ₂	Q O ₂ CO ₂	Q N ₂ CO ₂	Q O ₂	Q O ₂ CO ₂	Q N ₂ CO ₂
1.....	37,8	18,6	3,0	54,6	55,0	129,7
2.....	39,2	9,6	3,4	101,8	101,8	132,2
3.....	39,9	7,4	3,4	48,6	115,4	140,0

tion cellulaire plus bas que *Saccharomyces cerevisiae* (souche Delft I) ; d'autres expériences de Custers établissent plus complètement ce fait.

Donc, *in vivo*, la réaction de Pasteur, considérée comme action inhibitrice de l'oxygène sur la zymase alcoolique, est variable suivant les organismes considérés, si on s'en tient aux valeurs prises par la production aérobie de gaz carbonique. Cette donnée n'est pas suffisante, car la production aérobie de gaz carbonique correspond aussi à une dégradation plus complète du substrat et à d'autres synthèses que celle d'alcool éthylique, notamment à la lipogénèse constante en aérobiose (voir tableau XLI). Seul, le dosage de l'alcool, comme l'a fait Istin, peut renseigner sur l'importance de la réaction de Pasteur.

Quoi qu'il en soit, plusieurs théories tentent d'expliquer, dans son mécanisme, la réaction de Pasteur :

— suivant une théorie, due à Lipmann sous sa forme initiale, l'agent inhibiteur est l'oxygène moléculaire ou activé, agissant par l'intermédiaire ou non d'une substance oxydable, sur la zymase alcoolique ;

— une autre théorie, plus ancienne, considère, en se basant sur le fait que les stades initiaux du catabolisme des hexoses seraient les mêmes en aéro- et en anaérobiose, que le catabolisme plus complet en aérobiose suffit à expliquer l'effet Pasteur ; mais le métabolisme aérobie se distingue non simplement par un catabolisme plus complet, mais par des synthèses beaucoup plus diverses et poussées ;

— Meyerhof a pressenti l'importance du rôle de ces synthèses, en étendant sa célèbre théorie de la resynthèse du glycogène à partir de l'acide lactique, au cours de la phase aérobie de la contrac-

tion musculaire, au cas des levures. Selon Meyerhof (*in* Auel), il y aurait synthèse de glycérides à partir de l'alcool en aérobose, et la réaction de Pasteur s'expliquerait chimiquement ainsi qu'il suit :

GRAPHIQUE 8

D'où Q.R. = $2/6 = 0,33$ et Meyerhof trouve expérimentalement 0.35. Mais, en fait, à l'utilisation de l'alcool en aérobose, correspond une série de synthèses, dont l'une des plus importantes est celle des lipides, surtout s'il existe un certain déséquilibre azoté.

Une quatrième et dernière conception repose sur une notion fondamentale : certains enzymes (comme certaines hormones, Wurmser et ses collaborateurs) ne sont activés que dans un état d'oxydo-réduction déterminé. Des groupements thiol et disulfure existent chez divers enzymes ; d'autre part, le glutathion (Hopkins et ses collaborateurs) est abondant dans les levures (0 gr. 6 à 1 gr. pour 100 gr. du poids sec) ; le glutathion à l'état oxydé ou à l'état réduit interviendrait sur l'état d'oxydo-réduction d'un système enzyma-

tique qui présente un groupement thiol ou disulfure soit en l'inhibant, soit en l'activant ; c'est le cas de l'alcool déshydrase. Classiquement, le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire s'abaisserait aux environs de $-0,250$ en anaérobiose (Aubel et Lévy), au voisinage du potentiel de demi-réduction établi par Wurmser et Filitti-Wurmser

GRAPHIQUES 9 ET 10. — (D'après KLUYVER et CUSTERS)
Fermentation anaérobie du saccharose : 1) chez *Candida albicans* ;
2) chez *Candida parakrusei*.

($E_o = -0,200$ à pH 7 et à 25°C .) du système acétaldéhyde $\rightleftharpoons$ alcool, ainsi l'effet Pasteur s'expliquerait par une inhibition enzymatique plus ou moins rapide, rapidité qui dépend de la proportion et de la nature d'autres catalyseurs possédant un groupement thiol ou disulfure. Des expériences de Quastel et Wheatly (1932), de Hoogerheide (1935) et de Kluyver et Custers (1940), il résulte que la cystéine inhiberait la réaction de Pasteur ; Kluyver et Custers pensent même démontrer par les graphiques ci-dessous

que *Torulopsis dattila*, considéré comme incapable de faire fermenter le maltose, fait fermenter en réalité ce sucre (1).

2° Au cours de la respiration intra-moléculaire

Observée chez des champignons filamenteux azymatiques et au cours de leur développement normal en aérobiose, la respiration intra-moléculaire est toujours associée à la lipogénèse constante en aérobiose (voir page 269).

Jacquot et Raveux (1944) confrontent la lipogénèse et la production d'alcool qui sont concomitantes chez *Sterigmatocystis nigra* (tableau IX).

Le rapport mycélium sec/sucre disparu, en moyenne de 0,33, s'abaisse à 0,23 lorsqu'il y a production d'alcool.

D'autre part, cette production croît avec la concentration en glycérides, comme la lipogénèse elle-même, sans qu'il y ait proportionnalité stricte avec celle-ci.

Enfin, la production d'alcool peut être intense : 25 mgr. par gramme de mycélium sec pour certaines souches.

Par insufflation d'air stérile dans le sein d'un milieu de culture liquide, on diminue ou on supprime la production d'alcool et on augmente celle de lipides ; c'est ce que met en évidence un brevet allemand de Henkel : si on cultive *Rhizopus oligosporus* sur un milieu renfermant 6 p. 100 de sucre, 5 p. 100 de moût de bière, l'azote, les phosphates et autres éléments nécessaires, si on soumet cette culture à une aération intensive, la production d'alcool reste inférieure à 1 p. 100 et on peut augmenter le rendement en graisse brute jusqu'à 2,28 p. 100 ; le pH s'est alors abaissé de 4,03 à 3,42.

Conclusions à ce chapitre

L'oxygène exerce une action d'ordre catalytique sur la forme d'activité cellulaire la plus importante : la protéogénèse et la multiplication cellulaire.

Tandis que la respiration s'établit aussitôt en présence d'oxygène chez les champignons, qui sont sans exception des organismes aérobies, la lipogénèse, la production de carotènes, de pigments fixes ou

(1) Custers (1940) considère que chez *Brettanomyces claussenii* l'effet Pasteur est négatif, parce que la production aérobie de gaz carbonique dépasse sa production anaérobie. Il faut tenir compte :

1° du fait que les deux phénomènes ne sont pas équivalents, car ils ne correspondent pas au même potentiel d'oxydo-réduction cellulaire ;

2° de la possibilité que certaines synthèses (de même qu'il existe des synthèses avec carboxylation) peuvent s'accompagner de décarboxylation.

Nous pensons donc que la réaction de Pasteur ne peut être mesurée que par la diminution de la production d'alcool.

TABLEAU IX

Formation concomitante de lipides et d'alcool par *Sterigmatocystis nigra*.
(d'après Jacquot et Raveux)

CONCENTRATION EN GLYCOSE P. 100	POIDS SEC DES MYCÉ- LIUM, GR.	LIPIDES TOTAUX, MG.	ALCOOL FORMÉ ET AUTRES PRODUITS VOLATILS EXPRIMÉS EN ALCOOL	LIPIDES EN MG. PAR GR. DE MYCÉ- LIUM SEC	SOURCE D'AZOTE, DURÉE
3 p. 100.....	1,87	157	0	84,5	0,5 p. 100 de Sulfate d'Ammonium 98 heures
15 p. 100.....	3,57	527	317	147	
22 p. 100.....	3,97	543	516	137	
30 p. 100.....	3,51	334	331	95	
40 p. 100.....	3,51	456	469	138	
3 p. 100.....	1,75	163	0	93	0,5 p. 100 de Sulfate d'Ammonium 6 jours
15 p. 100.....	4,13	582	458	141	
22 p. 100.....	4,06	457	395	112	
30 p. 100.....	4,05	233	376	57	
40 p. 100.....	3,36	229	482	68	
3 p. 100.....	1,73	178	0	102	0,3 p. 100 de Nitrate d'Ammonium 98 heures
15 p. 100.....	3,65	729	790	200	
22 p. 100.....	5,48	1.405	780	257	
30 p. 100.....	2,74	190	685	69	
40 p. 100.....	1,53	122	388	79	
3 p. 100.....	1,55	163	0	105	0,83 p. 100 de Nitrate de Potassium 98 heures
15 p. 100.....	4,78	985	722	206	
22 p. 100.....	3,33	664	656	199	
30 p. 100.....	1,42	190	420	133	

diffusibles, de pénicilline apparaissent plutôt comme une réaction à une action de plus ou moins longue durée de l'oxygène.

En présence d'oxygène, le taux de consommation des glycides, la respiration, la lipogénèse augmentent dans le même ordre général : maltose, saccharose, glycose.

Une augmentation de la tension en oxygène est l'une des circonstances qui tend à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire ; elle accroît constamment la lipogénèse.

Une diminution de la tension en oxygène favorise, au contraire, la production d'alcool qui paraît ainsi se substituer plutôt à la lipogénèse qu'à la formation de glycides cellulaires.

IV. — ACTION DES GLYCIDES

1. — Glycides et production de lipides

On peut se demander si les lipides peuvent se former réellement aux dépens des glycides. Terroine et Bonnet le démontrent sur *Sterigmatocystis nigra* : il faut 172 calories de glycose pour édifier 100 calories de mycélium contenant 6 calories, 33 d'acides gras ; 184 calories de glycose pour édifier 100 calories de mycélium contenant 17 calories 02 d'acides gras, par conséquent 12 calories de glycose ont été employées pour faire 10 calories 69 d'acides gras, d'où rendement $10,69/12 = 0,89$. Donc, il y a toute probabilité pour la synthèse de lipides à partir de glycides ou plus exactement de certains produits intermédiaires de leur catabolisme.

La formation de lipides aux dépens des glycides est démontrée par plusieurs ordres de faits :

- la lipogénèse augmente avec la concentration en glycides ;
- l'intensité de la lipogénèse varie suivant les sucres employés.

1° L'action d'une augmentation de la concentration en glycides sur un accroissement de la lipogénèse est péremptoirement démontrée par les expériences de Smedley Mac Lean et Hoffert (1923), de Jacquot et Raveux (1943) (voir tableau IX et graphiques 6 et 7).

Terroine et Bonnet (1927) obtiennent avec *Sterigmatocystis nigra* les résultats suivants :

TABLEAU X (TERROINE et BONNET)

Concentration en glycides....	3 p. 100	10 p. 100	20 p. 100	40 p. 100
Matières protéiques.....	34,47	34,37	34,37	35,06
Acides gras totaux.....	3,1	9,0	10,5	12,32
Insaponifiable.....	0,31	1,0	1,2	1,16
Cendres.....	3,0	3,0	3,0	
Cellulose par différence.....	59,93	52,6	51,1	48,96

2° Le pouvoir lipoformateur des sucres dépend de leur nature, mais il relève aussi d'autres facteurs qui sont notamment :

- leur assimilabilité ;
- la tension en oxygène ;
- la nature de la source azotée ;

- l'existence d'un déséquilibre azoté ;
- la réaction du milieu.

Quel est le mécanisme de la lipogénèse aux dépens des glycérides ? Divers expérimentateurs (Gerber, Terroine et ses collaborateurs, etc...) ont trouvé un quotient respiratoire nettement accru au cours de la lipogénèse aux dépens des glycérides, qu'ils soient extrinsèques ou accumulés dans les organismes ; *ce fait est général*, puisqu'il se retrouve aussi bien dans la lipogénèse, au cours de la maturation des olives (Gerber) ou des graines de ricin, dans la lipogénèse chez les animaux ou chez les champignons. Il y aurait deux processus associés en part variable :

- oxydation du glucose suivant la formule globale :

— conversion de glycérides en glycérides par une série de déshydrogénations et de décarboxylations enzymatiques, ce qu'exprime notamment la forme de Magnus-Lévy (1925) :

27 molécules de glucose $\rightarrow$ 2 molécules de stéaro-oléo-palmitine.

L'association de ces deux processus respiratoire et lipogénétique explique un Q.R. supérieur à l'unité (E. Lebreton).

Il est encore plus difficile de fournir un bilan de la lipogénèse que de la fermentation alcoolique ; les données à ce sujet varient suivant les organismes fungiques, les procédés de culture, les techniques d'extraction et de dosage, les auteurs.

Au point de vue chimique, on rencontre constamment les acides oléique, linoléique, stéarique et palmitique. Ward et Jamieson ont individualisé l'acide tétracosanique chez *Penicillium javanicum*. La proportion d'acides gras libres par rapport aux graisses neutres est variable. Les acides gras sont d'autant plus saturés que formés à une température plus élevée (Terroine, Bonnet, Kopp et Véchet, 1927).

Au point de vue physique, il s'agit de graisses fluides ou demi-fluides de coloration jaune, orangée ou rougeâtre (ce qui, selon Damm, indiquerait la présence de pigments caroténoïdes). Elles ranciraient vite. Les différents indices (d'iode, de saponification, etc...) sont variables, de même que l'on note une proportion différente d'insaponifiable total, suivant les origines et les milieux de culture.

Composition centésimale de la fraction lipidique soluble dans l'acétone (d'après PECK)

FRACTION	Blastomyces dermatitidis	Candida albicans	Geotrichoides sp.	Saccharomyces cerevisiae	Penicillium aurantiobrunneum	Penicillium javanicum	Aspergillus sydowii	Aspergillus niger
Soluble dans l'eau.....	4	6,9	4,4	7	10,1	6,4	11,0	20,5
Insaponifiable.....	8	13,6	9,4	45,6	4,5	2,0	8,2	12
Acides gras.....	88	79,5	86,2	47,4	15,4	91,6	81,0	67,5
Acides saturés.....	14,5	20,6	7,8	9,5	14,0	30,8	24,9	15,0
» non saturés.....	73,5	58,9	78,4	37,9	71,4	60,8	56,1	52,5
Acide palmitique.....	9,7	15,5	5,0	13,5	8,6	21,4	7,1	7,1
» stéarique.....	4,8	5,1	2,8	4,5	5,3	8,6	11,0	0,9
» tétracosanique.....	Présent				Traces	0,8	0,9	1,8
» oléique.....	55,0	48,6	36,1	25,2	40,2	31,7	29,6	21,5
» linoléique.....	18,5	10,3	42,3	10,7	31,2	29,1	16,3	23,9
Glycérol.....	Présent	Présent	Présent	5,9	Présent	Présent	Présent	6,2
Stérols.....	4	7	Présent	Présent	1,9	Présent	5,4	1,4

Composition centésimale de la fraction phospholipidique

Soluble dans l'eau.....	32	37	31	38
Insaponifiable.....	3	25	3	0,4
Acides gras.....	65	38	66	62
» saturés.....	12		10	9
Acide palmitique.....	8		5	4,5
» stéarique.....	4		5	4,5
Acides non saturés.....	53		56	53
Acide oléique.....	49		51	51
» linoléique.....	4		Traces	2
» glycérophosphorique.....	10		Présent	Présent
Choline.....	Présent	Non décelé	Présent	Présent
Ethanolamine.....	Présent	Non décelé	Présent	Présent
Hydrates de carbone.....		Analogue à fraction acétonique	Présent	

Constantes se rapportant à la fraction lipidique soluble dans l'acétone

Indice d'iode.....	106,6	81,0	128,0	61,3	84,0	114,4	95,1
» d'acide.....	45,3	96,3	105,0	28,6	10,8	43,4	71,2
» de saponification.....	191,5	183,9	170,0	109,6	191,0	169,5	169,0
» d'éther.....	146,2	87,6	73,0		180,4	126,1	97,8
» de Reichert Meissel.....	2,7	2		2,3	0,3	0,5	1,0
Fraction insaponifiable.....	8,0	13,6	9,4	45,6	2,0	8,2	12,0
Auteurs des dosages.....	Peck et Hauser	Peck et Hauser	Turpeinev	Newman M. S. et R. J. Anderson	Ward et Jamieson	Strong et Peterson	Bernhaver et Posselt

TABLEAU XI
Graisses de *Mucor Mucedo* (BLINC et BOTEC)

	FRACTION SOLUBLE DANS LES SOLVANTS LÉGERS	FRACTION SOLUBLE DANS LES SOLVANTS LOURDS
Indice acide	107,7	96,7
Indice de saponification	190,8	192,6
Indice éther	83,1	95,9
Indice d'iode	125,6	
Indice de réfraction à 40° C.	1,4695	
Réfraction moléculaire.	67,5	
Insaponifiable	6,1	

2. — Glycides et production d'alcool éthylique

a. — Glycides et fermentation alcoolique

Indiquons les caractères biologiques essentiels de la fermentation alcoolique par les levures. On est peu renseigné sur la possibilité d'utilisation de certains glycides complexes en anaérobiose. Sont seuls fermentescibles les sucres de la série dite naturelle ou série *d*. Certains *trioses* : glycérose ou aldéhyde glycérique, dioxycétone (Gabriel Bertrand) sont directement fermentescibles ; sous leur forme phosphorylée, ce sont des intermédiaires reconnus du catabolisme des hexoses (Meyerhof). Les *pentoses* sont infermentescibles. Parmi les *hexoses*, glycose, mannose et lévulose ou *d* fructose ont une forme énolique commune et si l'un de ces trois sucres fermente, les deux autres pourront aussi fermenter (Fischer et Thierfelder, Kluyver) ; toute levure zymatique fait fermenter obligatoirement le glycose (Kluyver) ; le galactose est très inconstamment fermenté, fermentation tardive et discrète. Certaines nonnososes sont fermentescibles, par exemple le mannonnonnose. Comme disaccharides, le saccharose non réducteur, le maltose et le lactose réducteurs peuvent être hydrolysés en anaérobiose. Selon Kluyver, la fermentation du lactose et du maltose par une même levure n'existe pas ; mais la fermentation du lactose est exceptionnelle, elle est presque caractéristique de *Saccharomyces fragilis* ou *Candida pseudo-tropicalis*. D'autre part, *Brettanomyces clauseni* ferait fermenter : lactose et maltose, faisant ainsi exception au principe de Kluyver et Stelling-Dekker. Un triholoside, non réducteur, le raffinose, est

dédoublé par les levures hautes en glycose et mélibiose ; les levures basses hydrolysent en outre le mélibiose.

L'acide pyruvique que l'on capte, en additionnant de craie un moût en fermentation, est susceptible d'être décarboxylé en anaérobiose avec formation d'acétaldéhyde. La formation d'acétaldéhyde est encore mise en évidence en le captant par le sulfite ou le dimédon et on voit diminuer proportionnellement la production d'alcool. Les polyols (mannitol, glycérol, etc...) sont infermentescibles et la fermentation alcoolique vraie ne peut se produire qu'aux dépens de sucres.

Autre caractère biologique important : l'observation courante montre qu'il y a de grandes différences dans l'apparition et la vitesse de fermentation des différents sucres ; ces différences tiennent à la nature propre des sucres : le glycose est plus vite fermentescible que le saccharose ou le maltose, ces derniers plus vite que le raffinose ; tout se passe comme si l'hydrolyse des polysaccharides devait être totale ou quasi-totale, avant que ne se déclanche la fermentation proprement dite, comme s'il y avait inhibition réciproque d'actions diastasiques permettant leur régulation. Par ailleurs, la vitesse de déclenchement des actions fermentatives dépend du champignon, de son passé, de la réaction du milieu, de sa teneur en phosphates, oligo-éléments, facteurs de croissance ; il faut tenir compte aussi des traces d'air présentes dans le milieu ou que l'on apporte en ensemençant et qui ont une action initiale considérable sur le facteur multiplication cellulaire.

L'augmentation de la concentration en glycidés, le taux de l'azote restant constant, n'affecterait pas sensiblement la marche de la fermentation pour des concentrations variant de 0,5 à 12 p. 100.

TABLEAU XII (d'après CUSTERS, 1940)

Fermentation du glucose par *Brettanomyces claussenii* dans un milieu renfermant 0 gr. 50 de sulfate d'ammonium, 2 p. 100 de craie, 10 p. 100 d'autolysat de levure, à 30° C.

	GRAMMES		GRAMMES
Glucose fourni.....	7,373	Glucose fourni.....	14,630
Glucose non fermenté..	0,133	Glucose non fermenté..	0,220
Glucose fermenté.....	7,240	Glucose fermenté.....	14,410
Gaz carbonique.....	2,788	Gaz carbonique.....	6,354
Alcool éthylique.....	3,402	Alcool éthylique	7,050

Il existe de grandes différences dans l'intensité du pouvoir fermentatif suivant les levures ; certaines sont des ferments puissants, par exemple *Saccharomyces uvarum*, *Torulopsis utilis*, *Candida krusei*, d'autres ont un pouvoir zymatique tardif et léger. Il peut en être ainsi à l'égard d'un sucre déterminé, qu'une levure zymatique assimile. Par exemple, l'emploi des techniques courantes montre que *Candida albicans* ne fait fermenter que le glycose et le maltose et qu'elle assimile en outre le saccharose. Kluyver et Custers démontrent, par l'emploi de la méthode manométrique de Warburg, que cette levure fait également fermenter ce sucre. De même, *Candida parakrusei* (voir graphique 9) fait fermenter en réalité le saccharose.

Indiquons le résultats de quelques bilans fermentaires :

TABLEAU XIII

	PASTEUR	CLAUDON ET MORIN (in MANIL 1947)	SMIT (in COLIN 1945)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> p. 100 de saccharose	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Zymosarcina ventriculi</i>
Gaz carbonique	49,2		47,0
Alcool éthylique.....	51,5	50,615	43,7
Glycérol.....	3,4	2,158	
Ac. succinique.....	0,65	0,452	
Ac. acétique.....		0,205	6,6
Glycol isobutylique..		0,158	
Alcool isoamylique..		0,051	
Alcool propylique normal..		0,002	
Alcool cœnanthique..		0,002	
Alcool isobutylique..		0,0015	
Aldéhydes.....		Traces	
Furfurol.....		Traces	
Acétylméthylcarbinol			1,7
Ac. formique.....			0,8
Hydrogène.....			0,46
Matières grasses et cellulose.....	1,30		

La fermentation alcoolique présente classiquement cinq formes décrites dans tous les manuels de biochimie. Genevois (in Colin,

1947) considère toute fermentation alcoolique par les levures comme un mélange à proportions variables, suivant les conditions de pH et de rH, de six types de fermentation : alcoolique selon Gay-Lussac, lactique, glycéro-pyruvique, glycéro-aldéhydique, glycéro-acéto-alcoolique, glycéro-succinique. Il est intéressant de noter que les proportions de glycérol et d'acide acétique croissent avec le pH, mais aussi le butylène-glycol, alors que l'acide succinique diminue ; ces faits ont été constatés, en employant des levures elliptiques, par Genevois et ses collaborateurs, ce qui a permis à ces auteurs d'en établir une classification d'après l'étude des produits secondaires de la fermentation :

— levures succinogènes ac. acétique/ac. succin. < 3,2
 — levures équilibrées... 3,2 < ac. acétique/ac. succin. < 5,6
 — levures acétogènes .. 3,7 < ac. acétique/ac. succin. < 6,6

chacun de ces groupes pouvant être glycologène ou non suivant que 1.000 (butylène-glycol/glycérol) > 70 ou < 70.

Nous verrons par la suite quel est le rôle de certaines de ces substances et à quelle nécessité physiologique répond leur excrétion.

b. — Glycides et respiration intramoléculaire

Elle peut se produire aux dépens des glycides précédents, mais également aux dépens de glycides complexes et de pentoses.

Les pentoses sont une source de lipides chez les *Fusarium* (Nietnammer) et les Aspergillacées, de même qu'ils sont alcool-formateurs chez ces champignons.

Dans le cas de production d'alcool à partir des pentoses (xylose et arabinose), il y aurait formation transitoire d'acétaldéhyde et le rendement final serait d'une demi-molécule d'alcool, au lieu d'une entière pour une molécule de gaz carbonique dégagé.

TABLEAU XIV (d'après RIPPEL et WIANGKE)

SUCRE UTILISÉ FN GR.	ACÉTALDÉHYDE FORMÉ, MG.	RAPPORT ACÉTALDÉHYDE SUCRE CONSOMMÉ	ALCOOL ÉTHYL. FORMÉ, MG.	RAPPORT ALCOOL ÉTHYL. SUCRE CONSOMMÉ
1,73.....	2,6	0,15	351,4	20,3
2,01.....	4,6	0,23	621,1	30,9

Toutefois, il n'y a pas de relation évidente entre la formation d'alcool et la production d'acétaldéhyde. Rippel et Wiangke (1941) cultivent *Sterigmatocystis nigra*, sur un milieu contenant du sulfite de calcium.

Un autre caractère, qui oppose cette production d'alcool à la fermentation alcoolique vraie, est que le rendement en alcool, qui peut atteindre 25 à 33 % du sucre consommé (Kostychev et Afanasstewa), reste toujours inférieur au rendement obtenu dans la fermentation alcoolique vraie.

3. — Action sur des métabolismes particuliers

Lorsque la tension en oxygène est modérée, l'assimilation des glycides entraîne la formation de glycogène ; par exemple, si on prélève des fragments de voile développés à la surface de milieux de culture liquides ensemencés avec des levures, on constate que les cellules, régulièrement arrondies ou ovalaires et pourvues d'une capsule énorme par lesquelles elles sont coalescentes, sont bourrées de glycogène et dépourvues d'enclaves lipidiques.

On a isolé du tréhalose de levures (Tanret) et de *Sterigmatocystis nigra* (Bourquelot).

La formation du mannitol chez de nombreux champignons a fait l'objet de recherches de Bourquelot, de Frèrejacque, de Raistrick et Smith, ces derniers auteurs ayant démontré chez *Sterigmatocystis nigra* que le mannitol pourrait se former à partir des sources de glycides les plus variées, y compris les pentoses.

Il est donc difficile de déduire de la disparition d'une substance et de la constitution d'une autre que l'une se forme aux dépens de l'autre.

L'alcool éthylique et les lipides se forment bien aux dépens des glycides. Mais il est beaucoup plus difficile de l'admettre pour les pigments, bien que leur formation soit influencée par la présence de glycides, leur nature et leur concentration.

Par exemple, s'il est vraisemblable de concevoir que les carotènes, comme les lipides, puissent se former aux dépens de glycides, il est bien plus difficile d'admettre que les mélanines se forment aux dépens de glycides ; cependant, carotènes et pigments mélaniques apparaissent tous deux dans des circonstances similaires, qui provoquent également la production de lipides.

Conclusions à ce chapitre

Alcool éthylique et lipides se forment également aux dépens de glycides.

Quelles sont les circonstances rendant prédominante l'une ou l'autre forme de synthèse ? L'action de l'oxygène a été précisée, celle d'autres facteurs sera établie ultérieurement.

Mais déjà, il apparaît que ces synthèses font équilibre au catabolisme des glycérides, de même que celles du glycogène. La synthèse de l'alcool y fait équilibre lorsque la tension en oxygène est très réduite, celle du glycogène lorsqu'elle est modérée, celle des lipides toujours en aérobose, mais plus ou moins intensément, jusqu'à devenir exclusive parfois.

V. — ACTION DES ALCOOLS

1. — Les monols

L'alcool éthylique produit au cours de la fermentation a le caractère précis d'une substance d'excrétion. Sa signification physiologique est analogue à celle de pigments diffusibles au cours de la respiration intra-moléculaire. L'alcool éthylique ne constitue jamais un élément intermédiaire au cours du métabolisme purement aérobie ; cependant, il peut être assimilable *sans qu'il y ait un lien entre cette possibilité et l'existence d'un pouvoir fermentatif* ; la croissance, dans les milieux à l'alcool, est généralement lente et peu importante ; la concentration maxima en alcool éthylique supportée est de l'ordre de 6 à 8 % chez les moisissures (Raulin 1870, Ellis et Krause) ; ces derniers auteurs constatent sur *Penicillium carmino-violaceum* que plus la concentration en sucre d'un milieu contenant de l'alcool est élevée, moins l'effet toxique de l'alcool se fait sentir.

Les alcools propylique, butylique et amylique ont une action généralement inhibitrice ; Ellis et Krause font remarquer que *Penicillium citrinum* supporte encore une concentration à 3 % d'alcool propylique ; quant à l'alcool méthylique, son effet toxique se fait rapidement sentir, peut-être par formation de formaldéhyde ; il peut cependant être toléré à des concentrations de 1, 2 et même 3 par certains Pénicillés (Ellis et Krause).

L'alcool peut être glycoformateur, lipoformateur ou oxydé en acide acétique (*Fusarium lini*, *Brettanomyces claussenii* et *Brettanomyces bruxellensis*), Lindner et Unger soumettent la levure à l'action de vapeurs d'alcool ; il se produit des gouttelettes d'huile.

Heide procède à une série d'expériences sur *Endomyces vernalis* :

TABLEAU XV (HEIDE)

ESSAIS	ASPARAGINE EN P. 100	ALCOOL EN P. 100	DATE DU PRÉLÈVEMENT	GRAISSE BRUTE EN % DU CHAMPIGNON SEC
A	1/8 %	—	3	32,4
B	»	—	6	42,9
C	»	4	6	42,0
D	1/1 %	—	3	6,9
E	»	—	6	8,05
F	»	4	6	16,1

Dans les essais *c* et *f*, on a remplacé au troisième jour le milieu initial par 15 cm³ d'alcool à 4 %. L'alcool est donc bien lipoformateur chez *Endomyces vernalis* dans les conditions de l'expérience.

L'alcool, comme le glycérol, peut être également formateur de glycérides, lorsque la tension en oxygène est faible ; on le constate en prélevant un fragment de voile apparu récemment à la surface du milieu de Stelling-Dekker liquide en tube étroit ; le lugol colore intensément le glycogène et il n'y a pas d'enclaves lipidiques.

2. — Les polyols

Le glycérol se formerait en anaérobiose soit à partir du phosphoglycéraldéhyde en milieu alcalinisé, soit à partir de l'acide glycérophosphorique ; il est, comme les autres polyols, constamment fermentescible par les levures. Il est, avec les mêmes remarques que pour l'alcool éthylique, plus ou moins assimilable par les champignons et apte à favoriser leur croissance ; par exemple, *Torulopsis pulcherrima* se développe bien sur milieu au glycérol, *Candida reukaufi* et *Torulopsis lipofera* ne s'y développent que lentement, alors même que la source azotée leur convient.

Le glycérol serait constamment lipoformateur (Smedley Mac Léan et Hoffert) ; nous avons pu le constater en utilisant un milieu à 2 % de glycérol et à 1 % de peptone ou d'asparagine ou de nitrate d'ammonium calqué sur celui de Sabouraud ramené à 2 % de glycose (Langeron), milieu équilibré qui convient le mieux en pratique à la culture des champignons microscopiques. Le glycérol est non seulement lipoformateur, mais caroténoformateur chez les

Rhodotorula (Fromageot et Tchang) ; il provoque une augmentation de la pigmentation, mais aussi sa persistance indéfinie ; on a établi que cette persistance est liée, *in vivo*, au pouvoir antioxygène réciproque des lipides et des carotènes (Luteraan, 1946 ; Luteraan et Choay, 1947).

Le glycérol favorise la production de pigments mélaniques chez *Pullularia pullulans*. Chez *Endomyces vernalis*, le coefficient d'assimilation du glycérol est faible et même, si on déséquilibre le milieu en employant la solution type Wöltje, il n'y a pratiquement ni assimilation, ni lipogénèse (Heide) ; selon Raaf, le glycérol le plus pur n'est guère lipoformateur ; jusqu'ici, nous n'avons pas trouvé la preuve de cette assertion, mais on peut objecter que ces auteurs allemands (Heide et Raaf) emploient presque constamment la solution de Wöltje (1) où la concentration en glycérol, pour lequel la perméabilité cellulaire est grande, est beaucoup trop élevée. Il manque dans leurs expériences une référence, par rapport à des milieux normaux et équilibrés, qu'un long usage mycologique (Langeron, Westerdijs) a consacrés ; une dose d'hydrate de carbone dépassant deux ou trois % provoque obligatoirement la lipogénèse et augmente l'acidification du milieu (Westerdijs, 1947) ; d'où il résulte que pour apprécier la véritable valeur lipogénétique des différents glycérides et aliments ternaires, il faudrait commencer par opérer dans les conditions normales de milieu et de culture. Ainsi, Heide trouve pour le mannitol à une concentration de 7,59 % et 1/8 d'asparagine un pouvoir lipogénétique intense ; on ne sait si, dans des conditions normales, cette substance est véritablement lipoformatrice, on sait seulement qu'elle constitue un excellent aliment qui favorise, dans les milieux de culture appropriés, la croissance de nombreux champignons.

(1) Voici comment ils procèdent : placer dans des boîtes de Pétri stériles 35 gr. de sable de quartz grossier stérilisé ; placer au-dessus un papier-filtre stérile (papier-filtre dur de Schleicher et Schull n° 595) de même diamètre que le diamètre intérieur de la boîte ; verser ensuite une quantité déterminée de la solution de Wöltje : eau dist. 100, saccharose pur Merck 7,50, asparagine 1, phosphate monopotassique 0,50, $\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,25. Ce dispositif permet la récolte en masse, la transposition brutale dans un autre milieu de culture ; enfin Raaf a eu l'idée de remplacer dans certaines expériences le sable de quartz par un adsorbant : la permutite qui adsorbe électivement l'ion ammonium produit en excès par les cultures, mais de façon qu'il soit finalement récupérable pour ces dernières. Les notations 1/1, 1/8 asparagine signifient 1 0/0 et 0,25 0/0 d'asparagine. On peut remplacer l'asparagine ou le saccharose par un autre élément azoté ou ternaire.

VI. — ACTION DES ALDÉHYDES

1. — Action sur la croissance et sur l'assimilation

L'acétaldéhyde agit plus rapidement comme substance toxique que comme aliment chez les champignons (Smedley Mac Lean et Hoffert).

Cependant, Fink et Krebs trouvent que *Torulopsis utilis* se développe facilement sur une solution faible d'acétaldéhyde, constituant l'unique source de carbone.

De même, Schanderl cultive *Cladosporium cellare* (de son vrai nom *Rhacodium cellare*) sur un milieu nutritif anorganique et obtenait une bonne croissance sous l'effet de vapeurs d'acétaldéhyde. Il est à remarquer que chez d'autres Dématitiées, on observe souvent une croissance sur des milieux en apparence peu nutritifs, ce qui leur confère presque une allure d'organismes autotrophes, car, comme *Rhacodium cellare*, ce sont des organismes peu exigeants.

On ne possède que peu de données sur d'autres aldéhydes, notamment formaldéhyde et aldéhyde aromatiques qui se montrent toxiques.

Benheim démontre que l'anisaldéhyde inhibe la respiration de *Blastomyces dermatitidis* en présence de lactate ou de pyruvate, mais non en présence de glycose. On ne connaît pas autrement l'action des aldéhydes sur la respiration.

2. — Action sur la lipogénèse

Haehn et Kintoff (1923) expérimentant sur *Endomyces vernalis* ont trouvé de l'acétaldéhyde et de l'alcool dans les milieux de culture.

TABLEAU XVI (RAAF)

	CHAMP. SEC. MG.	GRAISSE		AZOTE	
		p. 100	poids en mg.	p. 100	poids en mg.
Acétaldéhyde gazeux.....	284	14,8	42,0	5,4	8,05
Témoin.....	352	7,0	24,6	5,2	18,3

L'acétaldéhyde serait le terme du catabolisme des hexoses et des pentoses, qui serait le point de départ de la lipogénèse, et l'addition de dimédon ou de bisulfite de sodium aux milieux de culture restreindrait d'autant la lipogénèse en captant l'acétaldéhyde formé.

Raaf (1941) expérimente avec l'acétaldéhyde sous ses deux formes de vapeur et de solution

GRAPHIQUE 11

Poids sec, teneur en graisse et azote lors d'additions progressives d'acétaldéhyde en solution (*Endomyces vernalis*, Raaf 1943) ; en abscisse, la concentration en acétaldéhyde ; en ordonnée, les quantités en mg ; l'échelle de gauche se rapporte à la graisse et à l'azote ; l'ordonnée inférieure figure des pourcentages. *a*, champignon sec ; *b*, graisse brute en p. 100 ; *c*, graisse totale ; *d*, azote total $\times 6,25$; *e*, azote en p. 100.

La formation d'acides gras à partir des aldéhydes se trouve confirmée, en ce qui concerne l'acétaldéhyde, par :

- l'action du bisulfite de sodium et du dimédon ;
- le fait que Haehn et Kintoff auraient trouvé des traces d'acétaldéhyde et d'aldol dans des cultures d'*Endomyces vernalis* ;

— les expériences de Reichel, de Raaf (voir graphique 11) ;

— le fait que les pentoses sont lipoformateurs.

Suivant Haehn et Kintoff :

— il y aurait d'abord scission d'une molécule d'hexose en deux molécules de méthylglyoxal hydraté ;

— il y aurait ensuite les réactions :

— aldolisation : $2 \text{CH}^3 \cdot \text{COH} \longrightarrow \text{CH}^3 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{COH}$;

— déshydratation de l'aldol et formation d'aldéhyde crotonique : $\text{CH}^3 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{COH} \longrightarrow \text{CH}^3 \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{COH}$, qui serait réduit et donnerait de l'aldéhyde butyrique : $\text{CH}^3 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{COH}$, qui pourrait se condenser avec une nouvelle molécule d'acétaldéhyde en aldéhyde β hydroxycaproïque : $\text{CH}^3 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{COH}$, qui donnerait après déshydratation de l'aldéhyde $\alpha\beta$ hexylénique : $\text{CH}^3 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{COH}$, qui est réduit en aldéhyde caproïque : $\text{CH}^3 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{COH}$;

— il y aurait de nouvelles condensations avec l'acétaldéhyde, de nouvelles déshydratations, de nouvelles réductions et on obtiendrait finalement des acides gras, de l'acide oléique notamment.

Reichel et Schmidt reprennent l'hypothèse de Haehn et Kintoff : il y a intervention d'aldolases et de déshydrases. Si l'acétaldéhyde s'est condensé en aldol, celui-ci est transformé en aldéhyde crotonique : $\text{CH}^3 \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{COH}$, qui, avec une nouvelle molécule d'acétaldéhyde, donne de l'hexadiénal : $\text{CH}^3 \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{COH}$. Il peut y avoir condensation de trois molécules d'hexadiénal avec déshydrogénation concomitante, pour aboutir à l'un des composés : $\text{CH}^3 \cdot (\text{CH} = \text{CH})^3 \cdot \text{COOH}$ ou $\text{CH}^3 \cdot (\text{CH}^2 \cdot \text{CH}^2)^3 \cdot (\text{CH} = \text{CH})^5 \cdot \text{COOH}$, à partir desquels se formeraient l'acide oléique, puis l'acide stéarique. Il pourrait y avoir aussi formation des deux acides précités par condensation de deux molécules d'aldéhyde $\alpha\beta$ hexylénique, avec une molécule d'hexadiénal. A partir de l'aldéhyde crotonique, ces auteurs envisagent la formation possible d'octatriénal, qui pourrait provenir également de la condensation d'une molécule d'hexadiénal avec l'acétaldéhyde : $\text{CH}^3 \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{COH} + \text{CH}^3 \cdot \text{COH} \longrightarrow \text{CH}^3 \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{COH}$. Par condensation de deux molécules d'octatriénal, il y aurait formation d'un acide précurseur de l'acide palmitique. Il y a une grande part d'hypothèse

dans les travaux de Reichel ; ce qui paraît le plus certain, c'est que *Endomyces vernalis* serait capable d'utiliser les aldéhydes précités ; les aldéhydes polyéniques supérieurs seraient directement oxydés en acides gras correspondants.

On ne saurait passer sous silence l'hypothèse de von Euler, Fischer et Loewenberg, suivant laquelle certains carotènes pourraient se former par condensation de molécules d'aldéhyde méthylcrotonique ; celui-ci serait formé par condensation d'une molécule d'acétone et d'une molécule d'acétaldéhyde :

Ce qui apparaît surtout le plus évident, c'est que, en aérobiose, les processus de condensation paraissent très développés ; en anaérobiose, dans la fermentation alcoolique, on ne rencontre qu'un seul produit de condensation de l'acétaldéhyde, l'acétylméthylcarbinol : $\text{CH}^3.\text{CO}.\text{CHOH}.\text{CH}^3$, qui par réduction pourrait donner, le 2,3 butylène glycol : $\text{CH}^3.\text{CHOH}.\text{CHOH}.\text{CH}^3$.

3. — Action sur la production d'alcool

Cas de la fermentation alcoolique

L'addition de dimédon ou de sulfite de soude à un milieu de fermentation permet de capter les aldéhydes et diminue d'autant la production d'alcool.

L'acétaldéhyde étant un point de départ de la synthèse de l'alcool éthylique et de celle des lipides, on comprend comment, sous l'effet de tensions en oxygène décroissantes à la lipogénèse, se substitue la production anaérobie d'alcool.

Mais l'acétaldéhyde est le point de départ de bien d'autres composés ; Gross et Werkman (1946) étudient notamment la destinée de l'acétaldéhyde marqué au carbone lourd et soumis à l'action du suc de levure actif ; ils démontrent que l'acétaldéhyde provient bien de la décarboxylation de l'acide pyruvique et que l'acétaldéhyde est utilisé dans ces conditions spéciales à la synthèse de l'acétylméthylcarbinol.

L'acétaldéhyde est donc un produit constant et ultime de la phase anoxybiotique du catabolisme des hexoses chez les champignons et sa destinée est réglée par les conditions de vie aérobie ou anaérobie, par les conditions de milieu et de culture.

Cas de la respiration intra-moléculaire

Ce qui vient d'être dit se trouve amplement démontré dans les expériences de Rippel et Wiangke (voir tableau XIV) sur *Sterigmatocystis nigra* ; il semble que le stade acétaldéhyde soit très éphémère et que cette substance, aussitôt englobée dans une réaction biochimique concomitante, ne soit que difficilement captée ; d'ailleurs, Bernhauer et Théler ont établi que, chez ce même champignon, l'utilisation de l'acétaldéhyde est plus importante en aérobiose ; en effet, c'est en aérobiose que l'on observe ces réactions de condensation portant sur deux ou plusieurs molécules d'acétaldéhyde simultanément, ce qui entraîne non seulement une augmentation du coefficient d'utilisation, mais un accroissement de la vitesse d'utilisation ; en augmentant la tension en oxygène, on diminue le rapport alcool formé/lipides formés (processus de condensation).

VII. — ACTION DES ACIDES ORGANIQUES

1. — Les diacides en C4

Il est un fait remarquable, c'est que les diacides en C4, dont on sait le rôle si important dans la desmolyse ou respiration cellulaire comme transporteurs d'hydrogène, ne sont pas décarboxylés en anaérobiose et ne sont guère lipoformateurs (Raaf). Cependant, l'acide succinique est constamment assimilable.

D'autre part, il y a excrétion d'acide succinique au cours de la fermentation alcoolique, et il se formerait à partir de l'acétaldéhyde suivant la réaction :

La synthèse s'opérerait à partir de deux molécules d'acide acétique, en aérobiose, chez la levure (Wieland).

Ainsi, l'acétaldéhyde dont on trouve tout au plus des traces dans les milieux de culture et qui est un produit du catabolisme des glycidés peut subir des destinées diverses : réduction et formation d'alcool, oxydation et formation d'acide acétique, condensation et formation soit d'acide succinique, d'acétylméthylcarbinol, soit, en aérobiose, d'acides gras. Ces synthèses s'opposent à une accumulation d'acétaldéhyde produit au cours du catabolisme des glycidés. En aérobiose, le système desmolytique fonctionnant, l'acide succinique formé sera mis en service et ne sera pas excrété ; le système

desmolytique fonctionnant pour une concentration relative et constante en diacides, de sorte que le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire soit lui-même maintenu à une valeur fixe, l'excès d'acétaldéhyde provenant du catabolisme des glyrides sera utilisé pour la formation de lipides. *En anaérobiose, il pourra y avoir formation d'acide succinique chez ces organismes en réalité aérobies, mais l'acide succinique ne remplissant plus son rôle dans un système desmolytique ou respiratoire cellulaire sera excrété.*

2. — L'acide pyruvique

L'acide pyruvique, produit constant du catabolisme des glyrides tant en aérobiose qu'en anaérobiose, peut être décarboxylé ; mais il intervient aussi dans d'autres réactions biochimiques ; c'est ainsi que Fromageot et Desnuelle ont particulièrement étudié, au cours de la fermentation alcoolique, l'équilibre :

L'acide pyruvique intervient dans les réactions couplées de la transamination (Braunstein et Kritzmann) dont l'étude, à notre connaissance, n'a pas été faite chez les champignons ; il intervient encore dans toute une série de réactions que nous ne citerons pas.

L'addition de craie au moût de fermentation provoque une fermentation déviée et une accumulation de pyruvate de calcium insoluble.

Le rôle de l'acide pyruvique en aérobiose et dans les synthèses est discuté :

Meyerhof (1925) démontre que, comme pour le méthylglyoxal ou aldéhyde pyruvique, son addition augmente la respiration de la levure.

La question se pose de savoir si, dans la célèbre théorie des resynthèses de Meyerhof, resynthèses dues à l'intervention de l'oxygène, les synthèses ne s'opèrent pas plutôt à partir de l'acide pyruvique et de l'acétaldéhyde, sans que l'on ait à passer par le stade acide lactique dans la contraction musculaire, par le stade alcool dans la fermentation alcoolique du moment que l'oxygène intervient et restreint d'autant la formation de ces substances, à moins que l'on n'admette une formation rapide du glycogène à partir de l'acide lactique au cours de la contraction musculaire, une synthèse rapide du glycose à partir de l'alcool dans la réaction de Pasteur ; dans le cas de la fermentation alcoolique, la croissance inconstante et lente en présence d'alcool éthylique et

la diversité des synthèses à partir d'une seule et même substance en présence d'oxygène s'opposent à la conception de Meyerhof des resynthèses. Enfin, l'acide pyruvique est aussi bien glycoformateur que lipoformateur.

Raaf discute l'hypothèse suivante : est-ce que, chez *Endomyces vernalis*, l'acide pyruvique ne joue pas un rôle aussi grand dans la lipogénèse que l'acétaldéhyde ? Il procède de la manière que nous

TABLEAU XVII (RAAF)

	ADDITION SECONDAIRE DE	CHAM- PIGNON SEC	GRAISSE BRUTE		AZOTE		SUCRE NON UTILISÉ	AZOTE EN AM- MONIAQUE EN SOLUTION
			%.	mg.	%.	mg.		
A ₁		364	6,55	23,6	5,45	19,8	28,9	
A ₂	Eau dist.	344,5	5,80	20,0	5,46	18,8	0,0	1,23/0,99
A ₃	Sucre	392	6,1	24,0	5,12	12,0	0,0	0,21/0,19
A ₄	Ac. pyruvique	368	8,85	32,6	5,35	19,7	0,0	0,23/0,30
B ₁		344	5,90	20,3	5,57	19,2	0,0	—
B ₂	Eau dist.	338	3,90	13,4	5,34	17,9	0,0	—
B ₃	Sucre	375	5,95	20,2	5,44	20,05	0,0	—
B ₄	Ac. pyruvique	350	7,25	25,5	5,31	18,5	0,0	—
C ₁		320	5,30	17,5	5,66	18,7	0,0	—
C ₂	Eau dist.	281	5,13	14,4	5,32	15,1	0,0	—
C ₃	Sucre	318	4,67	14,9	5,63	17,9	0,0	—
C ₄	Ac. pyruvique	314	5,30	16,6	5,50	17,2	0,0	—

avons déjà indiquée (p. 305) et répartit ses expériences en trois groupes :

Groupe A réparti en trois lots de boîtes de Pétri ; lot A₁, récolte et analyse de deux boîtes au bout de huit jours ; lot A₂, addition, au bout de huit jours, à deux boîtes de cinq cc. d'eau distillée stérile ; lot A₃, addition, au bout de huit jours, à deux boîtes de cinq cc. d'une solution à 2 % de sucre de canne ; lot A₄, addition, au bout de huit jours, à deux boîtes de cinq cc. d'une solution à 2 % d'acide pyruvique ; pour A₂, A₃, A₄, récolte au 11° jour.

Raaf procède, d'une façon analogue, pour les groupes B et C ; pour B₁, récolte au 13° jour ; pour B₂, B₃, B₄, récolte au 17° ; pour C₁, récolte au 16° jour ; pour C₂, C₃, C₄, récolte au 20°.

Ainsi, dans les conditions de l'expérience, milieu déséquilibré

par emploi de la solution type Wöltje ; l'acide pyruvique est lipoformateur chez *Endomyces vernalis*. Raaf compare ce pouvoir lipoformateur à celui du sucre de canne.

(La peptone utilisée par Raaf contient 16,55 % d'azote, valeur moyenne de deux analyses).

Le pourcentage de graisse brute obtenu avec l'acide pyruvique est incontestablement plus élevé ; cette expérience met aussi en

TABLEAU XVIII (RAAF)

RECHERCHES →	b	c	d
SUBSTRAT →	Ac. pyruvique + peptone	Peptone seule	Sucre de canne + peptone
Poids humide (5 boîtes).....	630 mgr.	224 mgr.	—
Poids sec (10 boîtes).....	210 mgr.	98 mgr.	451 mgr.
Graisse brute en % dans le champignon sec.....	10,1	4,2	5,95
Graisse en mgr.....	21,2	4,12	26,8
Azote en % dans le champi- gnon sec.....	5,3	8,0	6,35
Azote en mgr.....	11,1	7,9	28,6

relief le pouvoir lipoformateur relativement modéré du saccharose dans les conditions de l'expérience.

Indiquons que l'action antidécarboxylante de l'acide γ quinoléine pyruvique, sous sa forme de sel de sodium, à l'égard de l'acide pyruvique, découverte par G. Minard (1938), constituera un élément certainement important pour le contrôle des destinées de l'acide pyruvique, comme les inhibiteurs de fermentation ont permis à d'autres auteurs, notamment Meyerhof, d'établir le schéma du catabolisme des glycides. Minard précise ce fait intéressant que l'acide γ quinoléine pyruvique peut présenter une forme énolique comme l'acide pyruvique, quoique non décarboxylable comme ce dernier par le jus de macération de levure ; on retrouve encore ici ce problème si important qui concerne les rapports entre structure, réactivité et propriétés physiologiques des substances chimiques.

3. — Acide lactique

L'acide lactique, autre acide en C3, est également lipoformateur comme, peut-être dans d'autres conditions et suivant les organismes, il pourrait être glycoformateur, car il serait constamment assimilé, comme nous l'avons constaté, en aérobiose, par les levures, alors qu'il n'est pas fermentescible.

Raaf étudie la valeur lipofomatrice de l'acide pyruvique chez *Endomyces Vernalis* ; il utilise, comme à l'habitude, la solution déséquilibrée de Wöltje, en substituant cette fois à l'asparagine l'urée 1/2 %, en ajoutant au bout de trois jours un nouveau milieu :

TABLEAU XIX (RAAF)

ESSAIS	a	b	c	d	e
Milieu II ajouté secondairement	—	—	Eau dist.	Lactate de Na + lactate d'Amm.	Acide lactique
Date de récolte (jours).....	3	7	7	7	7
Champignon sec (mgr.).....	291	330	280	290	284
Graisse brute en % ds ch. sec.	20,6	23,6	8,3	27,3	26,3
Graisse brute en mgr.....	60,0	77,8	51,4	81,1	74,4
Azote total en % ds ch. sec...	3,30	3,36	3,4	3,95	3,40
Azote total en mgr.....	9,63	11,1	9,60	11,4	9,65
Sucre restant du milieu I.....	24	25,0	—	—	—

Bernheim (1942) démontre que la consommation d'oxygène est considérablement plus élevée en présence de lactate que de glycose ou pyruvate chez *Blastomyces dermatitidis*, ce qui tend à confirmer encore les liens étroits entre l'importance de la respiration et celle de la lipogénèse.

Cette augmentation de la consommation d'oxygène est probablement liée à la nécessité de la déshydrogénation préalable de l'acide lactique.

Certains champignons, notamment des *Rhizopus*, peuvent excréter de l'acide lactique.

GR. 12. — *Blastomyces dermatitidis*. (D'après BERNHEIM).

4. — Acide acétique

L'acide acétique est tantôt glycoformateur, tantôt lipoformateur, suivant les conditions de milieu et de culture. Il est constamment assimilable par les levures, soit sous forme d'acide, soit sous forme de sel.

S'il est assimilable, il représente dans d'autres circonstances un produit d'excrétion.

Genévois confirme les résultats de C. Neuberg, suivant lesquels la production d'acide acétique augmente avec l'élévation du pH au cours de la fermentation (ainsi que le glycérol et le butylène glycol), tandis que l'excrétion d'acide succinique diminue (voir page 301). L'acide acétique et l'acide succinique se forment à partir de l'acétaldéhyde en anaérobiose (H. Wieland) ; on doit considérer l'excrétion d'acide acétique comme ayant la même signification physiologique que celle de l'acide succinique.

TABLEAU XX (d'après CUSTERS)
Brettanomyces clausenii, milieu phosphates-alcool.

TEMPS EN HEURES	EN MILIEU ALCOOL ÉTHYLIQUE				SANS SUBSTRAT	
	Consomm. d'O mm ³	Production de CO ² mm ³	Q.R.	QO ²	Consomm. d'O mm ³	Production de CO ² mm ³
I. pH 6,4 30°C 5 mg. 44 de levure sèche par flacon						
1.....	175	0	0	32,2	54	
2.....	166	0	0	30,5	38	
3.....	167	0	0	30,7	27	
4.....	171	0	0	31,4	26	
5.....	173	0	0	31,8	20	
Total..	852	0			162	
II. pH 4,35 30°C 6 mg. 08 de levure sèche par flacon						
1.....	186	15	0,08	30,6	45	37
2.....	175	5	0,03	28,8	31	30
3.....	185	11	0,06	30,4	26	28
4.....	212	14	0,07	34,9	25	25
5.....	241	72	0,37	39,6	16	21
6.....	249	13	0,37	40,6	14	15
Total....	1.248	210			157	156
III. pH 3,77 30°C 5,76 mg. de levure sèche par flacon						
1.....	183	0	0	31,8	32	
2.....	186	0	0	32,3	7	
3.....	202	47	0,23	35,1	0	
4.....	211	110	0,52	36,6	0	
5.....	216	160	0,74	37,3	0	
6.....	230	193	0,84	39,9	0	
Total.....	1.228	510			39	
IV. Comparaison des résultats						
	pH 6,40		pH 4,35		pH 3,77	
	CO ² /O ²	QO ²	CO ² /O ²	QO ²	CO ² /O ²	QO ²
1.....						
2.....	0	32,2	0,08	30,6	0	31,8
3.....	0	30,5	0,03	28,8	0	32,3
4.....	0	30,7	0,06	30,4	0,23	35,1
5.....	0	31,4	0,07	34,9	0,52	36,6
6.....	0	31,8	0,30	39,6	0,74	37,9
			0,37	40,6	0,84	39,9

TABLEAU XXI (d'après CUSTERS)

Saccharomyces cerevisiae (HANSEN) souche DELFT I en milieu phosphates-alcool.

TEMPS N HEURES	SUBSTRAT ALCOOL ÉTHYLIQUE				SANS SUBSTRAT	
	Consomm. d'O en mm ³	Production de CO ² en mm ³	Q.R.	Q ^{o2} .	Consomm. d'O ² en mm ³	Production de CO ² en mm ³
I. pH 6,4 30° C 2 mg. 56 de levure sèche par flacon						
1.....	16	38	0,2	68,8	40	
2.....	163	74	0,45	63,7	25	
3.....	172	91	0,53	67,2	18	
4.....	188	115	0,61	73,4	13	
5.....	162	92	0,57	63,3	14	
Total....	861	410			110	
II. pH 4,35 30° C 2 mg. 72 de levure sèche par flacon						
1.....	188	54	0,29	69,1	83	68
2.....	159	76	0,48	58,5	29	28
3.....	150	81	0,54	55,1	20	23
4.....	150	88	0,59	55,1	23	14
5.....	151	91	0,60	55,5	17	14
6.....	147	95	0,65	54,0	15	13
Total....	945	485			187	160
III. pH 3,77 30° C 2 mg. 7 de levure sèche par flacon						
1.....	200	50	0,25	73,5	105	
2.....	176	99	0,56	64,7	58	
3.....	174	104	0,59	64,0	34	
4.....	179	117	0,65	65,8	19	
5.....	175	114	0,65	64,3	15	
6.....	191	142	0,74	70,2	10	
Total....	1.095	626			241	
IV. Comparaison des résultats précédents						
	CO ² /O ² pH 6,40 Q ^{o2}		CO ² /O ² pH 4,35 Q ^{o2}		CO ² /O ² pH 3,77 Q ^{o2}	
1.....	0,22	68,8	0,29	69,1	0,25	73,5
2.....	0,45	63,7	0,48	58,5	0,56	64,7
3.....	0,57	67,2	0,54	55,1	0,59	64,0
4.....	0,61	73,4	0,59	55,1	0,65	65,8
5.....	0,57	63,3	0,60	55,5	0,65	64,3
6.....			0,65	54	0,74	70,2

Custers constate que les levures du genre *Brettanomyces* excrètent, en aérobiose et en présence de craie, de l'acide acétique, que le substrat soit un glycide ou l'alcool éthylique.

L'excrétion d'acide acétique manque en milieu acide et elle constitue une *manifestation du pouvoir tampon cellulaire* chez les levures.

On peut aussi conclure, toutes autres conditions étant égales, que le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire de *Brettanomyces* se trouve être inférieur à celui de *Saccharomyces cerevisiae* en aérobiose, puisqu'il produit en aérobiose de l'acide acétique (voir aussi tableau XII).

En se rangeant aux conceptions de Wieland, on voit que *l'acide acétique est un système intermédiaire pouvant régler les rapports de fonctionnement entre le système catabolique des glycides et le système desmolytique. Le pouvoir tampon cellulaire est destiné avant tout, en aérobiose, à régler et à protéger le fonctionnement du système desmolytique.* Cette conception nouvelle dépasse le cadre des constatations faites chez les seuls champignons.

5. — Autres acides organiques

L'acide oxalique peut être assimilé par *Endomyces vernalis* (Raaf) et servir à la lipogénèse. L'acide oxalique n'est qu'inconstamment assimilé par les champignons ; il l'est, dans des conditions particulières, par *Sterigmatocystis nigra* (Sakamaru, 1927).

Ainsi, si l'assimilation, notamment par des levures, des acides organiques suivants : diacides en C₄, acide pyruvique, acide lactique, acide acétique et acide citrique nous a paru constante dans tous les cas étudiés, par contre celle des acides oxalique, tartrique, butyrique, nous a paru varier.

Il en est de même des acides gras les plus divers, et ces différences dans les assimilations pourront avoir leur importance dans la détermination des genres et espèces. Ainsi, Raaf a établi que *Endomyces vernalis* assimile l'acide oléique, mais n'assimile ni l'acide stéarique, ni l'acide palmitique. Nous avons établi que *Rhodotorula rubra* assimile acide oléique, acide palmitique, ricinoléate de sodium, sulforicinate d'ammonium ; en présence d'acide oléique, il y a formation abondante de carotènes, persistance indéfinie de la pigmentation et constitution d'enclaves lipidiques énormes (Luteraan et Choay) ; en présence de sulforicinate d'ammonium, la coloration n'est jamais intense et la décoloration précoce. Les cultures sur milieux contenant des lipides semblent donc modifier la teneur en insa-

ponifiable des organismes, et nous avons rapproché notre observation de celles de Terroine, Bonnet, Kopp et Véchet, selon lesquelles *Stenigmatocystis nigra* cultivé sur les corps gras les plus variés se montre beaucoup plus riche en stérols que lorsqu'il se développe sur milieu glycosé ou simplement peptoné ; on ne peut cependant déduire de ces observations que les éléments d'insaponifiable se forment à partir des lipides.

6. — Acides organiques, lipogénèse et production d'alcool

FIG. 3. — NOTE EXPLICATIVE. — Ce schéma tente d'exposer les rapports entre :
 — système catabolique des glucides ;
 — système desmolytique ;
 — synthèses faisant équilibre soit au seul catabolisme des glucides (toujours en anaérobiose), soit au catabolisme des glucides et au système desmolytique.

1° Catabolisme des glucides. — On admet généralement que le système catabolique des sucres est le même en aéro- et en anaérobiose, suivant les conceptions de Meyerhof. Il semble cependant qu'en anaérobiose, la part des processus de dismutation soit plus grande et, qu'en aérobiose, celle des déshydrogénations et transferts

catalytiques d'hydrogène soit plus élevée au cours du catabolisme des glycidés (production possible d'acide gluconique, liée à une glycosé déshydrase, synthèse du mannitol en aérobiose, etc...).

Toutefois, on doit continuer à individualiser un système catabolique des glycidés, dont le terme ultime est l'acétaldéhyde. Les étapes intermédiaires en ont été établies par Meyerhof, grâce à des méthodes biochimiques : isolement de diastases, inhibition d'actions diastasiques, capter les produits formés sous forme de sels insolubles ou de composés d'addition ; actuellement, l'étude du catabolisme des produits intermédiaires a fait de nouveaux progrès grâce à l'emploi d'éléments marqués.

2° Système desmolytique. — Aujourd'hui, on ne conçoit plus la respiration comme une oxydation, mais comme une série de processus de déshydrogénation, suivant la conception de H. Wieland, l'oxygène n'étant qu'un accepteur d'hydrogène, le plus important certes, mais particulier.

On ne considère pas non plus la respiration comme simplement un complément au catabolisme des glycidés, aboutissant à la production finale d'eau et de gaz carbonique.

Le système desmolytique, à la suite des travaux de H. Wieland, de Szent-Györgii, de Krebs *et alii*, doit être envisagé comme l'ensemble des processus de déshydrogénation et de transfert catalytique de l'hydrogène ; c'est le système respiratoire cellulaire. En effet, la variété et l'importance des processus de déshydrogénation en aérobiose sont évidentes ; en anaérobiose, les alcools ne peuvent être utilisés, l'acide lactique ne peut être déshydrogéné, les nitrates ne peuvent servir d'accepteur d'hydrogène, même pour les levures qui assimilent ces substances. L'oxygène agit donc en provoquant et en stimulant les processus de déshydrogénation.

3° Rapports entre catabolisme des glycidés et desmolyse. — On peut les schématiser ainsi d'après certaines données fournies par H. Wieland :

L'acide acétique augmente avec l'alcalinité du milieu, tandis que la production d'acide succinique diminue dans ces conditions ; ces deux substances sont excrétées en anaérobiose par les levures, telles que *Saccharomyces cerevisiæ*, qui sont en réalité des organismes aérobies ; on voit immédiatement comment le pouvoir tampon cellulaire intervient dans le fonctionnement du système desmolytique, en comparant ces faits avec ceux observés par Custers chez les *Brettanomyces* qui n'excrètent d'acide acétique qu'en aérobiose.

4° Rapports entre desmolyse et protéogénèse. — On peut les schématiser ainsi :

S'il y a activité accrue le long de la chaîne respiratoire (1), les réactions secondaires (2) greffées le long de cette chaîne et représentées par les équilibres entre diacides et acides aminés correspondants se déplacent en faveur de la production de diacides ; il en est de même s'il y a déséquilibre azoté. Il y a, dans ce cas, comme l'a démontré Raaf, en employant la permutite comme milieu adsorbant, diminution de la tension en ammoniacque cellulaire ; le déplacement de l'équilibre s'effectue forcément de gauche à droite. On remarquera que les acides aminés indiqués sur ce schéma, acide glutamique et acide aspartique, sont précisément ceux qui, selon Braunstein et Kritzmann, peuvent être le point de départ de transaminations. Une autre explication est valable en ce qui concerne l'action de la tyrosine sur la respiration ; nous avons pu démontrer que son action était antagoniste de celle de la cystéine chez les levures ; ainsi, il est infiniment probable qu'elle agit sur le groupement sulfhydrile présent dans de nombreuses diastases, notamment la succino-déshydrase.

5° Les synthèses compensatrices. — Les rapports entre catabolisme des glycidés et desmolyse se trouvant précisés, on peut se demander pourquoi, en aérobiose, le taux de consommation des glycidés est limité (voir p. 279 et tableau II). Evidemment, il y a, en aérobiose, dégradation plus complète des sucres jusqu'au stade eau et gaz carbonique ; mais les actions cataboliques doivent être compensées, équilibrées par certaines synthèses. En anaérobiose, c'est surtout la synthèse de l'alcool qui fait équilibre

au catabolisme des glycérides ; en aérobose, celle du glycogène et celle des lipides principalement. *On remarque que la lipogénèse fait non seulement équilibre au catabolisme des glycérides en réglant leur taux de consommation, mais encore fait équilibre au système desmolytique*, la synthèse de corps très réduits paraissant elle-même s'accompagner de processus de déshydrogénation, conformément à l'équation de Magnus-Lévy.

6° Les actions antioxygène (V). — Finalement, les lipides sont excrétés sous forme d'enclaves les plus importantes dans les cellules âgées ou mortes ; ainsi, la cellule paraît rejeter des substances autoxydables ; dans d'autres cas, elle freine cette autoxydabilité par le pouvoir antioxygène réciproque des lipides et des carotènes.

7° Cas des « fermentations » fumarique, citrique. — La production de diacides peut être excessive. De même qu'il peut y avoir excrétion d'acide acétique ou d'acide succinique au cours des fermentations, de même, il peut y avoir, dans des conditions d'aération physiologiques, excrétion soit d'acide fumarique (*Rhizopus nigricans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*), et avec intervention d'une succino-déshydrase, soit d'acide citrique (*Citromyces glaber*, *Citromyces pfefferianus*, *Penicillium luteum*, *Mucor piriformis*, etc...). Ces faits ont été étudiés par Bernhauer en particulier. Nous n'hésitons pas à les qualifier d'*activité desmolytique à rebours*.

VIII. — ACTION DES SUBSTANCES AZOTÉES

1. — Influence de la nature de la substance azotée sur la production d'alcool et sur la lipogénèse

En présence d'oxygène, le produit principal de la décomposition des protéines est l'asparagine, alors que la leucine et la tyrosine sont peu abondantes ; en l'absence d'oxygène, c'est l'inverse (*in Wattiez et Sternon, 1942*).

Béraud (1939) prélève de la levure de boulangerie cultivée sur un milieu synthétique, renfermant la substance azotée, dont il veut étudier l'action sur la respiration, la fermentation anaérobie, la production aérobie de gaz carbonique (1) ; après lavage à deux repri-

(1) Nous préférons le terme de production aérobie de gaz carbonique à celui de fermentation aérobie, car à notre avis les causes de la décarboxylation et son mécanisme peuvent différer en aérobose et en anaérobiose, la cause essentielle et presque exclusive de la production de gaz carbonique en anaérobiose étant la décarboxylation de l'acide pyruvique au cours de la fermentation alcoolique.

ses de la levure, il la place dans une solution à 1 % de glycose et 5 ‰ de phosphate monopotassique (pH 4,4) (tableau XV).

TABLEAU XXII (BÉRAUD)

RESPIRATION		FERMENTATION ANAÉROBIE		PRODUCTION AÉROBIE DE GAZ CARBONIQUE	
Caséine.....	47	Succinate d'amm...	83	Asparagine.....	15
l-leucine.....	44	Asparagine.....	82	Urée.....	13
l-tryptophane.....	41	Sulfate d'amm.....	81	Caséine.....	12
Sulfate d'ammonium.....	41	l-proline.....	80	Ac. aspartique...	9
Tyrosine.....	40	Caséine.....	75	Glycocolle.....	6
Succinate d'amm...	37	l-leucine.....	72	Sulfate d'amm...	5
Ac. aspartique.....	37	d-alanine.....	69	Succin. d'amm..	4
l-proline.....	37	d-arginine.....	64	d-alanine.....	4
Asparagine.....	36	Glycocolle.....	63	l-proline.....	2
d-arginine.....	36	d-lysine.....	58	l-tryptophane...	2
Urée.....	36	Ac. aspartique.....	57	Tyrosine.....	1
d-alanine.....	35	Urée.....	55	d-l-histidine....	1
d.l-histidine.....	34	d-l-histidine.....	52	d-arginine.....	0
Glycocolle.....	31	l-tryptophane.....	46	d-lysine.....	0
d-lysine.....	27	Tyrosine.....	44	l-leucine.....	0

La leucine ajoutée à un moût en fermentation accroît la production de fusel (alcools supérieurs qui proviendraient d'acides aminés) ; ainsi, la tyrosine donnerait du tyrosol, l'isoleucine de l'alcool isoamylique.

Raaf, avec *Endomyces vernalis*, obtient le résultat suivant, en considérant l'équivalence azotée (graphique 7).

Enfin, il n'y a pas de rapport entre l'action si particulière de la leucine, de la tyrosine et du tryptophane sur la respiration et la production de corps gras, et l'assimilabilité de ces acides aminés ; cette action existe, que ces substances soient assimilables ou non, et elle est générale chez les champignons.

Il est intéressant de comparer ces données avec les observations faites sur des organismes autres que les champignons :

— l'asparagine tend à s'accumuler chez certains végétaux dans des organes divers en aérobiose ;

— avec *Pseudomonas aeruginosa*, Burton, Eagles et Campbell (1947) ont noté que l'adjonction de l-leucine, aux milieux contenant du glycocolle ou de la d. l-alanine, augmente notablement la forma-

tion, toujours aérobie, de pyocyanine que sont encore capables de provoquer la d-valine et la l-tyrosine.

D'autre part, les Dématiées présentent un pigment fuligineux que nous avons caractérisé histochimiquement comme des mélanines ; on sait le rôle important que fait jouer Raper (1927) à la tyrosine dans la genèse des mélanines.

Certains antibiotiques, tels que la gramicidine et la tyrocidine (*Bacillus Brevis*) se trouvent renfermer en assez grande proportion les acides aminés suivants (Gordon, Martin et Syngé, 1943). Par exemple, ces auteurs ont trouvé dans la gramicidine (en molécules) :

GRAPHIQUE 13 (RAAF)

6 d-leucine, 3 d-valine, 2 l-valine, 6 l-tryptophane, 3 l-alanine, 2 glycocolle, 2 éthanolamine. Ce polypeptide, qui contient donc certains acides aminés dits non naturels, est riche en leucine, tryptophane.

Toutes ces constatations expérimentales méritaient d'être confrontées. On peut tirer de ces confrontations les conclusions suivantes :

1° les substances azotées agissent sur la respiration et la fermentation par leur nature propre, à condition d'observer expérimentalement la règle de l'équivalence azotée ;

2° Les acides aminés qui favorisent la respiration sont ceux qui favorisent la lipogénèse ; ceci prouve encore indirectement l'influence de l'aérobiose sur la lipogénèse, de même que l'aérobiose exerce son action sur la production de pigments ou d'antibiotiques ;

3° parmi les acides aminés, ayant l'action la plus caractérisée en aérobiose, on trouve la leucine, la tyrosine, le tryptophane ; on pourrait les appeler *acides aminés à haut potentiel*, car, à valeur

égale d'azote, ils agissent comme s'ils tendaient à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, d'une façon comparable à une augmentation de la pression partielle en oxygène ;

4° Une question se pose enfin : Y a-t-il modification de la protéogénèse du fait de l'emploi de telle ou telle substance azotée ? Raaf emploie divers acides aminés non plus à équivalence azotée, mais à même concentration, et obtient les résultats suivants avec *Endomyces vernalis* :

TABLEAU XXIII (RAAF)

ACIDE ANIMAL	POIDS SEC du ch. en mg.	GRAISSE		AZOTE		pH INITIAL	pH FINAL
		p. 100	poids en mg.	p. 100	poids en mg.		
Glycocolle.....	372	8,7	32,4	6,2	23,2	5,25	6,55
Alanine.....	342	13,5	46,1	6,1	21,0	5,05	5,95
Tyrosine.....	151	38,2	56	2,5	23,8	4,5	2,91
Leucine.....	135	32,5	43,1	4,1	5,5	4,7	3,6

Les différences obtenues relèvent ici principalement d'un facteur examiné plus loin : le déséquilibre azoté beaucoup plus important, à même concentration, avec la leucine et la tyrosine.

Fink et Just recherchent des modifications de la teneur en acides aminés des protéines de *Torulopsis utilis* cultivé sur milieux très différents ; ils n'en trouvent pratiquement pas. Les acides aminés à haut potentiel seraient surtout utilisés à l'édification de catalyseurs respiratoires.

L'ensemble des considérations précédentes ne présente pas qu'un intérêt théorique ; il doit guider le choix et la confection des milieux de culture, soit pour la détermination, soit en vue de la production de lipides, de pigments ou d'antibiotiques.

2. — Action du déséquilibre azoté

Terroine et ses collaborateurs ont bien établi l'influence du déséquilibre azoté sur la lipogénèse, sous l'effet d'une augmentation croissante de la concentration en glycérides ; mais ce sont Heide, puis Raaf qui, les premiers, étudient la question sous son aspect véritable : un élément doit rester constant, c'est précisément cette concentration en glycérides ; ce qui doit varier, c'est la concentration en

azote du milieu. Ainsi, une diminution de la concentration en azote du milieu accroît la lipogénèse, tandis qu'une augmentation de cette concentration accroît la protéogénèse, de sorte que les deux courbes se croisent ; c'est ce qu'indique le graphique suivant dû à Raaf et c'est ce que les travaux antérieurs de Heide avaient déjà établi.

GRAPHIQUE 14 (RAAF)

En abscisse, la concentration en urée. L'ordonnée supérieure figure des poids, l'ordonnée inférieure des pourcentages.

a, champignon sec ; b, graisse brute en p. 100 ; c, graisse totale en mg ; d, azote total $\times 6,25$.

Cette action d'un déséquilibre azoté qui favorise la lipogénèse est absolument générale et se retrouve chez les champignons les plus divers (Raaf) (tableau XXIV).

Cette variation inverse existe dans d'autres cas ; Fink, Haeseler et Schmidt étudient l'influence de l'âge des cultures chez *Geotrichum candidum* cultivé sur petit lait ; il y a variation, en sens opposé, avec le temps, de la teneur en protéides et de celle en lipides. Culture sur 250 cc. de petit lait (tableau XXV).

TABLEAU XXIV (RAAF)

N°	ORGANISME	MILIEU DE WÖLTJE	CHAM- PIGNON SEC	GRAISSE		AZOTE	
				p. 100	Poids en mg.	p. 100	Poids en mg.
1..	<i>Geotrichum candidum</i>	+ 1/1 asparagine	472,0	3,60	16,40	6,40	30,20
2..	»	+ 1/1 »	534,0	3,10	16,60	6,29	33,55
3..	»	+ 1/8 »	250,0	14,40	35,90	2,10	5,25
4..	»	+ 1/8 »	281,0	9,40	26,60	2,80	7,90
5..	<i>Zygorhynchus moelleri</i>	+ 1/1 »	88,5	4,25	3,98	6,15	5,44
6..	»	+ 1/8 »	84,5	32,00	27,10	3,51	2,96
7..	<i>Pichia farinosa</i>	+ 1/1 »	177,5	3,59	4,08	7,08	12,55
8..	»	+ 1/8 »	97,0	7,90	7,66	3,02	2,90
9..	<i>Hansenula anomala</i>	+ 1/1 »	385,0	4,82	18,50	5,78	22,20
10.	»	+ 1/8 »	364,5	16,90	61,50	2,59	9,45
11.	<i>Torulopsis utilis</i>	+ 1/1 »	1041,0	7,46	77,70	7,0	72,90
12.	»	+ 1/8 »	639,0	14,40	91,50	3,50	22,30
13.	<i>Sterigmatocystis nigra</i>	+ 1/1 »	770,0	3,20	56,60	4,27	75,50
14.	»	+ 1/1 »	1795,0	4,80	86,00	4,29	72,00
15.	»	+ 1/8 »	529,0	6,40	33,80	2,55	13,28
16.	»	+ 1/8 »	490,0	6,15	30,2	2,55	12,48
17.	<i>Penicillium glaucum</i>	+ 1/1 »	1572,0	4,10	64,40	5,13	80,50
18.	»	+ 1/1 »	1482,0	4,30	63,00	5,23	78,00
19.	»	+ 1/8 »	564,0	11,80	66,50	3,60	20,20
20.	»	+ 1/8 »	576,0	9,70	56,00	3,60	20,30

Ce qui démontre le mieux la spécificité d'action du déséquilibre azoté, c'est le fait que, sous son influence, les différences entre le pouvoir lipoformateur des sucres et polyalcools disparaît (Heide)

Le déséquilibre azoté tend donc à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, ce qui a encore pu être démontré autrement.

La protéogénèse étant faible en anaérobiose, le rôle d'un déséquilibre azoté ne se manifeste pas; cependant, même dans ces conditions, il est des levures plus exigeantes en apport de substances azotées que d'autres.

TABLEAU XXV (FINK, MAESELER et SCHMIDT)

ÂGE DES CULTURES EN JOURS	MYCÉLIUM SEC	AZOTE EN P. 100 DU HAMP. SEC	PROTÉINES BRUTES EN P. 100 DU CHAMP. SEC	GRAISSES BRUTES EN P. 100 DU CHAMP. SEC	GRAISSE EN MG.
2.....	1,777	5,40	33,75	7,5	0,133
3.....	3,238	3,32	20,75	10,8	0,349
4.....	3,968	3,15	19,69	13,4	0,531
5.....	4,771	2,98	18,62	16,7	0,796
6.....	5,729	2,81	17,56	22,5	1,290
7.....	6,147	2,76	17,25	22	1,352
12.....	5,886	2,85	17,81	19,6	1,152
16.....	5,710	3,15	19,69	16,6	0,948

TABLEAU XXVI (HEIDE)

N°	100,0 CM ³ . DE SOLUTION DE WÖLTJE AVEC 1/8 P. 100 D'ASPARAGINE	POIDS DU CHAMPIGNON SEC	GRAISSE BRUTE EN P. 100 DANS LE CHAMPIGNON SEC
1.....	+ 7 gr. 67 glycérol	—	—
2.....	+ 7 gr. 59 mannitol	85	42,5
3.....	+ 7 gr. 5 fructose	165	45,3
4.....	+ 7 gr. 5 glucose	185	46,3
5.....	+ 7 gr. 5 saccharose	196	47,0
6.....	+ 7 gr. 88 maltose	197	46,3
7.....	+ 7 gr. 5 galactose	150	47,5
8.....	+ 7 gr. 88 lactose	—	—
9.....	+ 7 gr. 5 mannose	175	47,5
10.....	+ 8 gr. 26 raffinose	140	42,0

3. — Protéogénèse maxima et protéogénèse minima

La protéogénèse est maxima en aérobiose et minima en anaérobiose chez les levures ; la croissance diminue avec l'anaérobiose et la multiplication cellulaire cesse en anaérobiose absolue.

Quel est le seuil de concentration azotée permettant la protéogénèse ? Avec l'urée, et selon les données fournies par Raaf, il se

placerait aux environs de 1/80 %. Il est plus facile d'indiquer un chiffre, pour lequel la protéogénèse cesse d'augmenter aussi rapidement, il s'agirait d'une concentration de 4/10 % d'urée dans l'expérience de Raaf sur *Endomyces vernalis* ; mais ce n'est là nullement un maximum, la protéogénèse continuant à augmenter avec la concentration croissante en azote du milieu.

4. — Lipogénèse maxima et lipogénèse minima

La lipogénèse est maxima en aérobiose ; la formation d'acides gras et de graisses neutres est nulle en anaérobiose. Dans l'expérience de Raaf, lorsqu'on maintient constante la concentration en glycérides, la lipogénèse est minima pour une concentration d'urée supérieure à 4,10 % chez *Endomyces vernalis*.

Mais il convient de distinguer cette lipogénèse minima de la teneur minima, irréductible, en corps gras ; cette valeur limite est obtenue en soumettant le champignon à l'inanition ; elle est de 1,37 % du poids sec chez *Sterigmatocystis nigra* (Belin) ; ce même auteur interprète cette valeur limite comme élément lipidique cellulaire constant.

Prill et ses collaborateurs (1935) trouvent que les variations de la teneur en graisse chez *Aspergillus fischeri* atteignent surtout les glycérides, tandis que l'élément phosphatidique et l'insaponifiable demeurent relativement constants.

Smedley Mac Léan (1923) avait constaté qu'après extraction directe des lipides à l'éther, il persiste constamment une fraction résiduelle ; d'autres auteurs ont fait, par la suite, des constatations analogues, et on a surtout recherché de nouvelles techniques d'extraction plus complètes et sans altération des corps gras.

Ces recherches ont nécessité le perfectionnement de techniques anciennes d'épuisement et de séparation par l'emploi de solvants divers et successifs, et la création de techniques nouvelles soit d'extraction, soit d'extraction et d'isolement (distillation moléculaire) ; soit d'isolement ou fractionnement par les méthodes d'adsorption et de partition telles qu'elles sont employées pour la séparation des acides aminés.

En effet, cet élément individualisé par Belin et appelé par lui « *élément cellulaire lipidique constant* » est représenté en tout ou en partie par ce non directement extractible ; et abandonnant un point de vue statique, mieux vaut l'appeler, comme l'a fait Béraud, *fraction résiduelle liée à la structure cellulaire* ; elle semble bien liée en effet aux protéides : sur le graphique n° 8, résumant les

résultats obtenus par Raaf dans cette expérience, on constate qu'au-dessous d'une concentration de 1/40 % d'urée, avec *Endomyces vernalis*, les courbes *a*, *c* et *d* s'abaissent presque parallèlement. Il est encore trop tôt pour affirmer si chez les champignons il y a, comme chez certains végétaux supérieurs, corrélation entre le taux des phosphatides et celui des protéides (Guerrant).

Les conceptions actuelles sur l'infrastructure cellulaire tendent à accorder un rôle de plus en plus important aux lécithides dont les molécules sont orientées suivant la disposition de leurs groupements hydro- et éléophiles ; la liaison avec les protéides s'effectuerait soit par des valences secondaires, soit par des cénapses, soit par des structures à symplexe à la manière des complexes de Werner. Quels sont, dans cette structure, la forme physico-chimique et le rôle des éléments d'insaponifiable (stérols, carotènes ou leurs pré-curseurs) ? On ne le sait.

On peut conclure, provisoirement au moins, à la dualité physiologique des corps gras dans les organismes : lipides d'une part, lipides complexes et éléments d'insaponifiable pour une partie d'autre part, en attendant que soient précisés leurs rapports.

Il reste encore à préciser si en faisant varier seule la concentration de l'élément azoté, la lipogénèse présente toujours un *maximum* net, comme il ressort des expériences de Raaf sur *Endomyces vernalis*.

5. — Le problème de la formation des graisses à partir des protéides

En anaérobiose, on admet que certains alcools supérieurs constituant le fusel proviennent d'acides aminés.

En aérobie, on observe des enclaves lipidiques souvent considérables dans les cellules les plus âgées ou mortes, si bien que l'on a pu parler de la lipogénèse dans ces conditions comme d'un processus de dégénérescence.

Belin (1926) démontre d'une façon simple que les graisses ne se forment pas aux dépens des matières protéiques ; que la concentration en peptone du milieu augmente, *Sterigmatocystis nigra* ne produira pas davantage de lipides.

Nous avons vu, lors de l'étude de l'action d'un déséquilibre azoté, que les deux courbes de la lipogénèse et de la protéogénèse se croisent (Heide, Raaf).

De même, au cours de l'inanition, comme le démontre Raaf sur *Endomyces vernalis*, le taux de l'azote diminue faiblement et celui des lipides rapidement ; il transporte à une date déterminée le

champignon sur une solution type Wöltje, mais sans glucide et sans azote :

TABLEAU XXVII (RAAF)

DATE DE TRANSPOSITION (en jours)	DATE DE LA RÉCOLTE DÉFINI- TIVE (en jours)	POIDS DU CHAMPI- GNON SEC	GRAISSE		AZOTE		SUCRE RESTANT DANS LE MILIEU EN MGR.	AZOTE RESTANT DANS LE MILIEU EN MGR.
			en p. 100 du cham. sec	en mgr.	en p. 100 du cham. sec	en mgr.		
0....	6	392	7,2	28,2	6,05	22,7	131	1,12
2....	8	361	7,0	25,3	6,1	22,0	125	1,74
4....	10	352	6,5	22,8	6,0	21,2	136	2,09
10....	12	334	5,2	16,8	5,9	19,6	—	—

Raaf démontre, par une expérience très élégante, qu'il n'y a pas de formation des lipides aux dépens des protéides ; en remplaçant le sable de quartz par de la permutite, il y a adsorption de l'ion ammoniacal libéré, mais l'ammoniaque ainsi adsorbé devient récupérable par l'organisme fungique dès que la concentration de l'azote ammoniacal a atteint une certaine limite inférieure. *Endomyces vernalis* assimilant de l'urée ou de l'asparagine libère de l'ammoniaque ; il n'en libère pas à partir du glyocolle, de l'acide aspartique, de la leucine, de la tyrosine, de l'acétamide et du succinamide ; Raaf constate qu'en milieu sur permutite, en présence d'urée ou d'asparagine, la protéogénèse est diminuée par rapport à un témoin cultivé en milieu sur sable de quartz, tandis que la lipogénèse s'accroît ; le déséquilibre azoté est donc bien lié, dans ce cas, à une absence d'utilisation de l'azote ammoniacal nécessaire pour l'édification des substances protéiques.

L'ensemble de ces constatations doit mettre fin à la notion de dégénérescence grasseuse de la matière vivante, qui n'a pour elle que les apparences, mais ne repose sur aucun fait précis.

L'aliment azoté est bien utilisé pour la protéogénèse ; Jacquot-Armand et Raveux expérimentent sur *Sterigmatocystis nigra* et constatent que la teneur en azote du mycélium augmente avec la concentration en azote du milieu, que l'aliment azoté soit le nitrate de potassium, le sulfate d'ammonium, l'asparagine, le glyocolle ou la peptone ; ces auteurs constatent encore, comme cela avait déjà été établi, que le taux d'azote de la moisissure baisse en fonction

du temps ; c'est la coïncidence d'une diminution du taux de l'azote et d'une augmentation des lipides facilement observables sur de vieilles cultures qui ont donc incité, à tort, à parler de dégénérescence grasseuse et à considérer la lipogénèse comme un processus de dégénérescence. Jacquot-Armand et Raveux font encore une observation intéressante : la teneur en azote du mycélium n'augmente pas, diminue plutôt, légèrement, avec l'augmentation de la concentration du milieu en nitrate d'ammonium ; mais sur d'autres souches de *Sterigmatocystis nigra*, ils font, à la suite de Steinberg et Bowling, la constatation inverse.

6. — Action des substances azotées sur la production des carotènes

Certaines circonstances, qui favorisent la lipogénèse, favorisent également la production des carotènes et leur persistance par action antioxygène des lipides et des carotènes.

TABLEAU XXVIII (SCHOPFER)

ASPARAGINE P. 100	CHAMPIGNON POIDS SEC EN MGR.	CAROTÈNES MGR.	CAROTÈNES EN P. 100 DU POIDS SEC
4.....	597	0,54	0,090
2.....	416	0,399	0,096
1.....	193	0,166	0,086
0,5.....	115	0,0945	0,082
0,3.....	65	0,156	0,086
0,2.....	42	0,0346	0,082
0,1.....	37	0 025	0,063

Schopfer (1928) démontre que l'apparition des pigments caroténoïdes chez *Mucor hiemalis* est favorisée par un certain déséquilibre azoté, ce qui correspond, nous l'avons vu, à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire comme le ferait l'oxygénation. D'autre part, Schopfer indique que la teneur en carotènes semble varier parallèlement à la teneur en lipides.

Mais avec *Phycomyces blakesleanus* cultivé sur milieu à l'asperagine, Schopfer trouve un résultat discordant :

De même lorsque la concentration en glycocolle passe de 0 gr. 23 à 0 gr. 24, la teneur en carotène augmente de 0,09 à 0,14 %.

Avec le nitrate d'ammonium (il est intéressant de rapprocher ce nouveau résultat de celui obtenu par Jacquot-Armand et Raveux), Schopfer n'obtient qu'une faible variation du poids de la culture et du carotène, mais la quantité de carotène est d'emblée élevée : 0,23 à 0,25 % du poids sec.

J. Méry (1948) démontre de façon beaucoup plus directe l'influence de la nature de la source azotée et du déséquilibre azoté sur la formation et la persistance des carotènes. Cet auteur établit qu'avec la leucine, la tyrosine, le tryptophane, de même qu'avec un déséquilibre azoté, la persistance de la pigmentation des *Rhodotorulacées* était quasi-indéfinie.

Il en est de même avec les mélanines ; et nos expériences faites avec *Pullularia pullulans* démontrent que les facteurs énumérés ci-dessus favorisent l'apparition de pigments mélaniques.

7. — Assimilation des substances azotées et valeur catalytique de l'élément azoté

En réalité, on doit dissocier dans les considérations précédentes l'influence de la nature de l'élément azoté et l'action d'un déséquilibre azoté d'une part, et la valeur d'assimilation de ces substances azotées d'autre part. Par exemple, chez les levures, l'asparagine est constamment assimilée sauf, semble-t-il, chez les *Klæckera*. L'assimilation de l'urée est inconstante, souvent tardive et discrète. L'assimilation du nitrate de potassium ne se rencontre que chez quelques espèces, par exemple *Torulopsis utilis*, *Rhodotorula aurantiaca*, etc... Nous avons reconnu que *Rhodotorula rubra* assimile la citrulline, l'arginine, la xanthine, l'acide urique. L'étude de l'assimilation des bases puriques pose un problème particulièrement intéressant, car il en est qui sont assimilables et d'autres qui, non assimilables, peuvent avoir une action particulière comme facteur de croissance ou autre, par exemple la théophylline, ainsi que nous avons pu le constater. Il est à remarquer que la structure base purique se retrouve dans de nombreux catalyseurs cellulaires.

Ainsi, l'élément azoté peut avoir un rôle catalytique, qu'il soit ou non assimilable. Nielsen et Hartelius expérimentent sur la levure ; s'il est vrai que celle-ci, en présence de glycérides et d'éléments minéraux nécessaires, peut faire la synthèse de ses protéines en utilisant une source d'azote minérale, il est certain que des substances, telles la β alanine, l'asparagine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, la lysine, l'arginine et la méthionine, agissent sur la croissance à des doses où elles ne peuvent agir comme aliment. Le mécanisme de cette action, ou ses mécanismes, n'est pas encore déterminé.

Conclusions à ce chapitre

Il y a de grandes variations dans l'assimilation de substances azotées par les champignons, variations qui dépendent de la nature de la substance azotée et de l'organisme fongique considéré.

Les substances azotées ont parfois un rôle d'élément catalytique agissant notamment sur la croissance.

Il convient de dissocier, dans cette action si complexe de l'élément azoté, son rôle dans l'assimilation, dans la croissance, dans la protéogénèse, dans la lipogénèse, dans la respiration, dans la production aérobie de gaz carbonique, dans la fermentation et la respiration intra-moléculaire, enfin dans certains métabolismes particuliers tels que l'édification de catalyseurs cellulaires et la production de pigments.

On constate que les acides aminés qui favorisent le pouvoir respiratoire sont ceux aussi qui favorisent la lipogénèse ; le déséquilibre azoté favorise hautement la lipogénèse. Il faut distinguer l'action du déséquilibre azoté de celle d'une concentration croissante en glycides à taux d'azote constant.

Déséquilibre azoté, emploi de la leucine, de la tyrosine et du tryptophane favorisent encore la production et la persistance de pigments caroténoïdes, la production de pigments mélaniques ; ces constatations ont servi de base à la notion de convergence physiologique (voir p. 378).

Les facteurs précités agissent, de même qu'une augmentation de la tension en oxygène, comme s'ils tendaient à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire au delà de sa valeur normale.

Enfin, les expériences de Raaf ont définitivement démontré que les lipides ne pouvaient se former aux dépens des matières protéiques chez les champignons. Heide et Raaf ont établi que protéogénèse et lipogénèse variaient en sens inverse. Mais aux limites, se posent des problèmes particuliers sur les relations entre corps gras et protéides, dans la structure et le fonctionnement cellulaires.

Le rôle de la lipogénèse dans la respiration cellulaire est déjà ainsi partiellement démontré.

IX. — ACTION DE SUBSTANCES COMPLEXES OU EN MÉLANGE

1. Leur absorption. — L'absorption de substances complexes ou en mélange présente des différences imprévisibles avec l'absorption de substances plus simples dont elles représentent une combinaison ou un mélange.

L'étude de l'absorption nécessite d'envisager séparément le facteur cellulaire et l'action du milieu extérieur.

Il y a *sélectivité* dans l'absorption ; le mot *sélectivité* masque simplement notre ignorance de son mécanisme précis. On parle aussi de *perméabilité* cellulaire ; suivant la célèbre théorie d'Overton, fondée sur la nature lipido-protéidique de la membrane cellulaire et sur le fait que les substances tensio-actives tendent à se concentrer aux interfaces, l'absorption de diverses substances croît avec la liposolubilité ; en anaérobiose, où le nombre des surfaces et interfaces cellulaires se restreint, où la synthèse des lipides et des carotènes, substances tensio-actives par excellence, fait défaut, la perméabilité cellulaire doit être augmentée ; c'est ce que constate Dixon avec le glycose. D'autre part, la membrane cellulaire doit être considérée comme étant en perpétuel état de synthèse, la cellule comme édifiant constamment des substances tensio-actives (Schaeffer). Enfin, les phénomènes d'orientation moléculaire, qui règlent la disposition des molécules suivant la nature et la proportion des groupements hydrophiles et éléophiles, tant au niveau de la membrane cellulaire que des substances y pénétrant, impliquent la coexistence d'autres phénomènes moléculaires : modifications de *tension superficielle* déjà vues, *imbibition*, et les groupements hydrophiles qui appartiennent à une substance insoluble exercent néanmoins une attraction sur l'eau, *adsorption* ; aux phénomènes d'adsorption correspondront forcément des phénomènes de *désorption* ; on peut ainsi expliquer qu'au niveau des surfaces enzymatiques, l'alcool désorbé au fur et à mesure de sa synthèse soit entièrement excrété et n'exerce pas d'action toxique dans les milieux de fermentation où il s'accumule. Ainsi, si en anaérobiose la perméabilité cellulaire paraît augmentée pour le glycose, elle semble être diminuée pour l'alcool. Les liens étroits entre phénomènes d'absorption, processus d'excrétion et processus de synthèse au niveau des surfaces cellulaires, font concevoir qu'il existe des différences dans la *vitesse d'absorption* et surtout de *fixation*, pour des corps en mélange, suivant qu'ils sont plus ou moins rapidement engagés dans un circuit métabolique.

L'absorption dépend évidemment aussi de facteurs extérieurs : température, réaction du milieu, concentration en substances dissoutes ; la tension en oxygène est, nous l'avons vu, un facteur essentiel.

2. Leur assimilation et leur fermentation. — *L'attaque préférentielle* consiste en une assimilation ou une fermentation *élective* en présence de substances en mélange.

Un exemple d'assimilation élective est donné par *Sterigmatocystis nigra* qui, en présence de nitrate d'ammonium, assimile de préférence l'ion ammonium. Certains sels d'ammonium (succinate, citrate, tartrate, etc...) ne sont utilisables en anaérobiose que comme source d'azote, et peuvent l'être comme source unique à la fois d'azote et de carbone en aérobiose.

GRAPHIQUE 15 (STEPHENSON et YUDKIN)

La fermentation élective a été étudiée notamment par Fernbach et Schiller (1924) : les levures de Gayon et de Dubourg font disparaître plus vite le dextrose que le lévulose, de sorte que, vers la fin de la fermentation, le milieu ne renferme plus que du lévulose ; si les levures de Sauternes paraissent faire exception, c'est parce qu'à partir d'un certain stade de la fermentation, initialement analogue, le phénomène se renverse.

L'attaque préférentielle pourrait s'expliquer par une inhibition qui s'exercerait à l'égard d'une adaptation enzymatique définie ; le graphique suivant dû à Stephenson et Yudkin (1936) démontre l'effet inhibiteur, chez *Saccharomyces cerevisiae*, du glycose sur l'adaptation au galactose (graphique 15).

L'indépendance relative entre les phénomènes d'assimilation ou de fermentation d'une part, et la croissance d'autre part est bien établie par le fait que, dans certains cas, il peut y avoir adaptation enzymatique sans qu'il y ait multiplication cellulaire (Dienert 1900,

TABLEAU XXIX

Influence de quelques substances en mélange sur la croissance
et de la pigmentation de *Rhodotorula sanniei*
(d'après Fromageot et Tchang, 1938)

SOURCE DE CARBONE	CROISSANCE	A	B	C
Glycose.....	+++	3	3	1
Alcool amylique.....	0	—	—	—
Id. + glycose.....	+	—	—	—
Glycérol.....	+++	3	∞	—
Id. + glycose.....	+++	3	2	1
Erythrite.....	+	—	—	—
Id. + glycose.....	++	3	2	1
Ac. gluconique.....	+	—	—	—
Id. + glycose.....	+++	3	9	8
Ac. butyrique.....	+++	3	6	15
Id. + glycose.....	0	—	—	—
Ac. citrique.....	0	—	—	—
Id. + glycose.....	+++	3	5	R/2 puis jaune
Ac. succinique.....	+	—	—	—
Id. + glycose.....	++	3	6	16

A = nombre de jours nécessaires pour obtenir la pigmentation maxima.
B = nombre de jours pendant lesquels persiste la pigmentation maxima.
C = nombre de jours nécessaires pour la décoloration.
R/2 = cultures restant plus de 20 jours en demi-teinte.

Stephenson et Stickland 1933) ; on observe notamment, au cours de la fermentation alcoolique, une adaptation enzymatique considérable sans rapport avec la multiplication cellulaire restreinte en anaérobiose.

3. Leur action sur la croissance. — Il y a un avantage évident à se servir, pour la confection de milieux de culture courants, de produits naturels soit bruts, soit demi-raffinés (Langeron et Milochevitch, 1930) : gélose non lavée, ni filtrée ; eau de robinet ; glycose ou mal-

TABLEAU XXX

Croissance d'*Ustilago violacea* en présence de différentes sources d'azote (valeur néphélométrique) (d'après Schopfer et Blumer, 1938)

	SANS ANEURINE		AVEC 0,02 D'ANEURINE	
	13 jours	21 jours	13 jours	21 jours
Témoin sans azote.....	5,0	4,0	3,0	4,5
Sulfate d'ammonium.....	4,5	5,0	46,0	52,0
Citrate d'ammonium.....	10,0	8,5	48,5	65,0
Nitrate d'ammonium..	9,0	9,0	18,5	19,0
Tartrate d'ammonium.....	9,5	8,0	47,5	63,0
Chlorure d'ammonium.....	8,0	5,5	40,0	47,0
Carbonate d'ammonium.....	4,0	4,0	27,0	39,0
Nitrate de potassium.....	5,5	6,0	9,0	12,5
Nitrate de calcium.....	7,0	6,5	9,0	21,0
Asparagine.....	3,0	3,0	44,0	56,0
Urée.....	6,0	23,5	28,0	29,5

TABLEAU XXXI

Croissance d'*Ustilago violacea* en présence de différents di- et tripeptides (d'après Schopfer et Blumer, 1938)

SOURCE D'AZOTE	VALEUR NÉPHÉLO- MÉTRIQUE APRÈS 14 JOURS	SOURCE D'AZOTE	VALEUR NÉPHÉLO- MÉTRIQUE APRÈS 14 JOURS
Glycylglycine.....	35,5	l-leucyl l-tyrosine.....	30,0
Glycyl l-leucine.....	35,0	Chloracétyle l-tryptophane	0,
Glycyl d l-leucine...	31,0	d l-alanylglycine.....	46,3
Glycyl l-tryptophane	0	d leucylglycylglycine.....	15,8
Glycyl l-tyrosine....	37,5	l-leucylglycylglycine.....	41,1
d-leucylglycine.....	6,0	d l-leucylglycylglycine....	41,7
l-leucylglycine.....	36,0	diglycylglycine.....	32,5
d l-leucylglycine....	34,0		

tose massés bruts, mélasses ; touraillons, peptones. Aucun milieu synthétique, si bien conditionné soit-il, ne favorise la croissance d'une façon aussi remarquable que ces substances complexes chez les champignons.

Déjà, dans le domaine bactériologique, les travaux de Snell et de ses collaborateurs ont montré, grâce à l'emploi de bactéries très exigeantes en substances azotées et facteurs de croissance divers, l'existence d'interactions ; certains acides aminés non indispensables dans tel mélange le deviennent dans tel autre, leur extraction inhibant la croissance ; il faut donc distinguer, pour les substances complexes ou en mélange, une valeur d'assimilation et une valeur catalytique que traduisent ces interactions.

L'exemple suivant, dû à Fromageot et Tchang (1938), montre l'action de substances en mélange sur la croissance et la pigmentation de *Rhodotorula sarniei* (tableau XXIX).

Schopfer et Blumer (1938) étudient l'action de différents sels d'ammonium sur la croissance d'*Ustilago violacea* (tableau XXX).

Ils étudient de même l'action de différents di- et tripeptides (tableau XXXI).

Monod (1941) découvre la *diauxie*, phénomène bien différent de l'attaque préférentielle et qui consiste en une croissance en deux ou plusieurs temps, séparés par une phase d'arrêt, voire négative ; au cours du premier temps, il y a assimilation d'un sucre A, au cours d'un second, d'un sucre B ; tandis que l'assimilation des sucres A serait liée à l'existence d'enzymes constitutifs, celle des sucres B le serait à celle d'enzymes adaptatifs au sens où les a définis Karström (1933) ; en réalité, comme l'indique Monod, le mécanisme de ce phénomène n'est pas encore déterminé. Son étude, qui ne semble pas avoir été faite chez les champignons, permettrait une classification physiologique des sucres et des substances azotées.

4. Action sur la consommation d'oxygène, sur la production aérobie, sur la production anaérobie de gaz carbonique. — Le tableau ci-dessous indique des résultats obtenus par Béraud :

Le passé immédiat des champignons, et notamment des levures, joue un grand rôle sur l'intensité de leur respiration et de leur pouvoir fermentatif ; nous avons remarqué que les champignons prélevés sur des supports naturels, tels que des résines ou des gommés, ont un pouvoir respiratoire et un pouvoir fermentatif particulièrement intenses, qui, par la suite, iront en s'atténuant lors de repiquages sur les milieux habituels.

5. Action sur la lipogénèse. — Stephenson et Whetham (1922) expérimentent sur *Bacillus phlei*, avec une source d'azote convenable et 2 p. 100 de glycose. La protéogénèse est normale et la lipogénèse modérée ; en remplaçant le glycose par de l'acide acétique,

TABLEAU XXXII

Action de substances complexes ou en mélange sur la consommation d'oxygène, la production aérobie de gaz carbonique, la production anaérobie de gaz carbonique chez la levure de boulangerie préalablement cultivée sur ces milieux.

(d'après Béraud)

NATURE DE L'ALIMENT AZOTÉ	Q O ₂	Q N ₂ CO ₂	Q O ₂ CO ₂
Tyrosine et leucine.....			
+ glycoColle.....	38	0	67
+ d-alanine.....	39	0	68
+ asparagine.....	39	10	63
+ l-tryptophane.....	49	0	70
+ l-proline.....	42	0	76
+ dl-histidine.....	46	0	65
Asparagine + urée.....	30	10	69
Caséine + tryptophane.....	45	8	74
Peptone sèche Chapoteaut....	45	3	90
Touraillons.....	53	0	95

GRAPHIQUE 16 (STEPHENSON et WHETHAM)

Rectangle noir : matière azotée synthétisée.

Rectangle gris : lipides synthétisés.

1. — 1 % de glucose + 1 % d'acide acétique.

2. — 2 % de glycose.

TABLEAU XXXIII
(d'après Heide)

	EQUIVALENT EN ASPARAGINE : 0,0934 D'AZOTE				EQUIVALENT EN ASPARAGINE : 0,0467 D'AZOTE			
	champ. sec	graisse brute en p 100 ds. h. sec	pH initial	pH final	champ. sec	graisse brute en p 100 ds ch. sec	pH initial	pH final
Urée	300	28,2	3,6	5,05	257,0	40,8	3,5	4,3
Tartrate d'amm	301,0	32,3	5,35	3,3	—	—	—	—
Sulfate d'amm	—	—	—	—	52,0	12,1	4,0	2,25
Succinate d'amm	322,0	37,4	5,3	4,9	243,0	43,8	5,3	3,9
Phosphate d'amm	103,0	8,45	5,3	2,35	187,0	38,3	5,3	2,65
Nitrate de sodiu ..	266,0	20,1	3,35	8,75	261,0	38,1	3,55	6,7
Nitrate d'amm	—	—	—	—	229,0	43,0	3,65	4,15

la lipogénèse est nulle ; mais avec un mélange à 1 p. 100 de l'un et de l'autre, la lipogénèse est plus accentuée qu'en milieu glycosé à 2 p. 100 (graphique 16).

Nous n'avons trouvé aucune donnée relative à de telles expériences chez les champignons.

Heide étudie l'action de divers sels d'ammonium et autres sur la lipogénèse.

Ainsi, les sels agissent comme des substances complexes pour lesquelles interviennent, du point de vue absorption et assimilation, l'ionisation, la concentration, la nature de l'anion ou du cation ; il existe des différences, en ce qui concerne la perméabilité cellulaire, entre ions Ca^{++} , K^+ , Na^+ , NH_4^+ d'un même sel.

Conclusions à ce chapitre. — L'importance de l'action de substances complexes ou en mélange est considérable. Que le milieu soit

ou non synthétique, il existe des actions de substitution et des interactions de substances en mélange au niveau des surfaces cellulaires ; le mécanisme de ces actions n'est pas encore élucidé ; d'ailleurs, il faut considérer, du point de vue cellulaire, l'état perpétuel de synthèse et les possibilités d'adaptation.

Finalement, une même substance peut être assimilée ou avoir un rôle essentiel comme catalyseur, soit dans le sens d'une action inhibitrice, soit dans le sens d'une action favorisante.

X. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION DU MILIEU

1. **Concentrations minima.** — Les notions de *seuil*, de *facteur limitant* prennent une importance croissante en matière de physiologie générale.

A vrai dire, chez les champignons, organismes aérobies, on devrait plutôt s'attacher à déterminer le seuil de la lipogénèse et le seuil de la formation d'alcool, en fonction de la tension en oxygène, en diminuant celle-ci, comme nous l'avons déjà indiqué.

De même, il y a un seuil, ou tension en oxygène minima, nécessaire à la multiplication cellulaire chez ces mêmes organismes aérobies.

Les expériences de Raaf avec la permutite nous ont enseigné que la tension en ammoniacque dans la cellule d'*Endomyces vernalis* était un facteur limitant pour la protéogénèse, que la diminution de cette tension en ammoniacque équivalait par suite à l'action d'un déséquilibre azoté, tel qu'il est réalisable dans un milieu de culture ; c'était là une découverte considérable fixant bien certains rapports entre la lipogénèse et la protéogénèse.

Hoogerheide (1935) étudie le rôle, comme facteur limitant, de la concentration en sucre sur la respiration, la fermentation anaérobie, la production aérobie de gaz carbonique, par la méthode manométrique de Warburg, et ceci en vue d'établir le mécanisme de la réaction de Pasteur. Il obtient le résultat suivant (graphique 17).

Ces résultats sont-ils dus à une plus grande perméabilité de la cellule pour le glucose en anaérobiose, comme l'indique Dixon ? La respiration est-elle, en deçà des concentrations minima pour la production aérobie de gaz carbonique, un phénomène résiduel ? Quoi qu'il en soit, Hoogerheide a démontré que la concentration en glycérides minima était un facteur limitant, dont la valeur différait suivant qu'il s'agit de production aérobie de gaz carbonique, de respiration ou de fermentation anaérobie.

On peut s'attaquer encore d'une manière différente à ce problème

GRAPHIQUE 17 (HOOGERHEIDE)

Influence de quantités croissantes de glucose sur la respiration (C), la fermentation aérobie (B) et la fermentation anaérobie (A) de la levure pressée.

En ordonnées : sucre consommé en millimol. $\times 22 \times 10^{-6}$.

En abscisses : concentration en sucre pour 100.

expérimental, en utilisant des substances qui bloquent l'action du système des accepteurs d'oxygène, d'où il s'ensuit que la pression en hydrogène cellulaire augmenterait, que le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire s'abaisserait. Avec les cyanures, il apparaît qu'il persiste une respiration résiduelle, il y a augmentation de la teneur en flavines (Pett 1935, Gourevitch 1938). Un effet inattendu est que le suc de levure perd la plus grande partie de sa vertu fermentaire en présence d'acide cyanhydrique ; on se demande pourquoi cette énorme

nocivité, qui n'est en rapport ni avec la constante d'adsorption de l'acide (Warburg), ni avec sa toxicité relativement faible à l'égard de la levure ; il suffit d'ailleurs d'un courant d'air pour entraîner HCN et rendre au milieu son activité (*in Colin*, 1945). Concernant la faible toxicité de l'acide cyanhydrique, nous avons pu nous en rendre compte personnellement en laissant diffuser, par la méthode de Heatley, une solution de cyanure de potassium à 1 p. 100 dans une plaque de géloseensemencée avec *Candida krusei* ; contrairement à toute attente, nous avons constaté que les sulfocyanures étaient au moins aussi toxiques *in vivo* ; ce qui nous a amené à penser que le soufre cellulaire, abondant chez les levures, n'était pas indifférent dans les réactions secondaires observées par emploi de l'acide cyanhydrique. Ainsi, nous pensons que la méthode qui utilise la cystéine (Quastel et Wheatly 1932, Hoogerheide 1935, Kluyver et Custers 1940) est plus appropriée à l'étude d'une dissociation de la respiration, de la production aérobie de gaz carbonique, de la fermentation anaérobie. L'importance du rôle des groupements thiol et disulfure, de leur proportion relative, apparaît comme toujours plus grande, parce qu'ils régleraient la pression d'hydrogène cellulaire et orienteraient ainsi les activités diastasiques comme il a été démontré par les travaux de Hopkins et ses collaborateurs ; il faut, dans toutes ces expériences, tenir compte d'un fait essentiel, c'est que la cystéine est ajoutée, mais que le glutathion est fixé solidement dans la cellule d'où on ne peut l'extraire que par autolyse.

On peut donc conclure que, expérimentalement, il est difficile d'établir une action *a minima*, d'en déduire un mécanisme précis *in vivo*, et que, d'autre part, les seuils varient suivant la nature des facteurs limitants considérés. On ignore notamment par quel mécanisme la production d'alcool se substitue à la synthèse des lipides, lorsque diminue la tension en oxygène d'une atmosphère déterminée.

2. Concentrations maxima et action de la pression osmotique. — Elever la concentration en une substance a également pour conséquence d'élever la pression osmotique du milieu. Nous avons vu que la tolérance des champignons à une concentration élevée en glycérides était beaucoup plus grande qu'à une concentration relativement faible en alcool ou en glycérol, la perméabilité cellulaire pour ces substances diffusibles paraissant être supérieure en aérobiose ; nous avons indiqué aussi que les phénomènes d'adsorption-désorption, au cours de la synthèse de ces substances toujours constatée en anaérobiose, expliquerait mieux que des différences de perméabilité

le rejet à l'extérieur de ces substances (alcool et glycérol) lorsqu'elles se synthétisent ; cependant, une telle théorie ne fait que reculer les limites du problème, sans apporter une solution pratique à la question suivante : Comment le glycérol, dont on ne constate jamais la présence à l'état libre dans des conditions d'aérobiose stricte, est-il synthétisé pour faire partie de la molécule des graisses neutres et des phosphatides ? C'est à se demander si cette synthèse ne se fait pas en bloc, sans intervention de lipase, dont la présence paraît jusqu'ici inconstante chez les champignons !

Parmi les organismes supportant les concentrations les plus élevées, nous avons cité les *Aspergillacées* et les *Fusarium*, biologiquement voisins ; ce sont aussi les organismes qui font les synthèses les plus diverses et les plus poussées à partir des milieux synthétiques les plus simples, ne renfermant par exemple qu'une substance ternaire, un élément azoté minéral, des phosphates et des éléments minéraux nécessaires ; ce sont aussi les organismes qui supportent les plus grandes variations dans la réaction du milieu ; leur pouvoir d'adaptation à des variations de la tension en oxygène est considérable, bien qu'ils soient strictement aérobies.

Les modifications morphologiques observées sous l'effet de l'élévation de la pression osmotique consistent notamment en phénomènes de vésiculation, c'est-à-dire production de renflements mycéliens très apparents en culture sur lame (Langeron et Milochevitch, 1930). Les variations de la pression osmotique influent surtout sur la sporulation et la germination des spores. Les travaux de Blochwitz (1930) et Heintzeler (1939), en se basant sur le pouvoir de germination, donnent une classification des champignons cultivables qui est la suivante :

Espèces xérophiles dont le pouvoir de germination se maintient pour des tensions de vapeur relatives (1) de 80 p. 100.

Espèces mésophiles dont le pouvoir de germination se maintient pour des tensions de vapeur relatives de 80 à 90 p. 100.

Espèces hygrophiles dont le pouvoir de germination se maintient pour des tensions de vapeur relatives de 90 p. 100.

Les *Aspergillacées* sont des xérophiles. Les *Mucorales* et certaines *Ustilaginales*, des mésophiles. *Geotrichum candidum* se place entre méso- et hygrophiles.

Indépendamment du pouvoir de germination, il faut considérer

(1) Les tensions de vapeur relative sont en relation directe avec l'abaissement de la tension de vapeur ; des tables donnent la valeur correspondante de l'une et de l'autre exprimée en pression osmotique.

les limites de tension de vapeur relatives pour la formation des conidies et des sporanges : augmentée de + 3 p. 100 par rapport aux valeurs déjà indiquées pour la formation des conidies chez les Ascomycètes ; de + 5 à 8 p. 100 pour la formation des sporanges chez les Phycomycètes. Toutes ces valeurs limites ne sont effectives qu'aux températures optima et varient évidemment avec la nature de la solution ; il faut les augmenter de 12 p. 100 avec des solutions de CaCl_2 , de 6 p. 100 pour les solutions équilibrées ou contenant soit NaCl , soit KCl ; cependant, certaines espèces supportent moins bien le NaCl que le KCl .

L'accommodation osmotique est variable suivant les groupes, genres et espèces ; elle est importante généralement chez les Plectascales, chez les Dématiées, etc...

L'élévation de la pression osmotique n'a qu'une faible influence sur la fermentation alcoolique vraie, mais elle favorise la respiration intra-moléculaire et surtout la lipogénèse ; en effet, dans ce dernier cas, si, laissant la concentration en glycérides et en azote constante, on augmente la pression osmotique par addition d'un sel, la lipogénèse augmente, c'est ce que démontre le tableau suivant dû à Heide (tableau XXXIV).

TABLEAU XXXIV (HEIDE)

ESSAIS	SOL. DE WOLTJE + ASPARAGINE + NaCl EN P. 100	CHAMPIGNON, POIDS SEC EN MG.	GRAISSE BRUTE EN % DANS LE CHAMPIGNON SEC	GRAISSE TOTALE EN MG
a.....	0	203,0	42,8	87,0
b.....	0,062	160,0	40,1	64,2
c.....	1,25	145,0	41,3	59,9
d.....	2,5	129,0	44,5	57,4
e.....	5	51,0	49,4	25,2

Mais insistons encore sur le fait que, dans ces expériences et dans d'autres, on doit tenir compte, indépendamment de la valeur de la pression osmotique, de la nature du sel dissous.

Il est un point de physiologie comparée intéressant, c'est la confrontation de l'influence de la pression osmotique sur les champignons et sur les végétaux chlorophylliens ; Laurent, Molliard,

Lhéritier, Combes, etc... ont mis en évidence que la pression osmotique s'élevait chez ces derniers sous l'influence soit d'une lumière intense, soit de l'air sec, soit d'une culture en milieu liquide concentré ; les modifications sont surtout évidentes au niveau des feuilles : tissu palissadique plus développé, chloroplastes plus profonds ; au niveau de l'épiderme, davantage de cutine ; par ailleurs, la subérine est plus abondante ; or, subérine et cutine sont des substances complexes se colorant comme les lipides par le soudan III. Par contre, en milieu aquatique, la subérine et la cutine font pratiquement défaut, mais il y a davantage de lipides phosphorés ; Gertrude et Combes concluent que ces derniers font partie intégrante de la matière vivante. Ces faits ne sont nullement en contradiction avec ce qui existe chez les champignons ; ils apportent quelques suggestions nouvelles, mais il est encore difficile de tirer des conclusions.

En résumé, l'élévation de la pression osmotique agit, chez les champignons, en favorisant la lipogénèse. Tout se passe comme si elle tendait, en aérobiose, à provoquer une élévation du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire.

3. Action de la déshydratation. — Il s'agit d'une action relativement indépendante de l'augmentation de la concentration en glycides et de l'élévation de la pression osmotique. Il semble que la déshydratation (Halden, 1934) et l'action d'agents déshydratants favorisent la lipogénèse ; peut-être la diminution de la teneur en eau favorise-t-elle, dans certaines conditions, la constitution de substances hydrophobes.

La déshydratation favorise encore l'immersion dans les milieux de culture solides, la filamentisation des levures, la production de pigments mélaniques, celle de coremium.

XI. — INFLUENCE DE LA RÉACTION DU MILIEU

Le tableau suivant dû à H.-N. Johnson (1923) montre les limites de pH compatibles avec la vie pour différents organismes fongiques :

Ici encore, on retrouve cette ressemblance physiologique des *Aspergillacées* et des *Fusarium*.

Cependant, les valeurs du pH les plus favorables à la croissance se trouvent du côté acide, au voisinage de la neutralité.

L'étude de l'influence de la réaction du milieu se trouve être difficile, car il faut tenir compte non seulement de sa valeur, mais

TABLEAU XXXV (H. N. JOHNSON)

	pH INFÉRIEURS	pH SUPÉRIEURS
<i>Penicillium variable</i>	1,6-1,8	10,1-11,1
<i>Aspergillus oryzae</i>	1,6-1,8	9,0- 9,3
<i>Penicillium italicum</i>	1,9-2,2	9,1- 9,3
<i>Sterigmatocystis nigra</i>	2	6
<i>Fusarium oxysporum</i>	1,8-2,0	9,2-11,1
<i>Fusarium bullatum</i>	2,0 2,2	9,2-11,2
<i>Mucor glomerula</i>	3,2-3,4	8,7- 9,2

encore du facteur qui détermine la modification de la réaction du milieu, de la variation du pH au cours de l'expérience, du pouvoir tampon du milieu, du pouvoir tampon cellulaire, qui est évidemment le plus considérable chez les champignons tolérant les variations de pH les plus grandes, tels les *Aspergillacées* et les *Fusarium*.

1. Action sur l'assimilation. — Molliard (1918) étudie l'influence de la réaction du milieu sur la consommation du glycose et du lévulose par *Sterigmatocystis nigra* cultivé sur le milieu suivant :

eau	1 000 cm ³
saccharose	46 gr. 7
tartrate neutre d'ammonium	9 gr. 2
sulfate de magnésium	0 gr. 8
phosphate monopotassique	0 gr. 8
sulfate de fer	0 gr. 046
sulfate de zinc	0 gr. 046

Ce milieu de Molliard diffère de celui de Raulin par le fait que l'azote est fourni par un seul corps sous forme uniquement ammoniacale et dans un rapport au carbone égal à 1/16, alors qu'il est de 1/18,3 dans le liquide de Raulin ; cette dose d'azote est telle que le sucre et l'ammoniaque utilisés disparaissent en même temps du milieu. Normalement, le rapport de consommation du glycose au lévulose est d'abord sensiblement plus grand que l'unité, puis il s'abaisse rapidement, et les deux sucres se trouvent coexister jusqu'à leur complète utilisation. Les résultats se montrent comparables si on remplace le tartrate par du nitrate ou du chlorure d'ammonium ou encore si on abaisse le rapport N/C à 1/32.

Mais si on acidifie ce milieu par de l'acide chlorhydrique à doses

croissantes, après y avoir remplacé le tartrate par le chlorure d'ammonium, on obtient les résultats suivants qui se rapportent à une teneur initiale en saccharose correspondant à 7 gr. 100 de sucre interverti :

TABLEAU XXXVI (MOLLIARD)

DOSE DE HCl (MG.)	ÂGE DES CULTURES (JOURS)	RÉCOLTE (MG.)	SUCRES RESTANT (MG.)		RAPPORT DE CONSOMM.
			Glucose	Lévulose	
290.....	8	1.330	1.175	2.920	3,77
«	16	1.450	980	2.712	3,06
«	21	1.511	0	2.066	2,39
310.....	8	834	1.416	3.244	6,97
«	13	1.018	708	3.072	5,94
«	21	1.243	0	2.555	3,56

Le rapport de consommation glycose/lévulose s'est modifié considérablement et le glycose disparaît, à un moment où il reste encore des quantités considérables de lévulose. Le glycose serait surtout utilisé pour la respiration, le lévulose pour l'édification des tissus, car les récoltes vont en s'affaiblissant avec l'acidification progressive. Cette expérience de Molliard montre qu'en modifiant la réaction du milieu, on modifie l'absorption et on met en évidence une assimilation élective.

Molliard obtient encore des résultats comparables en réduisant considérablement le rapport N/C, par exemple à 1/160. Dans les conditions d'expérience où s'est placé Molliard, l'acidification paraît agir dans le même sens qu'un déséquilibre N/C considérable, lequel tend à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire et à augmenter la lipogénèse.

2. Action sur la fermentation. — L'influence de la réaction du milieu est directe sur la fermentation alcoolique ; c'est ce qu'ont établi les recherches de Müller, Thurgau et Oestwalder, puis celles plus récentes de Fernbach, Schoen et d'autres. En milieu acide, les produits principaux obtenus sont l'alcool et le gaz carbonique ; en milieu alcalin, le glycérol, l'acide acétique, l'alcool et le gaz carbonique.

3. Action sur la consommation d'oxygène et le dégagement de gaz carbonique. — Molliard (1920) étudie les variations de la consommation d'oxygène, du dégagement de gaz carbonique, du quotient respiratoire chez *Sterigmatocystis nigra*, organisme plus différencié que les précédents, en le cultivant à 35° C. sur 150 cm³ d'un liquide nutritif contenant 7 gr. de saccharose ; deux jours plus tard, il substitue à ce liquide 150 cm³ d'un milieu alcalin, neutre ou acide ; il obtient les résultats suivants :

TABLEAU XXXVII (MOLLIARD)

ACIDITÉ (+) OU ALCA- LINITÉ (-) DU LIQUIDE SUBSTITUÉ (CM ³ N)	ACIDE OXALIQUE (MG.)	GAZ CARBO- NIQUE DÉGAGÉ (CM ³)	OXYGÈNE ABSORBÉ (CM ³)	Q.R. GLOBAL	Q.R. PROPRE- MENT DIT
- 12	0	284	297	0,95	—
- 9	976	1.445	1.841	0,78	0,99
- 6	680	1.523	1.863	0,81	0,95
- 3	444	1.841	2.217	0,83	0,90
0	212	1.807	2.084	0,86	0,90
+ 3	108	1.726	1.941	0,88	0,90
+ 6	0	1.284	1.417	0,90	—
+ 12	0	765	794	0,96	—
+ 15	0	230	227	1,00	—

Le quotient respiratoire proprement dit diffère du quotient respiratoire mesuré ; Molliard l'obtient en retranchant de la quantité d'oxygène consommée celle qui se retrouverait dans l'acide oxalique dosé, en admettant la réaction :

On remarque que la consommation d'oxygène et le dégagement relativement plus important de gaz carbonique augmentent pour des valeurs de — 9 à 0 inclusivement, correspondant précisément à la diminution progressive de la formation d'acide oxalique ; de même, le quotient respiratoire s'élève avec l'acidification. Ceci correspond avec ce qui est observé pour *Brettanomyces clausseni* (système I et II de la fig. 3). Le pouvoir tampon cellulaire se manifeste, non plus par la production d'acide acétique (système III de la fig. 3), mais par la production d'acide oxalique (système IV de la fig. 3).

GRAPHIQUE 18 (HEIDE)

4. Action sur la lipogénèse. — Heide étudie sur *Endomyces ver-nalis*, en utilisant un tampon citrate-phosphates, les valeurs du pH optima pour la lipogénèse ; elles se trouvent du côté acide ce qui concorde avec les résultats obtenus par Molliard (1918) sur *Sterigmatocystis nigra* et suivant lesquels l'acidification paraît agir dans le même sens qu'un déséquilibre azoté important, lequel tend à à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire.

TABLEAU XXXVIII (HEIDE)

Boîte de PÉTRI N°	1	2	3	4	5	6	7	8
Asparagine p. 100....	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	0
Mg. d'azote dans 100 gr. de milieu.	186,6	93,3	46,6	23,3	11,6	5,8	2,9	0
Champ. sec, mg.	326	317	317	205	164	x	x	x
Graisse brute p. 100 ds ch. sec.	6,45	25,2	38,3	41,8	32,3	xx	xx	
Graisse totale mg...	21,0	79,9	121,5	84,0	52,5			
pH initial, ..	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
pH final....	6,85	5,85	5,7	4,6	4,5	4,4	4,4	4,25

Heide étudie encore la variation du pH du milieu observé au cours de la lipogénèse elle-même.

D'autres expériences de Heide déjà citées (voir tableau XXXIII) nous indiquent qu'il y a indépendance relative du sens de la variation du pH au cours de la lipogénèse et de la quantité de lipides finalement obtenus. La lipogénèse n'est donc pas une manifestation du pouvoir tampon cellulaire.

TABLEAU XXXIX (JACQUOT)

	POIDS SECS DES MYCÉLIUMS (GR.)	CO ² TOTAL DÉGAGÉ (GR.)	CO ² PAR GR. DE MYCÉLIUM SEC	ACIDE OXALI- QUE PAR MG.
Czapek + gluco- se +.....	1,933	2,642	1,366	0
Sulfate d'ammo- nium	2,116	3,460	1,635	0
Czapek + gluco- se +.....	1,633	4,758	2,913	105
Nitrate de potas- sium.....	2,233	5,840	2,626	122

5. Action sur d'autres métabolismes. — Elle a été étudiée surtout chez les Aspergillacées, et nous en donnerons deux exemples typiques :

1° Réaction du milieu et oxalicogénèse

Nous en avons déjà fait un exposé partiel.

Moiliard (1919) a formulé la loi suivante : « La formation de l'acide oxalique résulte d'une réaction des cellules végétales vis-à-vis d'une tendance à l'alcalinité du milieu nutritif. »

Jacquot (1937) démontre que le nitrate de potassium provoque une alcalinisation du milieu et la formation d'acide oxalique ; avec le sulfate d'ammonium, produit acidifiant, l'oxalicogénèse est nulle, mais, si à ce milieu, on ajoute de la potasse, l'alcalinisation la fait apparaître.

D'autre part (Jacquot, 1938), il faut un peu plus de deux grammes de glycose pour édifier et entretenir un gramme de mycélium

sec, lorsque le milieu renferme du sulfate d'ammonium ; ce besoin dépasse quatre grammes lorsqu'il renferme du nitrate de potassium.

L'extra CO_2 (tableau XXXIX) correspondrait à la réaction schématique suggérée par Schoen :

en admettant que l'acide glycolique soit un terme intermédiaire au cours de l'oxalicogénèse.

L'oxalicogénèse apparaît bien comme une manifestation du pouvoir tampon cellulaire.

2° Réaction du milieu et production de cétones

Thaler et Eisenlohr étudient la céto-génèse à partir des acides gras chez *Penicillium glaucum* ; une de ses conditions est l'acidité du milieu ; le schéma est celui de Knoop, mais au lieu de la β -oxydation, il y aurait, conformément à la théorie de Wieland, une déshydrogénation par étapes : formation d'acides $\alpha\beta$ insaturés, puis de β -hydroxyacide, de β -céto-acide, enfin de cétone ou de méthylcétone. L'alcalinité freine la production de cétones ; il y a là une certaine similitude avec la céto-génèse chez les animaux supérieurs et avec la fermentation acéto-butylque.

Conclusions à ce chapitre. — L'influence de la réaction du milieu se traduit par de très grandes différences en ce qui concerne la tolérance des organismes fongiques. Le pouvoir tampon cellulaire se manifeste par la production d'acide acétique (en anaérobiose surtout), par la production d'acide oxalique (en aérobiose toujours).

La lipogénèse est diminuée en milieux neutres ou alcalins. L'acidification du milieu agit dans le même sens qu'une élévation du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire chez les champignons étudiés.

XII. — ACTION DES ÉLÉMENTS MINÉRAUX

Le carbone, l'oxygène, l'hydrogène, l'azote, le phosphore, le soufre, le potassium, le magnésium et le fer sont des éléments fondamentaux et indispensables. Le cuivre, le zinc (Javillier), le manganèse, le vanadium (Didier Bertrand) sont indispensables pour *Sterigmatocystis nigra* à des doses d'une incroyable petitesse, et on conçoit aisément les difficultés exceptionnelles d'expérimentation dans ce domaine. Les éléments minéraux sont oligodynamiques, spécifiques et oligosynergiques ; leur valeur catalytique est liée au

fait qu'ils entrent dans la constitution de diastases ou qu'ils jouent un rôle comme effecteur d'enzymes ; leur valeur biogénétique se traduit par une action sur la croissance, la sporulation, la pigmentation des conidies chez *Sterigmatocystis nigra* ; leur rôle physiologique se démontre par la déviation du métabolisme que provoque leur déficience.

1. Action sur la fermentation alcoolique. — Le rôle des phosphates dans la fermentation alcoolique a été clairement démontré par Harden et Young, Meyerhof, Lipmann, pour ne citer que quelques-uns des noms les plus célèbres. La notion de donateurs, transporteurs et accepteurs de phosphates a été solidement établie par des expériences *in vitro* : emploi d'extraits de levure divers, action d'inhibiteurs de fermentation, produits captés à mesure de leur formation, emploi d'éléments marqués. La valeur énergétique des liaisons phosphates a été déterminée par Lipmann notamment. La phosphorylation pourrait avoir comme effet d'élever le potentiel de semi-réduction par rapport aux mêmes réactions où n'interviennent pas de composés phosphorylés et de permettre ainsi leur couplage avec des réactions d'oxydation. Comme transporteurs de phosphates, on trouve dans 100 gr. de levure sèche : 0 gr. 4 d'acide adénosine triphosphorique et 0 gr. 1 d'acide adénylique. Harden et Young ont extrait de la levure la cozymase, dont la formule (von Euler) est identique à celle de la codéshydrase diphosphorique.

On a beaucoup discuté en vue de déterminer si les processus de phosphorylation sont identiques *in vivo* et *in vitro*. Ainsi, la levure vivante serait incapable de mettre en œuvre l'hexose-diphosphate qui se forme en abondance dans les extraits fermentaires additionnés de sucre, surtout en présence de fluorure.

Si la phosphorylation est indispensable dans la fermentation alcoolique, elle ne paraît pas l'être dans la dégradation des pentoses et dans la respiration intra-moléculaire, comme l'ont établi Nord et ses collaborateurs chez *Fusarium lini*.

Le rôle du magnésium dans la fermentation alcoolique serait lié à celui de la cozymase de von Euler, en tant qu'agent de phosphorylation et de déphosphorylation. La cocarboxylase, d'autre part, n'est active qu'en présence d'ions Mg^{++} (Lohmann).

Par contre, la déficience en zinc, élément biogénétique, n'entrave pas la fermentation alcoolique (Javillier).

2. Action sur l'assimilation. — Elle est analogue en ce qui concerne le phosphore et le magnésium dans leur action sur le catabolisme des glycides.

Les recherches de Tribot (1908), puis celles plus récentes de Canals ont démontré que *Sterigmatocystis nigra*, cultivé sur liquide de Raulin, n'assimilait pas le saccharose en l'absence de magnésium ; l'addition de traces de cet élément fait réapparaître l'activité de la saccharose et la croissance.

3. Action sur la lipogénèse. — Selon Smedley Mac Lean et Hofert (1924), l'addition de phosphates favoriserait la lipogénèse. Il faut tenir compte du fait que l'activation du catabolisme des glycidés favorise la lipogénèse. Le rôle de la phosphorylation dans la lipogénèse est certain, ne serait-ce qu'en raison de la formation de glycérophospholipides qu'on peut considérer comme dérivés de l'acide glycérophosphorique, dont les deux fonctions alcool seraient estérifiées chacune par un acide gras, et qui estérifie lui-même une molécule de choline dans le cas des lécithides. Cependant, Reichel n'a pas mis en évidence une action des phosphates dans la synthèse des acides gras à partir des diverses aldéhydes. La question se pose de savoir quels sont les rapports biochimiques entre la synthèse des acides gras et des lipides complexes, dont on sait le rôle si important dans la structure inframicroscopique du cytoplasme et de la membrane cellulaire. On est amené à concevoir provisoirement l'existence de plusieurs catégories de corps gras : les lipides simples dont le rôle dans la respiration cellulaire se trouve démontrée ; les lipides complexes, élément fondamental de la structure cellulaire ; les éléments d'insaponifiable dissous ou en liaison soit chimique, soit physico-chimique avec les différents lipides ou encore les protéides ; à côté des corps gras proprement dits, il convient de considérer les alcools aminés dont le rôle physiologique, comme pour les lipides complexes et les stérols, est loin d'être établi.

Selon Damm, l'addition de potassium et de magnésium favoriserait également la lipogénèse.

La déficience en éléments minéraux fait apparaître une déviation du métabolisme des glycidés au profit des « oxydations extrinsèques » (système IV de la figure 3), restreignant d'autant, comme l'indique cette représentation schématique, la lipogénèse dans ces conditions.

4. Action sur la croissance. — Nombre d'éléments minéraux sont biogénétiques et leur *coefficient d'utilité spécifique* (Duclaux) est très variable.

L'action synergique apparaît nettement dans la croissance. Par exemple, chez *Sterigmatocystis nigra*, les concentrations en magné-

sium qui donnent les récoltes maxima, ou un pourcentage déterminé du maximum, augmentent proportionnellement à la concentration en phosphore suivant la relation :

$$\Delta(x) = K.\Delta(p)$$

où x et p sont les concentrations relatives en magnésium et en anhydride phosphorique (P^2O^5).

Le terme de milieux équilibrés, sans autre spécification, se rapporte à celui de milieux où la proportion et la concentration en éléments minéraux sont optima pour la croissance.

5. Action sur diverses activités métaboliques. — Le déséquilibre ou la déficience en un élément ou des éléments minéraux provoquent, chez *Sterigmatocystis nigra*, une déviation du métabolisme normal des glycidés au profit des oxydations extrinsèques. Plantefol (1937, 1938) définit comme oxydations extrinsèques celles qui dégradent complètement les substances organiques par l'oxygène à la surface du protoplasme ; Plantefol a réalisé ses expériences sur des végétaux et notamment sur une mousse : *Hypnum triquetrum*. Il nous a semblé qu'un système analogue existe chez des champignons relativement différenciés, tels les Plectascales, mais il n'y a pas cette dégradation toujours complète observée par Plantefol chez les mousses ; on observe fréquemment la formation de cristaux dans les milieux de culture ensemencés avec ces champignons, alors même que le milieu de culture est équilibré. Le système IV de la fig. 3, établi d'après les hypothèses de divers biochimistes, nous montre comment on peut concevoir la formation d'acide gluconique, d'acide citrique, d'acide oxalique ; mais on peut aussi les considérer comme une forme de synthèse compensatrice s'opposant à l'accumulation d'acétaldéhyde (système III) ou comme la conséquence d'un fonctionnement anormal du système respiratoire cellulaire (système II). Dans tous les cas, il y a restriction de la synthèse des lipides au profit de celle d'acides organiques, corps beaucoup moins réduits. Citons, à titre d'exemple, les résultats suivants obtenus par Molliard chez *Sterigmatocystis nigra* (1931) ; les expériences ont eu lieu à 36° C. ; Molliard (1925) avait déjà mis en évidence une convergence de caractères obtenus sous l'action d'acides libres, de température élevée ou d'inanition potassique ; la déficience en potassium, comme les températures élevées, diminuerait la perméabilité cellulaire aux éléments minéraux ; dans ces expériences, le milieu renfermant 14 gr. de saccharose dans 150 cm³ de solution ne contient que 1/25 des doses normales de nitrate d'ammonium et d'autres substances minérales reconnues indispensables.

TABLEAU XL (MOLLIARD)

DURÉE JOURS	SUBSTANCE SÈCHE (MG.)	SUCRE DISPARU (MG.)	ACIDITÉ LIBRE (CM ³ N)	ACIDE GLU- CONIQUE (MG.)	ACIDE CITRIQUE (MG.)
5	432	2.090	4,1	810	0
10	541	3.198	8,3	1.500	39
20	646	4.540	10,7	1.630	152
40	824	5.684	18,7	1.790	650
50	837	6.884	18,7	1.800	610
60	624	8.157	23,5	1.730	938
75	675	9.087	21	680	1.113
90	872	11.997	21,7	320	1.320

Le rôle des éléments minéraux dans la respiration cellulaire se traduit encore indirectement par leur action sur la production de pigments de membrane, généralement inhibée, et sur la production de pigments diffusibles, qui peut être exagérée quand ils viennent à manquer. Molliard (1929) avec une déficience en zinc, Lavolley et Laborey avec une déficience en magnésium, provoquent une excrétion abondante d'un pigment jaune dans les milieux de cultureensemencés avec *Sterigmatocystis nigra*.

Conclusions. — L'action des éléments minéraux s'exerce sur la croissance et l'ensemble des activités métaboliques. Le mécanisme de cette action sur le catabolisme des glycéides n'est pas encore complètement élucidé. Leur déficience provoque une déviation du métabolisme, restreignant ainsi la production de corps très réduits, tels les lipides. En anaérobiose, leur rôle catalytique s'affirme avec évidence. L'action biogénétique participe d'une action sur les différents processus biologiques : absorption, fixation, assimilation, etc...

XIII. — ACTION DES FACTEURS DE CROISSANCE

Les différences considérables dans la nécessité d'apport de facteurs de croissance nous ont permis d'opposer Mucoracées et Aspergillacées, ces dernières susceptibles d'édifier, sur un milieu contenant un glycéide pur, un élément azoté minéral, les phosphates et les éléments minéraux nécessaires, tous les catalyseurs cellulaires dont elles disposent.

D'autre part, Aspergillacées et *Fusarium* synthétisent sur milieux de cultures banaux des pigments diffusibles.

Enfin, il est à noter que les flavines sont constamment synthétisées par les organismes fongiques. Elles sont excrétées normalement par *Eremothecium ashbyi* sur milieux ordinaires.

Les pigments diffusibles, de même que la lactoflavine dans le cas d'*Eremothecium ashbyi*, se forment d'abord à la face profonde des colonies, au point où le mycélium aérobique pénètre la gélose, ou à partir de la surface d'un milieu de culture liquide, recouvert par le champignon, alors qu'ensemencés en profondeur, ces mêmes champignons n'en forment pas.

Si, par des artifices de culture, on tend à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire chez *Eremothecium ashbyi*, l'excrétion de lactoflavine est restreinte de ce fait, comme la croissance elle-même. Il y a, comme l'a établi Dixon, un rapport évident entre le type respiratoire cellulaire et la nature des catalyseurs cellulaires. *Eremothecium ashbyi* présente un type respiratoire particulier ; toute tentative pour élever ou abaisser son potentiel d'oxydo-réduction cellulaire inhibe immédiatement sa croissance ; c'est un organisme à très faible pouvoir d'accommodation du point de vue potentiel d'oxydo-réduction cellulaire.

Pett (1935), puis Gourevitch (1938) constatent que la levure de bière cultivée en présence de cyanure diffuse de la flavine.

Les *Rhodotorula*, cultivés sur milieu liquide contenant 1 p. 100 de peptone et 2 p. 100 de glycose, diffusent dans le liquide un pigment jaune et fluorescent, abondant dans les vieilles cultures, du fait de l'anoxymbiose relative qui existe dans le sein du milieu liquide.

Donc, l'excrétion de flavines ou de pigments diffusibles correspond à une tendance à un abaissement provoqué ou spontané du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, chez des organismes aérobies. Les circonstances qui provoquent chez eux la formation d'alcool sont analogues et les deux processus peuvent être associés ; cependant, les pigments diffusibles n'apparaissent que chez des champignons se développant en aérobiose.

Les circonstances qui favorisent la lipogénèse ou la production d'antibiotiques, tels que la pénicilline, se trouvent être inverses et correspondent à une tendance à l'élévation du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire.

L'importance théorique et pratique de ces constatations ne peut échapper. Production de pigments diffusibles et d'alcool d'une part, production de lipides et de certains antibiotiques d'autre part, sont des synthèses compensatrices à diverses activités cataboliques, notamment celle des glycides.

XIV. — LES RELATIONS DE LA LIPOGÉNÈSE AVEC DIVERSES FONCTIONS PHYSIOLOGIQUES

Il se dégage de ce qui a été précédemment exposé certaines notions générales, notamment les suivantes :

Il y a, au cours de la vie aérobie, une grande différenciation physiologique par :

- multiplication des activités diastatiques ;
- dégradation plus complète des substrats offerts ;
- synthèses beaucoup plus variées et beaucoup plus poussées qu'en anaérobiose, avec notamment synthèses de corps très réduits, des corps autoxydables.

Les circonstances qui tendent à accroître la lipogénèse sont principalement :

- une augmentation de la pression d'oxygène ;
- l'emploi de substances azotées : leucine, tyrosine, tryptophane, qui stimulent la respiration ;
- le déséquilibre azoté ;
- la déshydratation ;
- l'acidification progressive du milieu par emploi de certains sels d'ammonium.

Ces circonstances tendent à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire au delà de sa valeur normale.

On aura remarqué particulièrement deux ordres de résultats expérimentaux :

— les circonstances précédentes sont défavorables à la protéogénèse et à la multiplication cellulaire ;

— l'oxygène exerce une action d'ordre catalytique sur les fonctions fondamentales de la matière vivante : protéogénèse et multiplication cellulaire, qu'il convient dans une certaine mesure de dissocier comme nous le verrons.

Les données précédentes étant acquises, il devient possible, après l'étude de l'action de chaque facteur en particulier sur la lipogénèse, d'aborder celle de ses relations avec les grandes fonctions physiologiques : protéogénèse, absorption, assimilation, respiration, excrétion, production d'autres corps gras, de pigments et d'antibiotiques, production d'alcool éthylique.

1. — Rapports avec la protéogénèse et la multiplication cellulaire. — La protéogénèse est minima en deux circonstances :

- en anaérobiose ;
- lorsque la lipogénèse est intense.

A. — En anaérobiose. — Il faut distinguer le cas d'organismes zymatiques et azymatiques :

Organismes zymatiques. — En anaérobiose (il faut le dire, presque toujours relative), on a pu considérer que « la levure » se comporte plus comme un catalyseur que comme un organisme vivant. Cette opinion est excessive ; une tension en oxygène minima est nécessaire au déclenchement de la fermentation par la levure vivante et au maintien de cette fermentation, car l'oxygène est nécessaire à la multiplication cellulaire, à la protéogénèse et au renouvellement des catalyseurs cellulaires ; en anoxybiose absolue, la levure meurt et la fermentation languissante s'arrête.

L'oxygène est nécessaire à des doses très faibles, sans rapport avec celles qui sont consommées au cours de la respiration pendant le même laps de temps, lorsqu'il intervient sur la multiplication cellulaire (Pasteur, Denys Cochin, H. T. Brown, Béraud) ; on serait tenté de prononcer le terme d'oligo-élément, en raison de cette action d'ordre catalytique tout à fait remarquable.

Organismes azymatiques. — Prenons maintenant le cas de levures azymatiques, telles que *Candida lipolytica*, *Geotrichum candidum* (Geotrichale, *sensu* Langeron, 1948). Ensemençons ces levures par points sur gélose inclinée, sous huile de paraffine ; on est étonné de leur développement quasi-normal, malgré la faible tension en oxygène régnant dans le sein du milieu. Ensemençons-les maintenant en milieu liquide, sous une couche d'huile de paraffine ou de pétrole ; ces champignons se développent à l'interface liquide-pétrole ou huile de paraffine, puis s'insinuent entre la couche de l'une de ces dernières substances et la paroi du tube, en remontant le long de ce dernier que l'on a choisi très étroit. Les traces d'air apportées en ensemençant ont permis le développement de ces levures azymatiques ; sans doute, faut-il tenir compte d'une action particulière de l'huile de paraffine ou du pétrole ; enfin, on peut parler d'oxytropisme en raison de la migration en direction de l'oxygène. Mais le fait essentiel demeure : en anaérobiose relative, il y a eu développement de ces organismes azymatiques, et on peut conclure que l'action d'ordre catalytique de l'oxygène est indépendante de l'existence ou non d'un pouvoir zymatique.

B. — Lorsque la lipogénèse est intense. — Dans ce cas, la protéogénèse est également restreinte, mais en dehors des facteurs protéogénèse et multiplication cellulaire, interviennent les facteurs

élongation et de liaison cellulaire, comme en témoignent la filamentisation ou la pseudo-filamentisation très fréquentes et souvent importantes en cas de lipogénèse intense chez les levures.

Comment peut-on expliquer :

- l'action de l'oxygène sur la multiplication cellulaire ;
- les différences observées dans les deux cas précités : anaérobiose et lipogénèse intense, du point de vue protéogénèse et multiplication cellulaire.

Une étape vers la solution de ce problème est fournie par trois ordres de constatations expérimentales :

1° La levure n'utiliserait pas en anaérobiose les acides aminés que nous avons appelés « acides aminés à haut potentiel » : leucine, tyrosine, tryptophane. Ces mêmes acides exercent une action catalytique en aérobiose, qu'ils soient assimilables ou non, bien qu'ils entrent dans la constitution des protéines cellulaires. Ces acides aminés servent-ils surtout à l'édification de catalyseurs respiratoires ou bien l'action de l'oxygène s'explique-t-elle surtout parce qu'elle est plus particulièrement indispensable à la synthèse de ces acides aminés, synthèse qui peut s'opérer à partir d'une source d'azote minérale ? On ne sait.

2° Raaf a démontré que, la tension en ammoniacque intra-cellulaire diminuant, la protéogénèse est restreinte, tandis que la lipogénèse augmente ; mais ces expériences fixant bien certains rapports entre la protéogénèse et la lipogénèse ne donnent pas de résultats généraux.

3° Hammett et ses collaborateurs (1929-1934), Joyet-Lavergne (1927-1934) établissent que le groupement sulfhydryle -SH est un « stimulant essentiel et spécifique de la multiplication cellulaire » ; on le trouve dans la cystéine, la méthionine, le glutathion si abondant chez les levures et solidement lié à la structure cellulaire (on ne peut l'extraire que par autolyse). Niels Nielsen constate que la méthionine est un facteur de croissance pour la levure. Les travaux de Wurmser et Rapkine, de Hopkins et Morgan établissent que certaines diastases ne sont actives, du moins pleinement, que lorsque leur groupement -SH est libre ; ces diastases, telle l'uréase, sont activées par des agents réducteurs. Toutes ces données rendent vraisemblable que l'oxygène stimulant les déshydrogénations exerce indirectement son action d'ordre catalytique sur la protéogénèse, et ceci par l'intermédiaire de groupements sulfhydryles.

2. — Rapports avec l'absorption. — Les corps gras tensio-actifs tendent à s'accumuler au voisinage des surfaces et interfaces cellu-

laire ; on rejoint, par l'application de la relation de Gibbs, la théorie d'Overton, suivant laquelle la perméabilité cellulaire à une substance augmente avec la liposolubilité de celle-ci.

On doit considérer comme perméabilité cellulaire l'ensemble des forces physico-chimiques s'opposant à la diffusion, et en la limitant de façon sélective, ceci aussi bien à l'égard de substances liquides, dissoutes ou gazeuses.

En aérobiose, on doit considérer la membrane cellulaire comme étant en perpétuel état de synthèse, et la cellule comme édifiant constamment des substances tensio-actives (Schaeffer). On observe en fait qu'il y a de grandes différences de perméabilité cellulaire chez la levure placée en présence ou en l'absence d'air. Dixon trouve que la perméabilité cellulaire au glycose est augmentée en anaérobiose, ce que confirme le graphique dû à Hoogerheide (graphique 17). En aérobiose, la perméabilité cellulaire à l'alcool paraît accrue et les concentrations en alcool tolérées sont nettement moins élevées.

D'autres facteurs, notamment la réaction du milieu, interviennent également ; en témoignent les différences dans l'absorption du glycose et du lévulose, lorsque l'acidité du milieu augmente (Fernbach et Schiller avec *Saccharomyces cerevisiæ*, Molliard avec *Sterigmatocystis nigra*).

3. — Rapports avec l'assimilation. — Les différences dans l'absorption expliquent, dans une certaine mesure, les différences dans l'assimilation qui subit l'influence de facteurs communs ; et, finalement, on serait tenté de ramener toutes les actions cellulaires à des actions de surface ; la théorie de l'adsorption-désorption a été d'abord appliquée aux réactions enzymatiques étudiées *in vitro*. Au cours du présent exposé, nous nous sommes volontairement écarté des méthodes biochimiques *in vitro*, qui emploient notamment les techniques suivantes : isolement de diastases, blocage d'actions diastasiques par des inhibiteurs appropriés, formation de composés définis et insolubles, emploi d'éléments marqués, cette dernière méthode étant cependant plus purement biologique. Dans une étude purement physiologique, on étudie le comportement d'organismes vivants en se référant constamment au *complexe organisme-milieu*, suivant l'expression de E. Rabaud ; les données d'observation et d'expérience prennent ensuite leur pleine signification à la lumière de données biochimiques solidement établies, à propos par exemple des fermentations, des actions de déshydrogénation, de transfert catalytique de l'hydrogène, etc...

Nous avons vu que l'oxygène exerçait une action sur l'assimilation des glycérides en restreignant leur taux de consommation, fait qu'ont établi notamment les recherches de Kluyver et de Custers. Cette action limitative paraît essentiellement liée à la nécessité de synthèses faisant équilibre au catabolisme des glycérides et dont les deux formes les plus constantes sont la formation du glycogène cellulaire, la synthèse des lipides. On constate, en effet, que plus la lipogénèse est intense, plus le taux de consommation des glycérides, à temps déterminé, est restreint.

D'autres observations ont montré que chez des levures à pouvoir réducteur puissant, des sucres non assimilables, suivant les données de la technique auxanographique de Beijerinck, peuvent l'être dans certaines conditions ; à cette assimilation que nous avons appelée anaérobiose, parce qu'on la reconnaît au niveau d'éléments immergés dans les milieux de culture solides, et que l'on peut encore considérer comme adaptative, correspondent une lipogénèse intense et aussi la synthèse d'autres substances, comme en témoigne la présence de cristaux assez fréquemment dans ces milieux de culture. Cette forme d'assimilation *ne se rencontre que chez des organismes à pouvoir réducteur puissant* (Langeron et Luteraan, 1948).

Les expériences de Heide ont démontré que sous l'influence d'un déséquilibre azoté, les différences dans le pouvoir lipoformateur de différents sucres et polyalcools tendent à disparaître (voir tableau XXVI), et les résultats qu'il obtient, avec *Endomyces vernalis*, confirment l'existence de l'assimilation anaérobiose.

De nombreuses substances ternaires ne peuvent être utilisées en anaérobiose, faute d'un accepteur d'hydrogène convenable ; ainsi en est-il de l'acide lactique, jamais fermentescible par les levures qui pourtant l'assimilent. On est finalement étonné de *l'importance et de la variété des processus de déshydrogénation en aérobiose*.

Ce qui est dit des substances ternaires s'applique également à l'égard de certaines substances azotées. Les nitrates sont assimilés par *Torulopsis utilis* et *Hansenula saturnus* ; mais, en présence de cette source azotée, la fermentation est faible avec ces levures ; ceci est bien en conformité avec le rôle d'accepteur d'hydrogène que peuvent jouer les nitrates en se réduisant.

Les processus de déshydrogénation sont donc limités et réduits en anaérobiose ; le pouvoir réducteur des levures vivantes doit être diminué dans ces conditions ; c'est bien ce que nous avons pu démontrer et qui sera exposé plus loin.

A la réduction des nitrates et à la déshydrogénation de l'acide lactique, correspond une lipogénèse intense ; il y a des relations fon-

damentales entre la lipogénèse, les processus de déshydrogénation et les transferts catalytiques d'hydrogène.

4. — Rapports avec la respiration. — *Toutes les circonstances qui stimulent du moins initialement la respiration favorisent la lipogénèse* ; ceci résulte de la confrontation des travaux de Béraud, de Raaf *et alii*, ainsi que de nos propres investigations. L'action de la leucine, de la tyrosine, du tryptophane se vérifie aussi bien à l'égard de champignons filamenteux qu'à l'égard de levures. Divers auteurs (Bernheim, Schade et Thimann) ont vérifié que l'action si particulière de certains de ces acides aminés sur la respiration était indépendante de leur assimilation, et on ne connaît pas le mécanisme intime d'action de ces substances. L'action sur la lipogénèse se traduit par la présence d'enclaves lipidiques énormes.

5. — Rapports avec l'excrétion. — Finalement, les lipides sont, comme nous l'avons indiqué, les plus abondants au niveau des cellules âgées ou mortes, où ils s'accumulent sous forme d'enclave unique ou multiple.

On ne saurait trop insister, comme nous l'avons fait, sur les *rapports entre la respiration et l'excrétion*.

6. — Rapports avec la production d'autres corps gras. — L'existence d'un élément lipidique minimum et irréductible (voir p. 329 et graphique 14) et lié à la structure cellulaire, démontré par de nombreux travaux (Smedley Mac Lean et coll., Bélin, Raaf *et alii*), conduit à envisager la lipogénèse sous un angle différent.

Les lécithides, les stérols, les protéides pourraient former des complexes physico-chimiques, dont la structure n'est pas encore élucidée. Les lécithides, par l'orientation de leurs groupements hydrophiles et éléophiles, interviendraient dans la structure cellulaire inframicroscopique, et on présume que l'élément lipidique minimum est représenté par des phosphatides. La question se pose alors de savoir si la lipogénèse n'est pas en réalité secondaire à la phosphoaminolipogénèse. Les expériences de Schoenheimer et Rittenberg, à l'aide d'éléments marqués, ont établi, sur d'autres organismes, que certains lipides, certains acides aminés se renouvellent à taux fixe, et seules des expériences de cette nature pourraient éclairer sur les rapports entre la protéogénèse, la phosphoaminolipogénèse et la lipogénèse.

Par contre, on est mieux renseigné, grâce à nos propres travaux et à ceux de J. Méry, sur les relations entre la lipogénèse et la production de carotènes. Les pigments caroténoïdes à localisation péri-

capsulaire chez les Rhodotorulacées ne sont jamais excrétés. Ils ne peuvent se former qu'en présence d'oxygène, et la partie caroténoïde de l'insaponifiable X tend à augmenter avec la consommation d'oxygène. Le déséquilibre azoté (Schopfer), l'emploi du glycérol (Fromageot et Tchang), celui de l'acide oléique (Luteraan et Choay), celui de la tyrosine (J. Méry) favorisent la persistance de pigments caroténoïdes liée, ainsi que nous l'avons démontré, au pouvoir antioxygène des lipides et des carotènes *in vivo* ; ce pouvoir antioxygène est donc maximum dans les conditions précitées.

7. — Rapports avec la production de pigments et d'antibiotiques.

— Si on ensemence *Penicillium chrysogenum* par points sur gélose inclinée sous huile de paraffine, il se développe un mycélium blancâtre, mais il n'y a ni sporulation, ni production de pigments fixe ou diffusible.

L'oxygène est également nécessaire à la production de pigments mélaniques. *Dematium pullulans* ne forme pas de pigment sur milieu normal ; mais le déséquilibre azoté, l'emploi du glycérol, celui d'acides aminés à haut potentiel, la déshydratation, tous facteurs provoquant la lipogénèse et déterminant un pouvoir antioxygène maximum des lipides et des carotènes, entraînent la production de pigments mélaniques.

Les mêmes circonstances que celles précitées entraînent, par contre, une diminution de la production de pigments diffusibles normaux, entendant par là ceux dont la formation n'est pas liée à l'action d'une tyrosinase.

Nous avons rapproché synthèse et excrétion de lipides, synthèse et excrétion de pénicilline. L'aération intense favorise aussi la production de pénicilline ; cette substance est, comme les lipides, autoxydable ; le radical acyle est celui de l'acide caproïque dans la dihydropénicilline.

8. — Rapports avec la production d'alcool.

— Toutes les circonstances tendant à abaisser le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire (diminution de la tension en oxygène, augmentation de la concentration en glycides dans un espace confiné, emploi de corps réducteurs tels la cystéine) favorisent la production d'alcool, qu'elle soit liée à la fermentation ou à la respiration intra-moléculaire.

Toutes les circonstances tendant au contraire à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire favorisent la lipogénèse.

A la lipogénèse constante en aérobiose, tend à se substituer la production d'alcool, lorsque la tension en oxygène diminue. Les deux processus sont associés dans la respiration intra-moléculaire

et on peut au cours de celle-ci les faire varier facilement l'un par rapport à l'autre ; le déséquilibre azoté favorise la lipogénèse et est défavorable à la production d'alcool dans ces conditions.

La synthèse de l'alcool, comme celle des lipides, à partir de l'acétaldéhyde, terme ultime du catabolisme des glycidés, constitue encore un argument en faveur de ce qui vient d'être énoncé.

Cependant, on doit faire les réserves suivantes :

— la lipogénèse, constante en aérobiose, est aussi bien observée chez des levures azymatiques ;

— lorsque la tension en oxygène est plutôt faible, la synthèse de glycogène est prédominante par rapport à celle des lipides, ainsi qu'en attestent les observations faites au niveau de voiles muqueux apparus récemment à la surface de milieux de culture liquidesensemencés avec des levures. Dans ces mêmes conditions, l'alcool éthylique, le glycérol sont glycoformateurs ou, si l'on préfère, glycogéniformateurs.

Tandis qu'en anaérobiose les synthèses correspondant au catabolisme des glycidés sont uniformes et limitées, en aérobiose elles sont très diverses. Si, de façon générale, la lipogénèse tend à se substituer plutôt que telle autre synthèse à la production d'alcool, on ne doit pas perdre de vue qu'en d'autres cas, c'est la formation de glycidés cellulaires qui prédominera.

Le tableau suivant montre la variation inverse de la lipogénèse et de la production d'alcool, sous l'action de certains facteurs :

TABLEAU XLI

	LIPOGÉNÈSE	FERMENTATION	RESPIRATION INTRA- MOLECULAIRE
Augmentation de la tension en oxygène	accrue	diminuée	diminuée
Glycérol	accrue	nulle	nulle
Déséquilibre azoté..	accrue		diminuée
Leucine, tyrosine, tryptophane	accrue	diminuée	diminuée
Déshydratation	accrue	nulle	nulle

Nous avons choisi à dessein, parmi les circonstances favorisant la lipogénèse, celles qui entraînent un pouvoir antioxygène maximum

des lipides et des carotènes et favorisent la production de pigments mélaniques.

Opérons la contre-épreuve avec la cystéine, qui tend à abaisser le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire : elle favorise la production d'alcool (voir graphique 8), elle restreint la lipogénèse et fait apparaître en aérobiose plutôt la formation de glycogène, suivant nos constatations.

En conclusion, suivant des valeurs décroissantes qu'on tend à imprimer au potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, on aura prédominance de la synthèse des lipides, puis du glycogène, enfin de l'alcool, la production de ces diverses substances par un même organisme pouvant être simultanée.

Conclusions à ce chapitre. — La confrontation de la lipogénèse avec les différentes fonctions physiologiques fait ressortir l'influence extraordinaire de l'oxygène sur ces différentes activités et permet de préciser certains rapports de la lipogénèse avec certaines d'entre elles. L'oxygène exerce une action d'ordre catalytique sur les plus importantes : la protéogénèse et la multiplication cellulaire, chez les levures. Le fait que des tensions en oxygène peu élevées permettent, par ailleurs, le développement quasi-normal d'organismes aussi bien azymatiques que zymatiques, laisse prévoir que leur potentiel d'oxydo-réduction cellulaire possède normalement une valeur particulièrement basse.

XV. — LIPOGÈNESE ET DIFFÉRENCIATION MORPHOLOGIQUE

Tandis qu'en présence d'oxygène, le déclenchement de la respiration est immédiat, la lipogénèse est plutôt une réaction à une action de longue durée de l'oxygène, ainsi que nous l'avons précisé au cours d'une publication antérieure (Langeron et Luteraan, 1948) ; une telle réaction à une action de longue durée traduit nécessairement une adaptation.

L'école française des physiologistes en matière végétale (Molliard, Combes) a établi que la différenciation morphologique s'opérait dans le sens de l'activité physiologique accrue. Il restait à vérifier cette importante loi expérimentale chez les champignons, organismes particulièrement plastiques.

1. — Rapports avec l'immersion dans les milieux de culture solides. — Ils ont été étroitement précisés dans deux publications antérieures chez les levures par Langeron et Luteraan (1948), chez les champignons filamenteux par Méry et Luteraan.

Rappelons que toutes les circonstances favorisant la lipogénèse, sauf une, l'augmentation de la concentration en glycérides à équilibre azoté, provoquent l'immersion dans les milieux de culture solides, que les pigments mélaniques peuvent s'étendre en profondeur, de sorte que le métabolisme en profondeur semble parfois se rapprocher de celui qui existe en surface. On a pu en tirer cette déduction importante que *la lipogénèse est en fait un processus biochimique anaérobie*, conformément à l'équation de Magnus-Lévy (voir p. 295) que déclenche et favorise indirectement l'oxygène.

L'immersion est une réaction à l'action de l'oxygène et nous avons précisé que les organismes présentant une tendance à s'immerger spontanément avaient un potentiel d'oxydo-réduction cellulaire particulièrement bas, ce qui a pu être démontré encore autrement.

La découverte, enfin, de l'immersion dans les milieux de culture solides (Langeron et Talice, 1932 ; Langeron et Baeza, 1936) a ouvert la voie à toute une série de recherches importantes, qui ont permis d'établir l'existence d'une *fonction antioxygène physiologique*, dont la lipogénèse est, nous le verrons, une manifestation constante.

2. — Rapports avec la filamentisation chez les levures. — *Les circonstances favorisant la lipogénèse accroissent ou font apparaître une filamentisation ou une pseudo-filamentisation chez les levures*, ainsi qu'il a déjà été précisé.

3. — Rapports avec la production de zonations. — Il est non moins remarquable que des circonstances favorisant la lipogénèse provoquent la formation de zonations concentriques, si facilement observables chez les Aspergillacées ou des *Phoma*.

Nous avons encore constaté que les zonations apparaissaient sur des colonies recouvertes d'huile de paraffine ou se développent sur un milieu au sulforicinate d'ammonium (2 p. 100 et gélose 2 p. 100).

On a d'abord interprété ces zonations comme phénomène de Liesegang (Luteraan, 1946) ; mais il semble que l'interprétation de Weissberg (1947) les assimilant à des figures de Chladni soit plus proche de la réalité (fig. 4).

4. — Autres phénomènes de convergence morphologique. — Si la formation de colonies résulte d'une prolifération locale, on constate cependant que *ni du point de vue morphologique, ni du point de vue physiologique, le comportement de la colonie ne peut être considéré comme la somme des comportements individuels, dans le temps et dans l'espace*. Dans une colonie de levures, par exemple, les éléments périphériques protègent les éléments profonds contre l'action

de l'oxygène. Il y a des différences dans l'âge, dans le degré de différenciation des cellules, suivant leur disposition topographique. Il y a parfois une rythmicité nette dans leur extension, comme en témoigne la présence de zonations plus ou moins évidentes. Cette exten-

A

B

C

Colonies divisées en secteurs par des plis ou des sillons radiaires :

A. *Microsporium audouinii* ; des sillons circulaires ; B. *Trichophyton tonsurans* ;

C. *Microsporium circulus centrum*.

Vibrations circulaires d'un disque

Vibrations radiaires d'un disque
Analogie avec *Microsporium audouinii*

FIG. 4. — D'après WEISSBERG.

sion peut être prédominante dans l'une des trois dimensions de l'espace. On n'est donc pas en présence d'une somme arithmétique d'individus isolés, mais on constate une synergie fonctionnelle et un degré d'évolution dans l'organisation, suivant les étapes suivantes :

— coalescence des éléments par leur capsule ;

— constitution d'éléments pseudo-mycéliens plus ou moins allongés, mais sans plasmodesmes ;

— constitution d'un mycélium.

Éléments mycéliens ou pseudo-mycéliens peuvent être agglomérés en faisceaux constituant des *coremium*.

Ce sont là autant de caractères de convergence morphologique dépendant, comme nous l'avons maintes fois indiqué au cours de publications antérieures (Langeron et Talice, 1932 ; Langeron et Guerra, 1938 ; Langeron et Luteraan, 1948), de conditions suivantes :

— tension en oxygène ;

— conditions de milieu et de culture ;

— degré d'hydratation du milieu ;

— action de corps tensio-actifs, dont certains sont des agents mutants.

Cette énumération n'est point limitative et d'autres recherches permettront de pénétrer plus avant dans ce domaine de la cytophysiologie.

La même différenciation morphologique s'opérant dans le sens d'une activité physiologique accrue se retrouve lorsqu'on s'élève dans la classification. Quelle est cette activité physiologique accrue ? C'est essentiellement l'activité antioxygène physiologique, comme il sera établi plus loin. L'action de l'oxygène se traduit par une plus grande différenciation physiologique, par une plus grande différenciation morphologique ; certains de ces caractères physiologiques et morphologiques se rapportent franchement à des réactions de défense contre une action agressive de l'oxygène. Ces caractères traduisent une adaptation à la vie aérobie, à une action de longue durée de l'oxygène.

XVI. — THÉORIES RELATIVES AU RÔLE PHYSIOLOGIQUE DE LA LIPOGÉNÈSE

1. — La lipogénèse est-elle un signe de dégénérescence protoplasmique ? — Les lipides sont particulièrement abondants dans les cultures âgées, les enclaves lipidiques les plus importantes dans les cellules âgées ou mortes.

Belin, puis Raaf ont démontré que la lipogénèse ne pouvait se produire aux dépens des matières protéiques.

Si, avec le vieillissement des cultures, la protéogénèse diminue, tandis que la lipogénèse augmente, il faut en rechercher la cause ailleurs que dans une dégénérescence cytoplasmique.

2. — Les lipides doivent-ils être considérés comme substances de réserve ? — La première théorie était fondée sur une interprétation erronée d'une apparence morphologique ; celle-ci est entachée d'une interprétation finaliste, qui s'attache au terme « substance de réserve ».

Les lipides sont évidemment les plus abondants au niveau des spores durables, chlamydospores réelles ou fonctionnelles ; mais on peut modifier par des artifices de culture cette abondance, aussi bien au niveau des spores durables que des éléments mycéliens et de spores non durables. Il nous est apparu que les lipides accumulés dans certaines conditions physiologiques avaient surtout un effet protecteur à l'égard des protéines.

D'autre part, les lipides apparaissent plus généralement comme des substances excrétées à l'égard des cellules productrices, pour lesquelles elles sont devenues inutilisables, parce que âgées ou mortes. Par contre, il est bien des cas, mais non constants, où une substance franchement excrétée, telle l'acide succinique, l'acide acétique, l'alcool éthylique, le glycérol, est utilisée lorsqu'on modifie les conditions de milieu et de culture.

A cet égard, on constate que l'utilisation de lipides accumulés par la cellule productrice est sans rapport avec la possibilité d'assimilation de l'acide oléique, par exemple, offert comme seul substrat hydrocarboné.

3. — La lipogénèse intervient-elle dans la perméabilité cellulaire ? — Cette théorie solide est basée sur le fait que différents corps gras sont tensio-actifs et, comme tels, tendent à s'accumuler au voisinage des surfaces et interfaces cellulaires.

On a examiné l'action de l'oxygène et de la réaction du milieu sur l'absorption.

Bien des circonstances tendant à modifier la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire agissent sur la perméabilité cellulaire, et on a attribué aux surfaces cellulaires un rôle fondamental dans la desmolyse.

Mais, si bien des actions cellulaires sont des actions de surface et si les surfaces cellulaires jouent un rôle certain dans de nombreuses activités physiologiques, on ne peut conclure que les différences de perméabilité cellulaires se manifestant au cours de l'absorption, comme de l'excrétion, soient simplement liées à la lipogénèse ou à son intensité.

4. — La synthèse des corps gras intervient-elle dans la protéogénèse ? — Il existe, nous l'avons vu, un élément lipidique mini-

mun irréductible et il semble bien qu'il y ait des relations étroites entre la protéogénèse et la synthèse de lipides complexes.

Dans des conditions expérimentales, lipogénèse et protéogénèse varient en sens inverse. Mais ces deux formes de synthèse sont relativement indépendantes, comme l'a démontré Raaf, et seule l'intervention d'un troisième facteur peut expliquer leur variation inverse sans méconnaître que des corps gras puissent jouer un rôle déterminé dans la structure et le fonctionnement cellulaires.

Conclusions à ce chapitre. — Si les deux premières théories, celle de la lipogénèse comme signe de dégénérescence protoplasmique et celle des lipides comme substances de réserve, sont à rejeter, les deux suivantes ne peuvent être adoptées comme n'étant pas générales. Elles ont, toutefois, l'avantage de démontrer qu'il y a dualité physiologique des corps gras cellulaires. Dans le chapitre suivant, nous apporterons une conception plus générale sur le rôle de la synthèse et de l'excrétion des lipides simples.

XVII. — CONCEPTION ACTUELLE DU RÔLE PHYSIOLOGIQUE DE LA LIPOGÉNÈSE

Une explication théorique beaucoup plus générale se dégage de nos propres observations et expériences, sans négliger aucune des données sur lesquelles se sont appuyées les théories précédentes.

Quels en sont les éléments essentiels ?

1° *Le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire de nombreux champignons a souvent une valeur particulièrement basse, dans des conditions de milieu et de culture normales.*

2° *La confrontation des données morphologiques et physiologiques permet d'établir qu'il y a convergence physiologique par action sur un facteur commun : la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire.*

3° *L'oxygène exerce une action d'ordre catalytique sur bien des activités cellulaires, notamment les plus importantes : la protéogénèse et la multiplication cellulaire.*

4° *En raison de la valeur normalement basse de leur potentiel d'oxydo-réduction cellulaire et de l'action catalytique de l'oxygène, les organismes fungiques réagissent fortement à son action, soit en tentant de s'y soustraire (immersion dans les milieux de culture solides), soit en excrétant des corps autoxydables (lipides, pénicil-*

line), soit en freinant leur autoxydabilité par action antioxygène chimique. L'ensemble de ces phénomènes et bien d'autres encore constituent les manifestations d'une fonction antioxygène physiologique.

5° L'oxygène stimule les déshydrogénations ; les manifestations précédentes agissent en réglant et en limitant cette action.

1. — Le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire des champignons

A. — La notion de potentiel d'oxydo-réduction cellulaire. — Dans les processus biochimiques, il y a à tout moment un ensemble de réactions d'équilibre, équilibres électro-chimiques lorsque interviennent des corps électro-actifs, suivant l'équation générale :

Les corps électro-actifs cellulaires sont représentés par des catalyseurs enzymatiques et les réactions d'équilibre électro-chimique sont celles où ils interviennent.

La notion de potentiel d'oxydo-réduction cellulaire exprime l'état d'oxydo-réduction de l'ensemble de ces corps électro-actifs cellulaires, chacun d'eux pouvant se trouver dans un état d'oxydo-réduction variable. Aussi, substitue-t-on souvent à cette notion générale celle de rH cellulaire qui, bien qu'approximative, exprime le pouvoir réducteur de la cellule vivante ; le pouvoir réducteur maximum est celui qui correspond au rH le plus bas mesuré.

On peut considérer encore que l'évolution de l'ensemble des réactions réversibles est sous la dépendance d'un autre ensemble de réactions, elles irréversibles ; et, par analogie avec ce qui se produit dans des réactions chimiques banales, on peut exprimer cette conception ainsi qu'il suit : $D_1 \rightleftharpoons D_2 \longrightarrow L$.

Classiquement, la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire dépend en fin de compte des vitesses de déshydrogénation et de combinaison de l'hydrogène avec l'oxygène activé par un catalyseur approprié. On admet qu'en anaérobiose, elle s'abaisse au voisinage de celle du potentiel de demi-réduction des systèmes : acétaldéhyde $\rightleftharpoons$ alcool ou lactate $\rightleftharpoons$ pyruvate. Par voie réciproque, une augmentation de la tension partielle en oxygène d'une atmosphère déterminée ou une stimulation anormale de la consommation d'oxygène devront correspondre avec une élévation de sa valeur.

B. — Sa valeur. — Les données physiologiques ont une certaine valeur d'orientation. Si, par exemple, un champignon tend à s'im-

merger spontanément dans des milieux de culture normaux et équilibrés, se dérobant ainsi à l'action directe de l'oxygène, on peut présumer que son potentiel d'oxydo-réduction cellulaire a une valeur normalement basse.

On peut aussi, comme l'a fait Custers, examiner l'action d'une aérobose ou d'une anaérobiose plus ou moins prolongée sur la respiration, la production aérobie de gaz carbonique, la fermentation anaérobique chez les levures.

TABLEAU XLII (d'après CUSTERS 1940)

Respiration, fermentations aérobie et anaérobique de *Brettanomyces claussenii* dans un milieu phosphaté à 2 p. 100 de glucose, à pH 4,4 et à 30° C., après entraînement dans des conditions variables d'aérobose.

TEMPS EN HEURE	APRÈS ENTRAÎNEMENT								
	EN AÉROBIOSE						en anaérobiose		
	pendant 64 heures			pendant 168 heures			pendant 144 heures		
	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	$Q_{CO_2}^{N_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	$Q_{CO_2}^{N_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	$Q_{CO_2}^{N_2}$
1 ^{re} heure..	46,6	9,6	4,7	27,4	9,7	17,9	8,2	77,0	82,2
2 ^e heure..	44,6	3,7	4,4	27,5	5,6	25,7	10,0	70,4	71,2
3 ^e heure..	44,1	6,1	5,6	27,5	3,8	26,9	12,1	68,4	51,9

La durée de l'entraînement pour obtenir un effet appréciable dépend de l'espèce étudiée. En tout cas, on entraîne facilement *Brettanomyces claussenii* vers une tendance à la vie anaérobique, tandis que le contraire est observé avec *Saccharomyces cerevisiae* (souche Delft I), qui possède cependant un pouvoir fermentatif beaucoup plus élevé. *Brettanomyces claussenii*, si on se réfère en outre à ce qui a déjà été exposé, a certainement un potentiel d'oxydo-réduction cellulaire plus élevé que celui de *Saccharomyces cerevisiae* (souche Delft I), parce qu'il se comporte en aérobose (réaction de Pasteur négative selon Custers), comme d'autres levures en anaérobiose. D'ailleurs, il sera démontré que la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire est non seulement indépendante de l'intensité du pouvoir fermentatif, mais même de l'existence d'un pouvoir zymatique.

TABLEAU XLIII (d'après CUSTERS 1940)

Respiration, fermentations aérobie et anaérobie de *Saccharomyces cerevisiae* (souche Delft I) dans un milieu phosphaté à 2 p. 100 de glucose, à pH 4,4 et à 30° C., après entraînement dans des conditions variables d'aérobiose.

TEMPS EN HEURE	APRÈS ENTRAÎNEMENT								
	EN AÉROBIOSE						en anaérobiose		
	pendant 24 heures			pendant 96 heures			pendant 72 heures		
	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	$Q_{CO_2}^{N_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	$Q_{CO_2}^{N_2}$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	$Q_{CO_2}^{N_2}$
1 ^{re} heure..	51,1	199,7	293,3	68,6	37,2	157,1	12,5	122,9	145,1
2 ^e heure..	45,4	266,4	196,4	75,3	51,7	167,9	8,7	120,1	127,4
3 ^e heure..	49,7	228,2	211,1	60,5	96,6	167,9	8,3	130,9	134,0

Des expériences déjà citées ont démontré que certains champignons pourvus ou non de pouvoir fermentatif étaient capables de se développer de façon quasi-normale en présence d'une faible tension en oxygène ; rappelons notamment le cas de *Candida lipolytica* et de *Geotrichum candidum*. On est nécessairement amené à envisager que leur potentiel d'oxydo-réduction cellulaire doit avoir une valeur normalement basse.

On peut nous objecter qu'une appréciation directe de la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire par des mesures est seule intéressante. Rien n'est plus faux, car rien ne remplace l'observation du comportement physiologique, qui nous guide dans l'ordre où les expériences doivent être accomplies, pour assurer le contrôle aussi bien des méthodes que de l'idée directrice ; on ne saurait se baser sur les seuls résultats obtenus par la méthode des concordances et des variations concomitantes ; on doit procéder à l'élimination de paramètres et à des recoupements par des voies différentes. Ainsi, les méthodes colorimétriques de détermination de la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire ne viennent-elles qu'en fin d'expérimentation, car leurs résultats doivent être interprétés avec un esprit très critique.

1° Prenons l'exemple du vert Janus, il est toxique à des concen-

trations relativement faibles ; en aérobiose, il inhibe la croissance ; en anaérobiose, c'est un inhibiteur de fermentation. Aussi, procédons-nous toujours de la manière suivante : incorporer au milieu une quantité infime de colorant, de façon à obtenir une coloration pâle, mais suffisamment nette. Avec la pointe d'une pipette stérile, mais fermée, on introduit une goutte toute petite de colorant en solution concentrée, mais non stérilisée, pour ne pas l'altérer ; si le milieu est solide, on l'introduit quand la gélose en surfusion est suffisamment froide (35°-40° C.).

2° La fixation de l'hydrogène sur le colorant constitue un système préférentiel et on ne peut le considérer autrement que comme un accepteur d'hydrogène surnuméraire ajouté au cycle des accepteurs cellulaires, avec cet inconvénient particulier qu'il s'agit d'un accepteur final qui n'a peut-être ni transporteur, ni donateur, donc irréversible dans le cas du vert Janus et du rouge neutre, tandis que le bleu de méthylène hydrogéné se recolore instantanément en présence d'air.

3° Cytologiquement, la fixation des colorants et leur réduction ont lieu en des zones cellulaires prédominantes, suivant leur nature propre : le bleu de méthylène est rapidement réduit lors de la pénétration cellulaire, la réduction du rouge neutre s'opérerait principalement au niveau des éléments du vacuome. Plus spécifique, la réduction du vert Janus présente un intérêt particulier, parce qu'elle s'opérerait au niveau des éléments du chondriome ; rappelons que le chondriome a une structure lipido-protéidique et que ses éléments prennent la plupart des colorants des corps gras, une fois les lipides démasqués par fixation, que le chondriome serait le support du glutathion et cette substance participerait à la genèse du chondriome selon Joyet-Lavergne.

4° On doit étroitement distinguer les réductions qui s'opèrent au niveau cellulaire et celles qui s'opèrent dans le sein du milieu ; ces dernières sont liées à l'excrétion de substances réductrices. Dans les cas limites, en anaérobiose, on ne peut véritablement apprécier que la réduction du milieu et on y est autorisé en raison de l'importance des réactions enzymatiques en surface dans ce cas particulier, où la réduction du milieu n'est pas liée à l'excrétion de substances réductrices, mais bien à l'action des surfaces cellulaires.

5° Nous n'insisterons pas sur une précaution fondamentale : éliminer toute souillure bactérienne et vérifier constamment leur absence.

6° Finalement, l'emploi judicieux de la méthode colorimétrique donne une appréciation intéressante du pouvoir réducteur cellulaire.

En anaérobiose (méthode des fermentations de Langeron et Guerra), on a réduction successive dans le temps, comme le fait remarquer Istin, de la thionine, du bleu de crésyl brillant, du bleu de méthylène, du bleu de Nil, du vert Janus ; celui-ci n'est pas réduit avec la levure employée par Istin, ni avec *Torulopsis utilis* ; il est réduit par *Candida krusei*, par *Saccharomyces uvarum*, par *Saccharomyces carlsbergensis*, etc... et même par des levures azymatiques sous huile de paraffine, par exemple *Candida lipolytica*, *Geotrichum candidum*, qui se placent à l'interface milieu-huile de paraffine. Il n'a jamais été observé de réduction du rouge neutre en anaérobiose au cours de nos expériences avec les levures. De ces premiers résultats, on peut conclure que le pouvoir réducteur est indépendant de l'existence d'un pouvoir zymatique.

En aérobiose, avec des milieux de culture équilibrés, on constate que le pouvoir réducteur est plus important qu'en anaérobiose. Ainsi, *Torulopsis utilis* cultivé sur milieu glycosé peptoné ne réduit pas le vert Janus en anaérobiose, mais le réduit fortement en aérobiose. D'autre part, certains champignons réduisent en aérobiose le rouge neutre : *Candida krusei*, *Candida lipolytica*, *Geotrichum candidum*, *Dematium pullulans*, *Penicillium candidum*, etc... ; ces champignons finissent également par réduire le colorant dans le sein du milieu (1).

Examinons maintenant l'action d'un déséquilibre azoté ou de la tyrosine sur la réduction de colorants. Avec *Candida lipolytica*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium candidum*, il n'y a plus réduction ni du bleu de méthylène, ni du vert Janus, ni du rouge neutre. On peut conclure que la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire est bien élevée dans ces conditions. Est-ce à dire que les processus de déshydrogénation sont réduits, puisque des accepteurs étrangers au système cellulaire ne peuvent plus capter l'hydrogène ? Il est certain qu'un mécanisme compensateur, lipogénèse par exemple, vient régler et limiter les processus de déshydrogénation que stimule l'oxygène. Mais, d'autre part, les processus de déshydrogénation sont d'autant plus importants que le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire tend à être davantage élevé au delà de sa valeur normale. Ainsi, à la déshydrogénation de l'acide lactique, des alcools, correspond une élévation adaptative du potentiel d'oxydo-réduction

(1) La réduction dans le sein du milieu paraît être plus particulièrement en rapport avec le métabolisme et la diffusion de composés à groupement fonctionnel sulfhydryle ; en effet, si on ajoute de la cystéine à un milieu de culture que l'onensemence, par exemple avec *Candida pelliculosa*, la réduction du bleu de méthylène incorporé au milieu est plus particulièrement rapide et complète.

cellulaire, dont témoigne l'immersion fréquente dans les milieux de culture solides en ces cas, l'immersion constituant une réaction aux actions qui tendent à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire au delà de sa valeur normale. Donc, la non réduction des colorants dans les conditions décrites plus haut indique non pas l'absence de déshydrogénation, mais leur limitation par un mécanisme compensateur ou réactionnel aux circonstances qui tendent à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire. Mais même dans ces conditions, le rôle d'accepteurs étrangers dévolu à ces colorants n'est pas nul ; sur milieu tyrosine-glycose, le bleu de méthylène, à un degré moindre le vert Janus hâtent la production du pigment mélanique diffusible de *Candida lipolytica*, tandis que le rouge neutre paraît plutôt la retarder. L'ensemble de ces constatations montre que si la méthode colorimétrique permet une mesure approximative de la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, elle ne permet pas à elle seule de donner une interprétation des résultats obtenus. Dans le cas présent, elle ne vient que confirmer des résultats expérimentaux déjà acquis, dont les principaux sont les suivants :

- la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire est indépendante de l'existence d'un pouvoir fermentatif chez les levures ;
- les circonstances favorisant la lipogénèse sont bien celles qui tendent à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire au delà de sa valeur normale.

2. — La notion de convergence physiologique

La lipogénèse est constante en aérobiose ; qu'elle s'accroisse sous l'effet d'une tension en oxygène plus forte, d'une stimulation de la respiration, de l'action des nitrates, d'une acidification progressive du milieu, d'un déséquilibre azoté, de la déshydratation, indique qu'il y a action finale sur un facteur commun ; en l'occurrence, ce facteur est le potentiel d'oxydo-réduction qui tend à être élevé au delà de sa valeur normale.

La *convergence physiologique* peut être définie comme l'obtention d'une action finale identique sur un même facteur physiologique (pression osmotique intra-cellulaire, potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, etc...), à partir de circonstances très différentes et indépendantes les unes des autres.

Ce qui est dit à propos de la lipogénèse s'étend évidemment à la production d'alcool éthylique, à la production de pigments caroténoïdes, à celle de pigments mélaniques, etc...

TABLEAU XLIV

Convergence physiologique chez les levures

	LIPOGENESE	PERSISTANCE : PIGMENTS CAROTÉNOÏDES	IMMERSION	RESPIRATION	FERMENTATION	CROISSANCE
Alc. éthyl.....	+		+		0	—
Glycérol.....	+	+	+		0	—
Dés. azoté.....	+	+	+			—
Nitrate K.....	+		+		—	—
Tyrosine.....	+	+	+	+	—	—
Leucine.....	+	+	+	+		—
Augm. conc. glu- cides.....	+	+ ou —	—	+ ou —	+	—
Ac. gras.....	+	+	+ ou —		0	—
Acidification du milieu.....	+		+	+	+	—
Déshydratation...	+	+	+			—

TABLEAU XLV

Convergence physiologique chez les champignons filamenteux

	LIPOGENESE	Pig. MÉLANIQUES	IMMERSION	ZONATIONS	P. DIFF.	RESPIR.	RESPIR. INTRA-MOL.
Alc. éthyl.....	+		+	+	0		0
Glycérol.....	+	+	+	+	0		0
Dés. azoté.....	+	+	+	+	—		—
Nitrate K.....	+		+	+	—		+
Tyrosine.....	+	+	+	+	+ ou —	+	—
Leucine.....	+	+	+		—	+	—
Aug. conc. glu- cides.....	+	+ ou —	0	0	+	+ ou —	+
Ac. gras.....	+	+ ou —	+ ou —	+ ou —	0		0
Acidification du milieu.....	+		+	+	—	+ ou —	+
Déshydratation.	+	+	+	+	+ ou —		0

Les indicatifs + et — signifient respectivement : augmenté, diminué.

On constate que intensité de la lipogénèse et de la protéogénèse (non figurée sur le tableau XLV) varient en sens inverse. Certaines circonstances favorisant la lipogénèse augmentent identiquement la production et la persistance des pigments caroténoïdes d'une part, la production de pigments mélaniques d'autre part. Il y a des relations étroites entre la lipogénèse et l'immersion dans les milieux de culture solides ; cependant, l'immersion n'est pas constante dans toutes les circonstances favorisant la lipogénèse. Parfois, des circonstances analogues favorisent la production de lipides et d'alcool éthylique, mais il est facile de les faire varier en sens inverse l'un de l'autre, en agissant sur un troisième facteur (tension partielle en oxygène, équilibre azoté, etc...). Enfin, la fermentation alcoolique et la respiration intra-moléculaire apparaissent bien comme des processus indépendants ; la fermentation alcoolique est diminuée en présence de nitrates et la respiration intra-moléculaire en général marquée.

3. — La lipogénèse comme manifestation d'une fonction antioxygène physiologique

Qu'il s'agisse de corps gras, de pigments, d'antibiotiques, etc..., leur formation n'a lieu qu'en aérobiose. *Mais elle n'est pas immédiate et constitue une réaction à une action de longue durée de l'oxygène.* Tandis que l'action de l'oxygène est immédiate sur le déclenchement de la respiration, il faut un certain temps d'exposition à son action pour obtenir une lipogénèse appréciable, la production de pigments ou d'antibiotiques.

Cette constatation a amené à formuler l'hypothèse suivante : N'y a-t-il pas à côté de la respiration des processus physiologiques tendant à régler et à limiter la consommation d'oxygène ?

Giaja et Markovic emploient la levure de distillerie pressée et constatent que la consommation d'oxygène n'est pas proportionnelle à la densité d'une culture (tableau XLVI).

TABLEAU XLVI (d'après GIAJA et MARKOVIC)

QUANTITÉ DE LEVURE	CONSOMMATION RELATIVE D'OXYGÈNE
10	10
5	9,7
2	5,7
1	4,0

Ceci est schématique, comme la constatation suivante faite par Fromageot et Bost qui étudient le pouvoir réducteur de la levure vivante au cours de la fermentation alcoolique : le RH semble augmenter avec la diminution du pH et du nombre de cellules présentes (Fromageot et Bost).

Ces constatations incitent à concevoir qu'au cours de la vie en colonie, s'établissent des manifestations d'un pouvoir antioxygène physiologique.

Dans de nombreux cas, on observe effectivement que la consommation d'oxygène diminue avec le temps, sans qu'on puisse, dans des cultures jeunes de deux à cinq jours, invoquer la mort de nombreux éléments cellulaires, les observations précises de Langeron et H. Lenormand ayant démontré que le nombre de cellules vivantes est maximum au cours de cette période.

Nickerson et Carroll (1947) étudient les variations de la respiration avec l'âge des cultures et suivant des conditions d'aéro- ou d'anaérobiose préalables. L'organisme utilisé est *Zygosaccharomyces acidifiants*. Au bout de 48 heures, à 28° C., la consommation d'oxygène est environ la moitié de celle constatée au bout de 24 heures :

TABLEAU XLVII (d'après NICKERSON et CARROLL)

ENTRAÎNEMENT PRÉALABLE	QO ₂ EN L'ABSENCE DE SUBSTRAT	QO ₂ EN PRÉSENCE DE SUBSTRAT
24 heures en aérobiose ..	23	60
48 heures — ..	10	35
72 heures — ..	9	35,5
7 heures en anaérobiose.	13	17

Il est intéressant de rapprocher ces résultats de ceux obtenus par Custers avec *Brettanomyces clausseni* et qui sont analogues pour cette levure (voir tableau XLII). Il est évident que chez *Zygosaccharomyces acidifiants* et chez *Brettanomyces clausseni*, il s'est établi un processus physiologique tendant à régler et à limiter la consommation d'oxygène. On objectera que dans l'expérience de Custers, une observation inverse est faite avec *Saccharomyces cerevisiae* (souche Delft I) ; indiquons simplement que le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire semble avoir une valeur plus élevée chez cette levure que chez les deux précédentes.

Dans la vie en colonies, les éléments cellulaires profonds sont protégés contre l'oxygène par les éléments superficiels ; c'est à la surface des colonies de Rhodotorulacées qu'apparaissent et restent souvent localisés les pigments caroténoïdes (J. Méry) ; c'est à la surface des vieilles colonies qu'apparaît la pellicule brune d'autoxydation des lipides.

La notion de fonction antioxygène physiologique s'impose, car il est évident que plus le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire est bas en aérobiose, plus l'action de l'oxygène serait intense à l'égard de tels organismes ; un nouveau facteur physiologique doit intervenir nécessairement pour régler et limiter cette action de l'oxygène sur la respiration et sur d'autres activités métaboliques.

En fait, cette fonction antioxygène physiologique comporte des manifestations très différentes :

1. — La plus constante, la seule même qui paraisse constante, est la lipogénèse. La synthèse et l'excrétion de lipides sont les plus marquées chez les organismes à pouvoir réducteur le plus puissant.

L'augmentation de la pression en oxygène et toutes les circonstances qui stimulent les déshydrogénations favorisent la lipogénèse. Dans ces mêmes conditions, la production de glycides cellulaires n'est pas augmentée ; ces derniers ne font donc équilibre qu'au seul catabolisme des glycides. La lipogénèse fait équilibre non seulement au catabolisme des glycides, mais à l'activité desmolytique tout entière. Il y a activation le long de la « chaîne respiratoire » (Wurmser), lorsqu'il y a stimulation des processus de déshydrogénation ou lorsque, par déficience en azote, les réactions secondaires greffées le long de cette chaîne (équilibre entre acides aminés et diacides correspondants) sont diminuées. L'expérience si élégante de Raaf avec la permutite confirme cette hypothèse. Ainsi, on peut affirmer qu'*aux processus de déshydrogénation et de transfert catalytique de l'hydrogène, fait équilibre la synthèse de corps très réduits.*

Finalement, les lipides paraissent excrétés et l'organisme semble se débarrasser ainsi de corps autoxydables. Toutefois, on peut se demander quel rôle est dévolu à l'autoxydabilité de certains corps gras ; il semble que l'autoxydation vienne équilibrer de nouveaux processus de déshydrogénation et de synthèse de corps très réduits.

2. — Une seconde manifestation du pouvoir antioxygène physiologique est le pouvoir antioxygène mutuel des lipides et des carotènes *in vivo*. Ici encore, il semble que le maintien du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire à un niveau constant soit établi par le jeu antagoniste de l'autoxydabilité des corps gras, réglé par le pou-

voir antioxygène réciproque des lipides et des carotènes. Il a été démontré que certaines circonstances, tendant à élever le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, renforcent non seulement la production de pigments caroténoïdes chez les *Rhodotorulacées*, mais le pouvoir antioxygène des lipides et des carotènes *in vivo*.

3. — Une troisième manifestation est l'excrétion franche de corps autoxydables tels que la pénicilline.

4. — Une quatrième manifestation évidente est l'immersion dans les milieux de culture solides, aussi bien chez les levures que chez les champignons filamenteux.

5. — Enfin, on peut considérer que la production de pigments mélaniques constitue encore une manifestation du pouvoir antioxygène physiologique. Il a été établi que les pigments mélaniques étaient les plus abondants, chez diverses *Dématiées*, au niveau des membranes des cellules âgées ou mortes, et on ne peut les considérer dans ces cas que comme de véritables substances d'excrétion.

La liste de ces manifestations d'un pouvoir antioxygène physiologique n'est pas close ; leur importance et leur généralité s'affirment constamment chez l'ensemble des organismes aérobies. On devra désormais étudier, à côté de la respiration, les formes de cette activité physiologique très particulière et jusques là méconnue.

4. — Les processus de déshydrogénation en aérobiose. — Ce qui étonne, c'est la diversité des processus de déshydrogénation en aérobiose ; même en ce qui concerne des processus appelés oxydations directes ou oxydations extrinsèques, il semble s'agir de processus de déshydrogénation ; par exemple, l'acide gluconique est formé à partir du glycose, par l'intermédiaire de la glucose déshydrase (Harrison).

Dans la lipogénèse, on admet (voir page 295), en raison de la valeur du quotient respiratoire constamment supérieure à l'unité, l'association en part variable de deux processus :

— l'un exprimé par la formule de Magnus Lévy :

— l'autre d'oxydation du glycose :

En somme, il y aurait conversion de glycodes en glycérides, par une série de déshydrogénations et de décarboxylations enzymatiques.

La synthèse de corps très réduits s'accompagnerait donc de déshydrogénations, ce qui n'est pas l'aspect le moins paradoxal de la

question. Ceci n'exclut pas, comme l'indique schématiquement la figure 3, que la lipogénèse fasse équilibre à l'ensemble des transferts catalytiques d'hydrogène représentés par le système desmolytique, car le système desmolytique est d'un fonctionnement rapide, la lipogénèse est un processus lent et d'évolution uniforme ou presque, comme il sied à un système régulateur.

Des processus de déshydrogénation accompagnent également la production de pigments caroténoïdes et probablement celle de pigments mélaniques.

Par contre, en anaérobiose, où le système desmolytique ne fonctionne pas, où la synthèse de corps très réduits fait défaut, les processus de déshydrogénation sont forcément très réduits.

En aérobie, les processus de déshydrogénation seraient les plus intenses chez les levures : à potentiel d'oxydo-réduction cellulaire le plus bas, pouvoir réducteur le plus puissant ; elles ont un pouvoir lipoformateur élevé.

Donc, l'organisme lutte moins contre les déshydrogénations qui entraîneraient théoriquement un abaissement progressif du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire que contre l'oxygène, qui stimule à la fois les processus de déshydrogénation et les processus de réduction.

5. — Le rôle catalytique de l'oxygène. — Finalement, l'oxygène nécessaire paraît jouer un rôle catalytique sur diverses activités cellulaires : multiplication cellulaire, production d'alcool, lipogénèse. On peut parler d'une action catalytique sur la multiplication cellulaire, puisque l'introduction de traces de cette substance dans un milieu anaérobie permet à nouveau la multiplication de la levure et sa croissance. Une constatation du même ordre a été faite chez certaines levures azymatiques. L'action catalytique de l'oxygène sur la fermentation alcoolique est indéniable. *La lipogénèse se produit dans le sein de cultures immergées et pourtant la synthèse de corps très réduits ne peut être obtenue en anaérobiose.*

Ceci amène à concevoir que l'action catalytique de l'oxygène sur les diverses manifestations précitées : multiplication cellulaire, protéogénèse, production d'alcool éthylique, lipogénèse, doive s'effectuer par l'intermédiaire d'un système oxydo-réducteur à potentiel particulièrement bas, à savoir par le glutathion en particulier.

D'ailleurs, l'action de corps possédant un groupement sulfhydryle sur ces mêmes manifestations fait présumer fortement que l'action de l'oxygène s'exerce par l'intermédiaire de ces groupements se trouvant à un état d'oxydo-réduction variable dans les différents enzymes ou constituants cellulaires.

En résumé, la protéogénèse est maxima pour de faibles valeurs du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire normalement rencontrées chez les levures et d'autres champignons.

Bien des manifestations physiologiques et morphologiques traduisent chez les champignons une adaptation à la vie aérobie habituelle, la tension en oxygène paraissant déjà excessive dans une atmosphère normale ; il existe donc, à côté de la respiration, une fonction antioxygène physiologique, dont les manifestations sont variées et plus ou moins rapidement évidentes, ceci non seulement chez les champignons, mais encore chez les végétaux et les animaux.

XXIX. — RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Le présent exposé comporte quatre parties :

Dans la première (I et II), la préoccupation essentielle des auteurs est de définir, chez les champignons, les activités physiologiques dont l'étude sera reprise.

Ils distinguent, aux points de vue biologique, morphologique, physiologique et biochimique, la fermentation alcoolique et la respiration intra-moléculaire. La fermentation propre et la résistance à l'asphyxie sont également des phénomènes distincts ; le dernier, comme toute activité physiologique en anaérobiose absolue, doit être considéré comme un phénomène résiduel ou comme le reliquat d'une adaptation, car les champignons sont sans exception des organismes aérobies.

Sur un autre point, les auteurs précisent les relations si importantes entre la respiration et l'excrétion.

Enfin, on ne peut étudier la lipogénèse, comme activité physiologique constante en aérobie, sans envisager ses rapports avec les caractères biologiques de groupes ou d'espèces. A mesure qu'on s'élève dans la classification, on constate une diversité accrue des réactions des organismes fungiques à une action de longue durée de l'oxygène ; il y a donc adaptation à la vie aérobie, telle qu'elle nous apparaît normale.

La deuxième partie (III-XIII) est purement analytique.

Quelle est l'action de chaque facteur particulier (oxygène, glycérides, autres substances ternaires, substances azotées, substances complexes ou en mélange, pression osmotique, réaction du milieu, facteurs oligo-dynamiques) sur la lipogénèse, considérée comme la seule synthèse des acides gras et des graisses neutres ?

Quelle est, en même temps, l'action de ces différents facteurs sur

la multiplication cellulaire, la protéogénèse, l'absorption, l'assimilation, la respiration, l'excrétion et sur des métabolismes particuliers tels que production d'alcool, de pigments, d'antibiotiques ?

Deux facteurs prennent une importance particulière : l'oxygène et le facteur azoté.

Quant aux rapports de la lipogénèse avec les processus de déshydrogénation, ils ne laissent aucun doute.

Il y a variation inverse, entre certaines limites, de la lipogénèse et de la protéogénèse.

A la lipogénèse, constante en aérobiose, tend à se substituer la synthèse de l'alcool éthylique lorsque la tension en oxygène diminue ou sous l'action de facteurs qui tendent à abaisser la valeur du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire.

Les circonstances qui favorisent particulièrement la lipogénèse sont bien celles qui tendent à élever le potentiel d'oxydo-réduction au delà de sa valeur normale.

Ces constatations amènent tout naturellement à la troisième partie (XIV et XV), où l'on confronte la lipogénèse avec les différentes activités physiologiques considérées indépendamment et avec la différenciation morphologique ; celle-ci paraît bien s'exercer dans le sens de l'activité physiologique accrue. Quelle est cette activité ? Celle par laquelle l'organisme tend à régler et à limiter l'action de l'oxygène qui exerce normalement une action d'ordre catalytique sur la multiplication cellulaire et la protéogénèse et qui, en excès, stimule considérablement les processus de déshydrogénation.

Quelles notions théoriques se dégagent des faits d'observation et d'expérimentation ? C'est ce qui se trouve exposé dans la quatrième partie (XVI et XVII).

On ne saurait plus considérer la lipogénèse comme un signe de dégénérescence cellulaire et, non plus, les lipides comme des substances de réserve. Les auteurs écartent résolument ces conceptions finalistes.

Les rapports entre la synthèse des corps gras et la perméabilité cellulaire d'une part, la protéogénèse d'autre part, retiennent particulièrement leur attention.

Certaines propriétés des corps gras intéressent plus particulièrement le biologiste : ils peuvent être très réduits, autoxydables, tensio-actifs, en même temps qu'ils peuvent constituer des solvants particuliers ; toutes ces propriétés doivent être prises en considération lorsqu'on tente d'expliquer le rôle physiologique de la lipogénèse.

On constate encore qu'il y a une dualité physiologique des corps

gras : certains sont liés à la structure cellulaire, d'autres, au même moment, sont accumulés, voire excrétés, sous la forme d'enclaves cellulaires les plus importantes dans les cellules âgées ou mortes.

La lipogénèse se place dans le cadre d'une étude de la synthèse des corps gras en général et on ne dispose que de peu de données expérimentales à ce sujet ; on peut concevoir que la lipogénèse soit secondaire à la phospho-amino-lipogénèse et sous la dépendance du taux de renouvellement des phospho-amino-lipides ; on sait, par ailleurs, que les phosphates sont indispensables à la production des pigments caroténoïdes chez les Rhodotorulacées, organismes particulièrement riches en phosphore, sous une forme encore indéterminée (Champeau et Luteraan) ; ils sont nécessaires à la production de lipides, comme il ressort de l'observation faite par divers auteurs.

Cependant, revenant directement à des faits d'observation et d'expérience, les auteurs apportent une conception plus générale du rôle de la lipogénèse, tout en tenant compte des éléments mis en évidence dans les théories précédentes. La découverte faite par l'un d'eux (Langeron, 1932, 1936) de l'immersion chez les levures et chez les champignons filamenteux a permis une interprétation qui n'est pas simplement théorique, mais basée sur des faits précis et contrôlés, qui sont les suivants :

1° L'oxygène exerce normalement une action d'ordre catalytique sur les deux fonctions cellulaires fondamentales : la multiplication cellulaire et la protéogénèse, chez les champignons.

2° Bien des champignons présentent, en aérobiose et sur milieu équilibré, une valeur particulièrement basse de leur potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, qu'ils soient ou non zymatiques.

3° Les champignons ayant un pouvoir réducteur puissant ont en même temps un pouvoir lipoformateur intense et ils se montrent particulièrement sensibles à l'action de l'oxygène ou aux circonstances qui tendent à élever la valeur de leur potentiel d'oxydo-réduction cellulaire : augmentation de la tension en oxygène, stimulation, du moins initiale, de la respiration, déséquilibre azoté, etc...

4° La lipogénèse fait équilibre, non seulement au catabolisme des glycérides, mais à l'activité desmolytique, c'est-à-dire à l'ensemble des processus de déshydrogénation et de transfert catalytique de l'hydrogène.

5° L'organisme fongique lutte moins contre les processus de déshydrogénation que contre l'oxygène qui stimule ces derniers.

6° En effet, il se dérobe à l'action de l'oxygène en s'immergeant, excrète plus ou moins franchement des corps autoxydables, freine

l'autoxydabilité des lipides par l'action antioxygène des lipides et des carotènes.

7° Il y a convergence physiologique par action sur un facteur commun, le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire, qui tend à être élevé au delà de sa valeur normale. Les manifestations précédentes sont donc celles d'une fonction antioxygène physiologique qui s'établit à côté de la respiration ; elles apparaissent avec évidence au cours d'une action de longue durée de l'oxygène ; elles traduisent donc une adaptation à la vie aérobie telle qu'elle nous apparaît normale.

Justifiée par les faits, cette théorie donne encore plus de vigueur aux conceptions de H. Wieland et permet de les relier, sur le plan physiologique, avec les catalyses d'autoxydation et les actions antioxygènes découvertes par Moureu et Dufraisse.

Une dernière question se pose : Quel est le facteur biochimique réglant les rapports de la lipogénèse avec la protéogénèse, la production d'alcool, de pigments, etc... ? Il semble qu'il s'agisse du groupement sulfhydrile -SH présent dans des protéines, des acides aminés, le glutathion, de nombreuses diastases, voire des hormones animales. Il a une valeur différente suivant les corps précités ; il y a à tout moment un certain rapport entre le nombre de groupements sulfhydrile et disulfure ; c'est dans ce sens que permettent de s'orienter les travaux de Hopkins, de Wurmser, de Joyet-Lavergne et *alii*, ainsi que quelques-unes de nos constatations personnelles.

BIBLIOGRAPHIE

- ALTMAN. — *J. Biol. chem.*, CLXVI, 1946, 140.
 AUBEL et HOUGET. — *C.R. Ac. Sc.*, CCIX, 1939, 259.
 BACH (M.-D.). — *C.R. Ac. Sc.*, CLXXXVII, 1928, 255.
 BAUERNFEIND, SOTIER et BORUFF. — *Ind. eng. chem.*, Anal. ed. XIV, 1942, 271.
 BELIN. — *Bull. Soc. ch. biol.*, VIII, 1926, 1081.
 BELVAL et LEGRAND. — *C.R. Ac. Sc.*, CCXIX, 1944, 525.
 BÉRAUD. — *La lipogénèse dans le monde des microbes et des végétaux inférieurs*.
 Ed. de la Maison de la Chimie, n° 729, 1941-42.
 — La biologie de la levure dans ses rapports avec les diverses industries.
Fermentations, vol. II, Ed. de la Maison de la Chimie.
 — *C.R. Soc. biol.*, CXXXI, 708.
 BERNHAUER. — *Oxydative Gärungen*. In Nord und Weidenhagen.
 BERNHEIM. — *J. bact.*, XLIV, 1942, 533.
 BINET. — *Traité de physiologie* de Roger et Binet, tome XII.
 BLING et BOJEC. — *Archiv f. Mikrobiol.*, XII, 1941-42, 41.
 BOURQUELOT. — *Soc. mycol. de France*, VI, 1890, 150.
 BRAUNSTEIN et KRITZMANN. — *Enzymologiæ*, II, 1947, 129.

- BROWAEYS. — *C.R. Soc. biol.*, CXL, 1946, 729.
- BROWN (A. J.). — *J. chem. Soc.*, LXXXVII, 1905, 1395.
- BROWN (H. T.). — *Ann. Bot.*, XXVIII, 1914.
- BUELL (C. B.) et WESTON (W. H.). — *Am. J. bot.*, XXXIV, 1947, 555.
- BURTON, EAGLES et CAMPBELL. — *Can. J. res.*, Sec. C, Bot. sc., XXV, 1947, 121.
- BUVART.
- CHAMPEAU et LUTERAAN. — *Ann. paras.*, XXI, 1946, 345.
- CHEVILLARD, HAMON, MAYER et PLANTEFOL. — *Ann. de physiol. et de physico-chimie biol.*, VI, 1930.
- CLIFTON. — *Ant. van Leeuw.*, XII, 1947, 186.
- COLIN. — *La chimie des plantes*, Flammarion, Paris, 1945.
- COMBES. — *La forme des végétaux et le milieu*, 1947, Armand Colin, n° 240.
- *La vie de la cellule végétale*, Armand Colin, n° 96, 109, 203.
- COMBES et GERTRUDE. — *C.R. Ac. Sc.*, CCVIII, 1939.
- CORI (C. F.), CORI (G. T.) et GREEN (A. A.). — *J. Biol. Chem.*, CLI, 1943, 39.
- CORI (C. F.), SCHMIDT (G.) et CORI (G. T.). — *Science*, LXXIX, 1939, 464.
- COURTOIS. — Les facteurs de croissance de la levure. *Fermentations*, vol. I, Ed. de la Maison de la Chimie.
- CUSTERS. — *Onderzoekingen over het gistgeslacht Brettanomyces*. Thèse sc., Delft, 1940.
- DAMM. — *Chem. Ztg.*, LXVII, 1943, 47.
- DENYS COCHIN. — *Ann. chim. et phys.*, XXI, 1881, 55.
- DEUX. — *Le rôle de l'oxygène et des substances réductrices en brasserie*. Ed. de la Maison de la Chimie, n° 1376.
- DIDIER BERTRAND, BELVAL et LEGRAND. — *C.R. Ac. Sc.*, CCXXIII, 1946, 1189.
- DIDDENS et LODDER. — *Die anaskosporegenen Hefen*. Thèse d'Amsterdam, 1942.
- DIENERT. — *Ann. Inst. Pasteur*, XIV, 1900, 139.
- DIXON (K. C.) et HOLMES (E. G.). — *Nature*, CXXXV, 1935, 995 et CXXXVII, 1936, 742.
- DIXON (M.). — *Manometric Methods*, Cambridge, 1934.
- DOLCE (E. A.) et NICKERSON (W. J.). — *Arch. derm. syphil.*, LV, 1947, 379.
- DRABKIN et MEYERHOF. — *J. Biol. Chem.*, CLVII, 1945, 563.
- DUCLAUX. — *Traité de microbiologie*, 1898, Masson et Cie.
- DUPRAISSE. — Catalyse d'autoxydation ; antioxygènes. In *Traité de chimie org.*, sous la dir. de V. Grignard, T. II, fasc. 2.
- DUPRÉNOY (J.) et LANGERON (M.). — *Ann. de paras.*, XXIII, 1948, 222-274.
- EFFRONT. — *C.R. Ac. Sc.*, CLXXXIV, 1927, 1302.
- EMBDEN et SCHMITZ. — *Bioch. Ztschr.*, XXIX, 1910, 423 et XXXVIII, 1912, 393.
- FERNBACH et SCHILLER. — *C.R. Ac. Sc.*, 1924, 2196.
- FINK, HAESLER et SCHMIDT (M.). — *Woch. f. Brauerei*, LIV, 1937, 89.
- *Zts. f. Spiritusindustrie*, LX, 1937, 74.
- FINK et JUST. — *Bioch. Ztschr.*, CCC, 1938, 84.
- FISCHER et THIERFELDER. — *Ber. d. ch. Ges.*, 1894, 2031.
- FODOR et SCHOENFELD. — *Bioch. Zts.*, CCXXXIII, 1931, 243.
- FRÈREJACQUE. — *C.R. Ac. Sc.*, CCXVII, 1943, 251.
- FROMAGEOT. — Le mécanisme des actions enzymatiques. *Produits pharmaceut.*, I, 1946.
- FROMAGEOT et DESNUELLE. — *Bull. Soc. ch. biol.*, XVIII, 1936, 820.
- FROMAGEOT et BOST. — *C.R. Ac. Sc.*, CCIV, 1937, 1008.
- FROMAGEOT et JOUÉ. — *Archiv f. Mikrob.*, IX, 1938, 424.
- FROUIN. — *C.R. Ac. Sc.*, CLXX, 1920, 1471.

- FROUIN et GUILLAUMIÉ. — *Bull. Soc. ch. biol.*, VIII, 1926, 1178.
- FUHRMANN (F.). — *Einführung in die Grundlage der technischen Mykologie*, 1926, Fischer, Iéna.
- GASSER et STAMPA. — *Rev. int. agr.*, XXXV, 1944, 10.
- GENEVOIS, PEYNAUD et RIBEREAU-GAYON. — *C.R. Ac. Sc.*, CCXVI, 1948, 126.
- GERTRUDE. — *Revue gén. de bot.*, XLIX, 1937.
- GIAJA et MARKOVIC. — *C.R. Soc. biol.*, CXIX, 1935, 639.
- GLASER. — *Ztschr. physiol. Chem.*, CLXVI, 123.
- GOLUMBIC. — *Oil and soap*, XXIII, 1946, 184.
- GORDON, MARTIN and SYNGE. — *Bioch. J.*, XXXVII, 1943, 315.
- GOTTLIEB (D.) et ANDERSON (W. H.). — *Science*, CVII, 1948, 172.
- GOUREVITCH. — *C.R. Soc. biol.*, CXXVII, 1938, 216.
- GROSS et WERKMAN. — *Ant. van Leeuw.*, XXXII, 1947, 17.
- GUERRANT. — *J. Agr. Res.*, XXXV, 1927, 1001.
- GUILLIERMOND, FONTAINE et RAFFY. — *C.R. Ac. Sc.*, CCI, 1935, 1077.
- GUILLIERMOND et GAUTHERET. — *C.R. Ac. Sc.*, CCVI, 1938, 1048.
- GUNTHER (G.) et BONHOEFFER (K. F.). — *Ztschr. phys. Chem.*, A, CLXXXIII, 1939, 1.
- HAEHN et KINTOFF. — *Chem. der Zelle und Gew.*, XII, 1926, 115. — *Ber. chem. Ges.*, LVI, 1923, 439.
- HALDEN. — *Ztschr. physiol. Chem.*, CCXXV, 1934, 249.
- HARDEN et YOUNG. — *Proc. Roy. Soc.*, LXXXI, 1909, 336.
- *Centralblatt f. Bakt.*, XXVI, 1910, 179.
- HARDEN (A.). — *Alcoholic fermentation*. Monographs on Biochemistry, 1932, 4^e éd., London.
- HARFELIUS. — *Bioch. Ztschr.*, CCXCIX, 1938, 317.
- HEIDE. — *Archiv f. Mikrob.*, X, 1939, 135.
- HEIM (R.). — *Bull. Soc. ch. biol.*, XXIX, 1942, 48.
- HEIM (P.). — *C.R. Ac. Sc.*, CCXXII, 1946, 1354 et CCXXIII, 1946, 137.
- HEITZMANN. — *C.R. Ac. Sc.*, CLXVIII, 1944, 859.
- HERISSET. — *C.R. Ac. Sc.*, CCXXIII, 1946, 47 et 164.
- HEINTZELER. — *Archiv f. Mikrob.*, X, 1939, 92.
- HENRY (B. S.). — *J. bact.*, LIV, 1947, 264.
- HINSHELWOOD (C. N.). — *The chemical kinetics of the bacterial cell*. University Press, Oxford, 1946.
- HOOGERHEIDE (J. C.). — *Bijdrage tot de kennis van de reactie van Pasteur*, 1935, Thèse sc., Leiden.
- HOUGET, MAYER et PLANTEFOL. — *Ann. physiol.*, IV, 1927, 663.
- INGRAHAM et STEENBOCK. — *Bioch. J.*, XXIX, 1935, 2553.
- ISTIN (M.). — *Rev. Canad. biol.*, VI, 1947, 490.
- IVANOW. — *Ber. deutsche bot. Ges.*, XXIX, 1911.
- JACQUOT. — *C.R. Soc. biol.*, CXXVIII, 1938, 69.
- *Ann. de physiol.*, XIII, 1937.
- JACQUOT-ARMAND et RAVEUX. — *C.R. Ac. Sc.*, CCXIX, 1944, 82.
- JACQUOT et RAVEUX. — *C.R. Ac. Sc.*, CCXVI, 1943, 318.
- JAVILLIER. — *Bull. Soc. ch. biol.*, 1930, 709.
- *C.R. Ac. agr.*, XXVII, 1941, 348.
- JOHNSON (H. N.). — *Iowa agr. exp. St. res. Bull.*, LXXVI, 1923.
- JØRGENSEN, HANSEN et LUND. — *Microorganisms and fermentation*, 1939, Griffin and C^o, London.
- JOSLYN et DUNN. — *J. Am. chem. Soc.*, LX, 1938, 1137.

- KARRER. — *Bull. Soc. ch. biol.*, XXVIII, 1946, 688.
- KARSTRÖM. — *Erg. der Enzymforschung*, VII, 1938, 350.
- KEILIN. — *Proc. roy. Soc.*, CVI, 1930, 418.
- KHARASCH (M. S.), CONWAY (E. A.) et BLOOM (W.). — *J. bact.*, XXXII, 1936, 533.
- KISSLING. — *Naturwiss.*, XXVII, 1939, 129.
- KLENK. — *Ztschr. physiol. Ch.*, CLXXIX, 1928, 312.
- KLUYVER (A. J.). — *Biochemische suferkebepalingen*, Leiden, 1914.
- KLUYVER et CUSTERS. — *Ant. van Leeuw.*, VI, 1939-40, 121.
- KLUYVER et HOOGERHEIDE. — *Proc. Kon. Ak. v. Wet.*, XXXVI, 1933, 605, et *Enzymologia*, I, 1936, 1.
- KRAUSE et ELLIS. — *Annals of Botany*, I, 1937, 499.
- KUFFERATH. — *Ann. de zymologie*, Série 2, II, 1931, 9.
- KUHN et DRUMM. — *Ber. der deutsch. chem. Ges.*, LXIII, 1932, 1458.
- LANGERON (M.). — *Précis de mycologie*, 1945, Masson et Cie, Paris.
- LANGERON et BAEZA. — *Ann. de parasit.*, XIV, 1936, 398.
- LANGERON et GUERRA. — *Ann. de parasit.*, XVI, 1938, 36, 160, 429, 481.
- LANGERON (M.) et LUTERAAN (Ph. J.). — *Ann. de parasit.*, XXIV, 1949.
- LANGERON et MILOCHEVITCH. — *Ann. de parasit.*, VIII, 1930, 465.
- LAVOLLEY et LABOREY. — *C.R. Ac. Sc.*, CCVI, 1938, 1055.
- LEBRETON. — *La lipogénèse chez les animaux supérieurs*. Ed. de la Maison de la Chimie, n° 728.
- LECHARTIER et BELLAMY. — *C.R. Ac. Sc.*, LXIX, 1869 et LXXXI, 1875.
- LEDERER. — *Les caroténoïdes des plantes*. Actualités scient. et industr., n° 137, Paris, Hermann.
- LINDNER et UNGER. — *Ztschr. techn. Biol.*, VII, 1919, 68.
- LIPMANN. — *Bioch. Ztschr.*, CCLXV, 1933, 144 et CCLXVIII, 1934, 205, et *Adv. in enzym.*, I, 1941, 99.
- LIPMANN (F.) et TUTTLE (L. C.). — *J. biol. chem.*, CLIII, 1944, 571.
- LOHMANN. — *Bioch. Ztschr.*, CCXXXVII, 1931, 445.
- LOHMANN et SCHUSTER. — *Naturwiss.*, XXV, 1937.
- LUTERAAN. — *Ann. de parasit.*, XXII, 1947, 110.
- LUTERAAN et CHOAY. — *Ann. de parasit.*, XXII, 1947, 89.
- LUTERAAN (Ph. J.), LANGERON (M.) et MÉRY (J.). — *C.R. Acad. sc.*, CCXXVIII, 1949, 338-340.
- LUTERAAN, CHAMPEAU et CHOAY. — *C.R. Soc. Biol.*, CXLI, 1947, 116-118.
- LUTERAAN et DIENG. — *C.R. Ac. Sc.*, CCXXVI, 1948, 1032.
- LUTERAAN et LANGERON. — *C.R. Acad. Sc.*, CCXXVIII, 1247.
- *Ibid*, CCXXVIII, 1523.
- MACFARLANE. — *Bioch. J.*, XXX, 1936, 1369.
- MAGNUS LEVY. — *Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere*, 1925.
- VON MALLINCKRODT HAUPT. — *Centralblatt f. Bakt.*, CIII, 1927, 73.
- MANIL. — *Microbes et actions microbiennes*, 1947, Desoer, Paris.
- MAYER et SCHAEFFER. — *Jl physiol. et pathol. gén.*, XV, 1913, 510, etc., XVI, 1914, 203, etc...
- MERY et LUTERAAN. — *C.R. Acad. Sc.*, CCXXVI, 1948, 1215.
- MEYERHOF (O.). — *Erg. f. Enzymforschung*, IV, 1935, 208.
- *Bioch. Ztschr.*, CLII, 1925, 43.
- *Nature*, CXXXII, 1933, 337.
- *J. biol. chem.*, CLVII, 1945, 105.
- *Ant. van Leeuw.*, XII, 1947.
- MEYERHOF et KIESSLING. — *Bioch. Ztschr.*, CCLXXIII, 1935, 209.

- MEYERHOF, KIESSLING et SCHULTZ. — *Bioch. Ztschr.*, CCCIII, 1939, 40.
- MEYERHOF et JUNOWICZ KOCHOLATY. — *J. biol. chem.*, CXLV, 1942, 443 ; CXLIV, 1943, 71.
- MINARD (G.). — *Amination et décarboxylation par les levures*, Thèse sc., Lyon, 1938.
- MOLLIARD. — *C.R. Acad. Sc.*, CLXIII, 1916, 570 ; CLXVII, 1918, 1043 ; CLXVIII, 1919, 360 ; CLXX, 1920, 949 ; CLXXIV, 1922, 881.
- *C.R. Soc. biol.*, LXXXIII, 1920, 50.
- MONOD (J.). — *C.R. Acad. Sc.*, CCXII, 1941, 934.
- MOREL et GAUTHERET. — *Rev. scient.*, (Paris), LXXXV, 1947, 649.
- *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes*, Hermann et Cie, Paris, 1942.
- MRAK et BONAR. — *Ztblatt f. Bakt.*, II Abt, C, 1939, 289.
- MYRBÄCK et VASSEUR. — *Ztschr. physiol. chemie*, CCLXXVII, 1943, 171.
- NADSON et MEISL. — *C.R. Ac. Sc.*, CLXXXIII, 1926, 82.
- NÄGELI et LOEW. — *J. f. prakt. Chem.*, XXI, 1880, 97.
- NEUBERG. — *Bioch. Ztschr.*, CLXXX, 1927, 477.
- NEUBERG et von MAY. — *Bioch. Ztschr.*, CXL, 1923, 299.
- NEUBERG et WEIMANN. — *Bioch. Ztschr.*, CC, 1928, 473.
- NICKERSON (W. T.). — Respiration and fermentation of pathogenic fungi et Metabolic products of pathogenic fungi in *Biology of pathogenic fungi*, Chronica botanica, 1947.
- NICKERSON (W. T.), WILLIAMS (J. W.) et WILLIAMS (Ph. D.). — Nutrition and metabolism of pathogenic fungi in *Biology of pathogenic fungi*, Chronica botanica, 1947.
- NICKERSON et CHADWICK. — *Archiv. biochem.*, X, 1946, 81.
- *Mycopathologia*, IV, 1948, 279-283, pl. XIV.
- NIELS NIELSEN. — *Archiv. f. mikrobiol.*, XII, 1942, et *Bioch. Ztschr.*, CCCVIII, 1941, 187.
- NIETHAMMER (A.). — *Arch. Mikrobiol.*, XII, 1941, 312 ; XIII, 1943, 140. — *Fette und Seifen*, L, 1943, 309.
- NILLSON, ENEBO, LUNDIN et MYRBÄCK. — *Svensk. Kem.*, LV, 1943, 41.
- NORD et WEIDENHAGEN. — *Handbuch der Enzymologie*, 1940, Becker et Erler, Berlin.
- NORD. — *Alkoholische Gärung*. In Nord et Weidenhagen.
- PAQUOT. — *Industries des corps gras*, III, 1947, 111 et 140.
- PASTEUR (L.). — *Etudes sur la bière*, Paris, 1876.
- *C.R. Ac. Sc.*, LXXX, 1875, 452.
- PĂTIĂLĂ. — *Ann. de parasit.*, XXII, 1947, 237.
- PECK et HAUSER. —
- PETT. — *Bioch. J.*, XXIX, 1935, 937.
- PEYNAUD et RIBERAU-GAYON. — *C.R. Ac. Sc.*, CCXXIV, 1947, 1338.
- PLANTEFOL. — *C.R. Acad. Sc.*, CCIV, 1937, 370 et 1886 ; CCVII, 1938, 83 ; CCVIII, 1939, 927.
- POLONOVSKI. — *Glycolyse et respiration. Exposés ann. bioch. méd.*, 1944.
- PORTIS et ALTMAN. — *J. biol. chem.*, CLXIX, 1947, 203.
- PRÉVOT. — *C.R. Soc. biol.*, CXXVII, 1938, 489.
- PRATT et DUFRÉNOY. — *Bact. Rev.*, XII, 1948, 79.
- PRILL, WENCK et PETERSON. — *Bioch. J.*, XXIX, 1935, 29.
- QUASTEL et WHEATLY. — *Bioch. J.*, XXVI, 1932, 2169.
- QUASTEL. — *Enzymologia*, II, 1937, 37.

- QUILLOT (Noël). — *C.R. Soc. biol.*, CXXXI, , 279.
- RAAF (H.). — *Archiv f. Mikrob.*, XII, 1941, 132.
- RAULIN. — *Etudes chimiques sur la végétation*. Thèse sc., Paris, 1870. Réimpression, Paris, Masson et Cie, 1905.
- REICHEL. — *Angew. Chem.*, LIII, 1940, 577.
- REICHEL et SCHMID. — *Bioch. Ztschr.*, CCC, 1939, 274.
- REICHERT. — *Helv. ch. Acta*, XXVII, 1944, 961.
- REINER (T. M.) et SPIEGELMANN (S.). — *J. gen. physiol.*, XXXI, 1947, 51.
- RENAUD et LACHAUX. — *C.R. Acad. sc.*, , 1944, 499.
- RETOVSKI. — *Bull. Soc. ch. biol.*, XVII, 1935, 1614.
- RIPPEL et WIANGKE. — *Archiv f. Mikrobiol.*, XII, 1941, 124.
- RIPPEL. — *Naturwiss.*, XXXI, 1943, 248.
- RITTENBERG et FORSTER. — *J. biol. chem.*, CXXXIII, 1940, 737.
- ROBERTS (C.). — *Am. J. bot.*, XXXIII, 1946, 237-244.
- ROGER (H.). — *Presse méd.*, 1940, p. 413.
- ROSENHEIM. — *J. Soc. chem. ind.*, LI, 1932, 22.
- SANNÉ. — Les mélanines. *Exp. ann. bioch. méd.*, 1945.
- Pigments et substances antibiotiques des champignons et des bactéries. *Exp. ann. de bioch. méd.*, 1946.
- DE SAINT-RAT et LUTERAAN. — *C.R. Acad. Sc.*, CLXXIV, 1947, 1587.
- SCHOEN. — *Ann. des ferment.*, I, 1935, 257.
- SCHOENHEIMER et RITTENBERG. — *J. biol. chem.*, CXIV, 1936, 381.
- SCHOPFER. — *C.R. Ac. Sc.*, CCV, 1937, 445.
- *C.R. Soc. Biol.*, CXVIII, 1935, 3.
- *Bull. Soc. bot. Genève*, XX, 1928, 149.
- SCHOPFER et BLUMER. — *Archiv f. Mikrob.*, IX, 1938, 305.
- SCHMALFUSS et MOTHES. — *Bioch. Ztschr.*, CCXXI, 1930, 134.
- SCOTT (M. L.), NORRIS (L. C.) et HEUSER (G. F.). — *J. biol. chem.*, CLXVI, 1946, 481.
- SHAPIRO et WERTHEIMER. — *Biochem. J.*, XXXVII, 1943, 102.
- SHIBATA. — *Erg. f. Enzymforschung*, A, 1935, 357.
- SMEDLEY MAC LEAN. — *The metabolism of fat*, 1943, Methuen, London.
- *Bioch. J.*, XVI, 1922, 370.
- SMEDLEY MAC LEAN et HOFFERT. — *Biochem. J.*, XVII, 1923, 720 ; XVIII, 1924, 1273.
- SPIEGELMAN et MOZAWA. — *Archiv of bioch.*, VI, 1945, 303.
- STÄRKLE. — *Bioch. Ztschr.*, CLI, 1924, 371.
- STELLING DEKKER. — *Die Sporogenen Hefen*, Thèse d'Amsterdam, 1931.
- STEPHENSON. — *Bacterial metabolism*, Longmans, 1939.
- STEPHENSON et STICKLAND. — *Bioch. J.*, XXVII, 1933, 1528.
- STEPHENSON et WHETHAM. — *Proc. roy. soc.*, XCIII, 1922, 262.
- STEPHENSON et YUDKIN. — *Bioch. J.*, XXX, 1936, 506.
- STIER et STANNARD. —
- STILES et LEACH. — *Respiration in plants*, Methuen and Co, London, 1936.
- STOLL. — Quelques aspects chimiques et pharmacologiques des alcaloïdes de l'ergot de seigle. *Exp. ann. de bioch. méd.*, 1947.
- STRONG et CARPENTER. — *Ind. eng. chem.*, Anal. éd., XIV, 1942, 909.
- TANRET. — *C.R. Ac. Sc.*, LXXXI, 1875, 896.
- TÄUFEL, THALER et SCHREYEGG. — *Ztschr. Unters. der Lebensm.*, LXXII, 1936, 394.
- TERROINE et BELIN. — *Bull. Soc. chim. biol.*, IX, 1927, 12.
- TERROINE, BONNET et DUQUENOIS. — *Bull. Soc. chim. biol.*, IX, 1927, 597.
- TERROINE et BONNET. — *Bull. Soc. chim. biol.*, IX, 1927, 588.

- TERROINE, BONNET, KOPP et VÉCHOT. — *Bull. Soc. chim. biol.*, IX, 1927, 605 ; IX, 1927, 678.
- TERROINE et WURMSER. — *Bull. Soc. chim. biol.*, IV, 1922, 519.
- THALER et EISENLOHR. — *Bioch. Ztschr.*, CCCVIII, 1941, 188.
- THALER et GEIST. — *Bioch. Ztschr.*, CCCII, 1939, 121 et 361.
- THOMPSON et STEENBOCK. — *Archiv of biochem.*, IV, 1944, 15.
- VAN LAER. — *La chimie des fermentations*, 1935, Masson et Cie, Paris.
- *La bière*, 1942, Masson et Cie, Paris.
- VERNE (J.). — *Bull. histol. appl.*, XIII, 1936, 433.
- VON EULER et KARRER. — *Helv. ch. Acta*, XII, 1929, 278.
- VON EULER, FISCHER et LOEWENBERG. — *Ber. der deutsch. chem. Ges.*, LXI, 1928, 25 et LXIX, 1936, 445.
- WARBURG. — *Biochem. Ztschr.*, CXXXIX, 1927, 350.
- WARBURG et CHRISTIAN. — *Biochem. Ztschr.*, CCIII, 1939, 40.
- WARD et JAMIESON. — *J. amer. chem. Soc.*, LVI, 1934, 973.
- WATTIEZ et STERNON. — *Eléments de chimie végétale*, 2^e éd., 1942, Masson et Cie, Paris.
- WEIDENHAGEN. — In Nord et Weidenhagen. *Erg. der Enzymf.*, I, 1932, 168.
- WEISSBERG. — *Ann. paras.*, XXII, 1947, 242.
- WELSCH. — *Le dosage microbiologique des vitamines*, 1947, Masson et Cie, Paris.
- WESTERDIJK. — *Ant. van Leeuw.*, XII, 1947, 223.
- WICKERHAM et BURTON. — *J. bact.*, LVI, 1948, 363.
- WHITE, KROMPITZ et WERKMAN. — *T. Bact.*, LIII, 1947, 377.
- WILLSTÄTER, SCHNEIDER et BAMANN. — *Ztschr. physiol. Chem.*, CXLVII, 1925, 248.
- WILLSTÄTER et BAMANN. — *Ztschr. physiol. Chem.*, CLI, 1926, 242.
- WIELAND et WILLE. — *Liebig's Ann. der Ch.*, 515, 1935, 260.
- WOLFF. — *Le magnésium en biochimie. Exposés ann. de biochim. méd.*, 1939.
- WURMSER. — *L'électro-activité dans la chimie cellulaire*, 1935, Hermann et Cie, Paris.
- *Ann. de physiol. et phys. ch. biol.*, IX, 1933, 923.
- Les potentiels d'oxydo-réduction des systèmes biologiques. *Exp. ann. bioch. méd.*, 1939.
- YUDKIN. — *Biol. Rev.*, XIII, 1938, 93.

Institut de parasitologie de la Faculté de médecine de Paris

(Directeur : Prof. E. Brumpt)

Section de mycologie (chef de service : Dr M. Langeron)