Les effets morphologiques et physiologiques d'action des sulfates sur les *Citromyces*.

Par

IRÈNE LIPSKA.

Ce travail est la suite de celui qui a été publié dans le même journal en 1924 [25]. Vu l'étendue du sujet nous nous bornerons à l'étude des changements concernant: 1° l'habitus des croûtes des *Citromyces*, 2° la structure microscopique de leurs mycéliums, 3° la quantité de conidies, 4° la coloration des croûtes et du milieu, 5° l'acidité du milieu, 6° la quantité de sucre resté et 7° la production de l'amidon. La description comparative des *Citromyces* est faite après un mois de culture à 21—23°C sur la solution nutritive de la composition suivante:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - \frac{1}{20}$ Mol = 0.661%

$\text{KH}_2\text{PO}_4 - \frac{1}{40}$ Mol = 0.341%

$\text{MgSO}_4 - \frac{1}{80}$ Mol = 0.308%

Saccharose — $\frac{1}{10}$ Mol = 3.420%

additionnée d'un sulfate employé à six doses depuis 1 Mol = Nr. 1 jusqu' à $\frac{1}{100.000}$ Mol = Nr. 6.

L'action inhibitoire des sulfates sur les *Citromyces* se fait sentir sur leur habitus de deux manières: en cas de la faible nocivité du sel, il y a une formation des croûtes complètes présentant cependant des caractères anormaux (partie A de la table I) et si l'action du sel est plus forte, après une tardive germination des conidies, leur développement s'arrête de bonne heure (partie B de la table). La partie A de la table se divise à son tour en deux: d'un côté la croûte dégénérée reste humide et forme des couches succesives de manière à remplir après trois mois l'éprouvette jusqu'au fond par une masse stratifiée; d'un autre côté la croûte de quelques *Citromyces* réagit aux conditions anormales par un plissement excessif et forme dans les cas extrêmes quelque chose comme des culs-

de-sac de deux cm. de longueur, presque fermés en haut. La partie B de la table nous renseigne que c'est le *Citromyces Pfefferianus* qui est le plus résistant à l'action nocive des sulfates et que la plus forte influence inhibitoire est exercée par le sulfate de Cd.

L'observation de tous les jours nous a montré que les croûtes des *Citromyces* cultivés sur un milieu riche ont une tendance marquée de devenir humides. On constate que l'humidité de la croûte n'est pas causée tout simplement par l'augmentation de la densité du milieu, car sur les sulfates de NH_4 et de Mg à 1 Mol. le développement des *Citromyces* reste normal. De même en doublant et en quadruplant la dose de phosphate de K, on n'obtient que de faibles différences de la croissance. La différence devient plus accentuée dans le cas de saccharose où on observe que chez les *Citromyces* α , β et *Pfefferianus* l'épaisseur de la croûte et son humidité vont parallèlement à l'augmentation de la concentration de sucre; le même effet se fait sentir sur le milieu double. L'humidité passagère ne durant que quelques jours au début du développement des *Citromyces* s'observe toujours dans les cultures faites sur les milieux gélosés en couche inclinée en bas de l'éprouvette où la teneur en eau de gélose est plus élevée. L'existence d'un rapport direct entre la quantité d'eau du milieu solide et l'humidité du mycélium a été constatée aussi par W. Teichmann [40] chez une *Monilia* cultivée sur les différentes espèces de betterave où le pourcentage d'eau a varié de 45 à 91. Le fait indiqué plus haut qu'un *Citromyces* forme parfois une croûte composée de 10–12 couches superposées montre qu'il n'existe pas une intoxication du milieu par les déchets d'assimilation, voir: C. Wehmer [46], Fr. Boas [10] et J. Nikitinsky [29]. Quant aux altérations décrites à la table I partie B, nous pouvons les expliquer par une facilité plus ou moins grande des conidies de surnager; ce qui est un caractère spécifique des espèces de *Citromyces*: ainsi les conidies des *C. \gamma* et *C. glaber* d'Amsterdam sont moins protégées à cet égard, que celles de *C. \beta* et de *C. \alpha*, les plus protégées sont celles de *C. Pfefferianus* et de *C. glaber*.

L'examen microscopique des cultures âgées d'un mois nous a fait constater chez elles une fréquente formation des filaments anormaux, connus sous le nom de „Riesenzellen“ ou des cellules géantes, voir: M. Raciborski [34], G. Ritter [35], O. v. Plotho [32] et E. Pantanelli [30]. La grandeur maximum de ces cellules observée chez les *Citromyces* était 50 μ . Durant nos expériences, nous avons observé à côté des cellules géantes une transformation des

filaments des *Citromyces* en petites cellules rondes à paroi épaisse. Les deux modes de la croissance anormale du mycélium se manifestent dans les croûtes déformées, tandis que dans les flocons filamenteux submergés, on observe une excessive ramification du mycélium, dont les branches restent cependant séparées. Dans le cas des colonies compactes flottant à la surface du liquide, les filaments du mycélium se ramifient d'abord abondamment, ensuite les branches s'enchevêtrent de manière à composer de petites masses compactes. Nous avons réuni dans la table II les résultats de l'action des sulfates sur la structure du mycélium des *Citromyces*. Il importe de souligner la résistance tout exceptionnelle du *Citromyces Pfefferianus* qui n'a jamais présenté des alterations indiquées plus haut. Le *C. glaber* d'Amsterdam est de nouveau le plus sensible à l'influence nocive des sulfates ; sa sensibilité se fait constater non seulement par la fréquence des déformations observées du mycélium, mais aussi par la plus faible concentration de ces sels qui les a occasionnées.

En étudiant les différents sujets de la physiologie des moisissures, on a recueilli de nombreuses observations touchant la question de la formation des conidies, mais on ne connaît guère les causes déterminantes. L'action inhibitoire des sels non toxiques, en dose plus élevée, sur la production des conidies chez les moisissures a été observée déjà par les auteurs plus anciens, comme : O. H. v. Mayenburg [26], J. Gössl [17] et R. Lieske [24]. Plus récemment, l'influence des substances azotées et hydrocarbonées sur la formation des conidies chez l'*Aspergillus niger* a été étudiée par Fr. Boas [3, 6], W. Vorbrodt [41] et D. Schmidt [38]. Durant nos expériences, nous avons constaté qu'une teneur plus élevée en azote et en carbone est accompagnée chez les *Citromyces* d'une apparition tardive et moins abondante des conidies, tandis que l'augmentation de la concentration de KH_2PO_4 reste sans effet. L'influence du milieu double se fait de même sentir par un fort développement du mycélium et par une faible production des conidies ; par contre, sur le milieu fondamental dix fois dilué les croûtes minces des *Citromyces* sont complètement couvertes de conidies. Il semble, qu'un antagonisme existe entre la croissance du mycélium et celle des conidies ; un phénomène analogue se manifeste dans la physiologie animale où l'opulence marche de pair avec une faible fécondité. La table III nous montre quel influence ont les sulfates sur la formation des conidies (la quantité de conidies est évaluée d'une manière subjective

et n'a qu'une valeur comparative). Il résulte de ces données que la production, plus ou moins abondante, des conidies est une propriété caractéristique et stable d'un *Citromyces*; ainsi *C. glaber* les produit toujours et en grande quantité, par contre *C. glaber* d'Amsterdam et surtout *C. a.* ont une tendance bien accentuée de ne pas former de riches conidies, dès que les conditions d'existence deviennent pour eux plus difficiles. La question de la spécificité d'action des sulfates sur la formation des conidies doit être résolue en sens positif vu que l'expérience a démontré que le sulfate de Cd permet chez les *C. a.* et *C. glaber* d'Amsterdam de les produire abondamment, tandis que chez le *C. glaber* et *C. γ* leur production sur ce sel est faible. Les formes nouvelles des moisissures, obtenues par la mutation sous l'action de divers composés chimiques, ont été décrites par plusieurs auteurs; notons entre autres: E. Schieman n [37] et H. J. Waterman [42]. Quant à nous, dans les conditions de nos expériences, nous n'avons pas obtenu des changements durables des *Citromyces*.

Suivant le plan du travail exposé au commencement, il nous faut à présent aborder l'étude des matières colorantes produites par les *Citromyces*. De nos moisissures, c'est *C. γ*. qui produit le plus de pigment jaune-orangé sur le milieu fondamental; ce pigment semble être simple et il est bien soluble dans l'eau; *C. glaber* en produit moins, *C. a.* sécrète un pigment jaune virant en vert qui est soluble et un second — rose qui reste dans le mycélium, *C. glaber* d'Amsterdam produit aussi deux pigments solubles, dont l'un est jaune-clair et un autre — rouge-brun. Quant aux *C. β.* et *C. Pfefferianus*, ils sont incolores. La coloration du dessous de la croûte commence ordinairement dès le troisième jour du développement; le jour suivant, le milieu se colore d'abord au voisinage immédiat du mycélium, ensuite le pigment passe par la diffusion plus bas et en dix jours, à peu près, tout le liquide dans l'éprouvette est uniformément coloré. Sur les milieux Nr. 1 et 2, c'est-à-dire là où la concentration de sulfate ajouté est de 1 Mol. et de $\frac{1}{10}$ Mol., les croûtes peuvent être colorées, sans que cette coloration passe dans le liquide. On peut ajouter à ces données, qu'en général l'intensité de la coloration du liquide a été au commencement plus accentuée dans les concentrations plus fortes d'un sulfate, ensuite toutes les dilutions s'égalisaient par leur teinte, tandis qu'à la fin d'un mois, c'est les milieux plus dilués qui étaient plus colorés. Parfois, la coloration s'affaiblit partout avec le temps, ce qui a été observé chez

le *C. a.* et chez *C. glaber*. La propriété des moisissures ainsi que d'autres microorganismes de sécréter les pigments a été peu étudiée et les données sont disparates, voir: Th. Milburn [28], H. Papenhausen [31], C. Wehmer [45], W. Wöltje [47] et Bainier et Sartory [1]. Des travaux tout récents, il est à citer celui de R. Schnucke [39] et de A. Danilow [15] qui ont étudié l'influence des sels azotés sur la production du pigment chez plusieurs moisissures communes. Les résultats de nos expériences avec trois concentrations d'azote et de sucre sont suivants: 1^o la coloration de quatre *Citromyces* est inversement proportionnelle par son intensité à la quantité d'azote du milieu; 2^o elle est en raison directe de la teneur en sucre ou de la quantité d'acide produit, ce qui revient au même. Sur le milieu double tous les quatre *Citromyces* sont fortement colorés, tandis que sur le milieu dix fois dilué, ils sont complètement incolores; on voit par ces faits que la production du pigment dépend entièrement de l'état physiologique de la moisissure. Nous pouvons à présent examiner la table IV, où nous avons réuni les résultats d'action des sulfates sur la pigmentation des *Citromyces*. On y voit que le *C. a* est le plus sensible à cet égard et réagit par la suppression complète du pigment — quatre fois et par une faible production — trois fois. Ce résultat était à prévoir, car ce *Citromyces* appartient au premier groupe, où les *C. β.* et *C. Pfefferianus* sont incolores. Les *Citromyces* du second groupe sont par contre bien stables dans la production du pigment. Le *C. glaber* et *C. γ.* qui lui est parent montrent une remarquable identité dans la manière de se comporter; *C. glaber* d'Amsterdam, qui leur est bien proche, mais qui est plus sensible à l'influence inhibitoire des sulfates, les suit de près. Nous voyons que la production des pigments est un caractère individuel d'une race des *Citromyces* et que son intensité dépend du milieu, qui doit satisfaire les besoins des moisissures; sa concentration influe peu sur la coloration jusqu'à ce qu'elle ne dépasse pas une certaine limite et n'entrave pas le développement normal des *Citromyces*; l'action spécifique des sulfates marche de pair avec leur influence inhibitoire pour un *Citromyces* donné et peut conduire à une disparition de sa coloration; cette suppression du pigment n'est que temporaire et les cultures obtenues des conidies prises sur les croûtes incolores sur un milieu approprié sont de nouveau colorées. Il nous reste un mot à dire de quelques réactions chimiques du pigment jaune de *C. γ.* Une grande croûte de cette moisissure âgée de quinze jours a été bien lavée à l'eau di-

stillée chaude, séchée à 60° C et réduite en poudre. Les portions de 0.2 gr de ce poudre étaient soumises à froid à l'action de 2 cm³ d'alcool, d'éther, de chloroforme, de benzol et de bisulfure de carbone. La coloration du chloroforme après 24 heures fut la plus intense, celle de bisulfure — la plus faible et celle de trois autres dissolvants — la moyenne et de la même intensité. Ces extraits mis à sec ne se dissolvaient plus dans l'eau. La solution alcoolique du pigment teint sans un mordantage préalable la peau, la laine, la soie, le coton et le lin. Ces produits textiles colorés de cette manière supportaient bien l'action du soleil et du lavage.

Maintenant, nous allons étudier l'influence des sulfates sur la faculté des *Citromyces* de transformer le sucre du milieu en acide citrique. La production de cet acide par ces moisissures a été étudiée non seulement à cause de son intérêt purement scientifique, mais aussi pour sa valeur technique. Les meilleures conditions de la production de cet acide sont connues par les travaux de C. Wehmer [43—46], de Mazé et Perrier [27], de E. Buchner et H. Wüstenfeld [11] et de R. O. Herzog et A. Polotzky [20]. Dans le temps plus récent, la question de la production des acides par les moisissures et de leur résistance à l'action nocive des acides ajoutés au milieu de culture a été étudiée par: Fr. Boas [3—10], Wl. Butkewitsch [12—14], S. J. Kusnetzov [23] et K. Bernhauer [2]. Vu l'étendue du sujet qui a exigé à un moment donné l'étude microscopique et chimique de 36 cultures (72 avec des cultures parallèles), nous nous sommes bornés à la mesure d'acidité potentielle, car les manipulations de la détermination de H-ions libres demandent plus de temps; l'emploi de la méthode colorimétrique de Sørensen n'était pas possible à cause des pigments sécrétés par les *Citromyces* et aussi de la coloration des sulfates; de plus la petite quantité de liquide disponible pour toutes les opérations (10 cm³) présentait une difficulté. Dans la table V sont réunis les résultats d'une expérience faite avec trois concentrations de saccharose ($\frac{1}{10}$, $\frac{1}{5}$ et $\frac{1}{2.5}$ Mol), où nous avons préparé huit cultures parallèles pour déterminer la marche progressive d'acidité du milieu; nous y voyons que dans la série A l'acidité atteint en 14 jours presque son maximum, tandis que dans les deux séries suivantes, où la dose de sucre est deux et quatre fois plus grande, l'accroissement de l'acidité est plus lent. Le caractère individuel des *Citromyces* se fait sentir dans l'allure de cet accroissement: il est plus rapide au commencement chez les *Citromyces*: β , *Pfefferianus*, *glaber*

et γ ; il est, par contre, régulièrement progressif chez les deux derniers. Il convient de souligner que quelques cas notés dans cette expérience d'une diminution de l'acidité avec le temps, ne le sont qu'en apparence, vu que la titration a été faite avec les différentes cultures d'un *Citromyces*, ce qui explique une certaine irrégularité observée par des variations individuelles; néanmoins le mode d'accroissement d'acidité obtenu de cette manière présente le caractère d'une moyenne des 8 cultures et a plus de valeur objective. La vraie diminution d'acidité due à l'utilisation de l'acide citrique par les *Citromyces* est un fait constaté, mais il a lieu dans un milieu déjà privé de sucre, ce qui n'était pas le cas dans les conditions de nos expériences. Sur la même table, nous avons donné les résultats de la détermination de l'acidité faite dans un milieu fondamental simple et double après 5, 10, 15 et 30 jours (les nombres indiquent le pourcentage de soude normale). Le milieu fondamental, mais avec une dose d'azote quatre fois plus petite, ne permet pas aux *Citromyces* de produire une acidité normale, tandis que diminuée à moitié, elle semble déjà satisfaire leurs besoins vitaux. Le maximum d'acidité est obtenu par les *Citromyces* sur le milieu double, ce qui semble prouver que non seulement tous les composés chimiques indispensables doivent être présents dans le milieu de culture dans une quantité suffisante, mais qu'une certaine relation doit exister entre eux; dès que cette relation favorable est rompue, la moisissure ne profite pas d'une surabondance d'un ingrédient. Il est à noter que l'influence des sulfates se fait peu sentir dans les trois dernières dilutions (de $\frac{1}{1.000}$ à $\frac{1}{100.000}$ Mol); la table VI facilite la comparaison des valeurs obtenues; nous y voyons une grande uniformité dans l'acidité d'un *Citromyces* donné.

En poursuivant notre étude, abordons à présent la question de la quantité de sucre consommé par les *Citromyces* dans les conditions normales du milieu et sous l'influence des sulfates. Il résulte des expériences de Mazé et Perrier [27] que la consommation du saccharose par leurs *Citromyces* se fait dans les conditions normales progressivement et ne s'arrête pas même après six semaines, quand la quantité de sucre utilisée par la moisissure dépasse la moitié du sucre initial (11.6 p. 100). Dans nos expériences la dose de saccharose n'était que 3.4 p. 100, mais la surface libre présentée aux *Citromyces* y était beaucoup plus petite proportionnellement à la quantité de liquide, pour cette raison dans un délai d'un mois pas une seule fois la totalité du sucre n'a pas été utilisée par nos

moisissures. Dans la table VII, nous avons exposé les résultats concernant la quantité de sucre interverti par les *Citromyces* cultivés sur le milieu simple et double et non utilisé par eux dans 5, 10, 15 et 35 jours de leur croissance. Dans cette table et la suivante, les nombres indiquent la quantité de monoses dans 5 cm³ de milieu calculée en mgr. de glucose (dans 5 cm³ de milieu stérilisé nous avons trouvé 11.45 mgr). Jusqu'à présent on ne connaît guère la marche de la transformation du saccharose par la sucrase (invertase) sécrétée par les *Citromyces*. Pour élucider la question de la consommation du sucre en cas du saccharose utilisé pour le milieu de culture, il serait nécessaire de faire deux déterminations du sucre: une fois — avant l'hydrolyse artificielle du milieu et une seconde fois après l'inversion du saccharose, la différence nous aurait renseigné sur la quantité de sucre non interverti par les moisissures. Quant à nous, nous n'avons pu faire qu'une seule détermination du sucre du milieu, notamment de celui non hydrolysé préalablement. Par ce fait, en constatant pour un *Citromyces* donné une quantité plus grande de sucre interverti resté dans le milieu, nous n'avons par le droit d'en conclure qu'il a travaillé plus économiquement, car le même effet peut être simplement dû à une plus forte inversion du saccharose, causée par l'action accélérante des sels ajoutés sur la sucrase. On pouvait éviter cet inconvénient par l'emploi du glucose pour le milieu de culture, mais comme nous nous sommes proposés d'étudier l'influence des sulfates sur l'ensemble des fonctions des *Citromyces*, il nous a fallu travailler dans les conditions les plus favorables du milieu et, selon les données de la littérature, c'est justement le saccharose parmi les sucres qui satisfait le mieux leurs besoins vitaux. La diminution la plus intense de la quantité de sucre interverti se fait sur le milieu simple et double entre le 15 et 35-me jour; ce n'est que *Citromyces glaber* d'Amsterdam qui fait l'exception. Dans la table VIII, nous avons réuni les résultats d'action des sulfates de Na, K et Al sur l'utilisation du sucre par les *Citromyces*; nous pouvons en conclure que la quantité de sucre (monose) non utilisé après un mois de culture chez tous les *Citromyces* est la plus grande pour le sulfate de K, celle pour le sulfate d'Al occupe une place moyenne et celle pour le sulfate de Na est la plus faible. A ce sujet, il convient de remarquer que certaines irrégularités des données s'expliquent facilement par le fait que les déterminations du sucre ont été faites sur les différentes cultures des *Citromyces* qui présentaient, sans doute, des variations individuelles.

La dernière et très intéressante question, que nous avons étudiée, c'est la propriété des *Citromyces* de produire l'amidon. Le fait que la membrane des moisissures peut parfois présenter la réaction connue de l'amidon (coloration bleue avec J) a été observé par plusieurs auteurs, voir M. Raciborski [34] et C. Wehmer [46]. Nous avons constaté déjà en 1915 à Moscou le bleuissement des croûtes des *Citromyces* cultivés avec l'addition des sulfates de Ni, Co et Cu. L'étude approfondie de ce sujet a été faite par Fr. Boas [3-7] en utilisant comme objet d'expérience *l'Aspergillus niger*. Cet auteur déclare qu'il n'a pu constater d'une manière absolument sûre le bleuissement des membranes de *Citromyces*. Nous allons relater les résultats de nos expériences: la table IX sert à montrer la marche de la formation d'amidon sur les trois concentrations de saccharose. L'examen de cette table montre que ce sont les *Citromyces* du second groupe qui sont les plus actifs et que parmi eux le prime gagne le *C. glaber*. Le *Pfefferianus* est le meilleur du premier groupe. Les résultats obtenus parlent en faveur d'une plus grande concentration de sucre, elle influe non seulement sur l'intensité du phénomène, mais aussi sur la vitesse de réaction et sur sa généralité. En effet, dans la dernière série (13.6 p. 100 de sucre), l'amidon se forme partout en 8 jours, excepté *C. α.* et *C. glaber* d'Amsterdam où la réaction n'apparaît qu'après un mois. Passons à l'exposé des résultats obtenus par nous avec le milieu simple et double après 4, 8, 15 jours, 4 et 6 semaines. Dans les trois premiers délais, ce n'est que *C. glaber* qui donne la réaction sur le milieu double déjà après 8 jours et *C. Pfefferianus* — après 15 jours. L'examen des cultures après un mois montre un bleuissement fort prononcé chez le *C. glaber* d'Amsterdam, tous les deux dans sur le milieu simple; dans le même délai, nous avons constaté sur le milieu double une forte réaction chez le *C. glaber* et *C. Pfefferianus*, elle est plus faible chez les *C. γ*, *C. glaber* d'Amsterdam et *C. α.* Après 6 semaines de culture sur les deux milieux, la réaction d'amidon devient générale, ce n'est que le *C. β.* qui ne la présente pas. Pour faciliter la revue de nos observations sur l'influence des sulfates sur la production d'amidon par nos *Citromyces*, nous les réunissons dans la table X. Dans cette table le signe O indique l'absence de développement de la moisissure, un trait — l'absence de la réaction avec J; l'intensité de cette réaction a été évaluée d'une manière subjective et les nombres n'ont qu'une valeur comparative. De l'examen de cette table ressort que *C. β.* n'a pas formé de l'amidon, sa production est plus

accentuée chez les *C. Pfefferianus* et *C. α*; *C. γ*. et *C. glaber* d'Amsterdam sont plus actifs, tandis que la première place est due au *C. glaber*, car les cas sont rares où l'on constate l'absence d'amidon dans sa croûte. La plus forte action inhibitoire est exercée par les sulfates de Na, Mg et Co; les sulfates de K, Mn, Ni et Cd influent sur la production d'amidon dans un degré plus faible; l'action des sulfates de NH_4 et de Fe^{++} devient encore plus atténuée et enfin, pour les sulfates d'Al et de Zn, elle ne se fait sentir que sur les *Citromyces* les plus sensibles. La production d'amidon est la plus prononcée avec les sulfates de Cu et de Fe^{++} ; ce qui est à souligner, car l'action inhibitoire de ces sels sur toutes les autres fonctions vitales des *Citromyces* est bien connue. Il faut noter qu'en général l'accroissement de la concentration d'un sulfate marche de pair avec un affaiblissement de la production d'amidon. Quant à la durée de réaction bleue avec J, elle était bien longue: nous avons observé une coloration bleue intense chez quelques *Citromyces* dans les expériences avec le sulfate de Cu après 2 mois à 23°C et avec le sulfate de Ni après 3 mois. On peut admettre que la faculté de produire l'amidon est générale chez ces moisissures, car même le *C. β*. et *C. Pfefferianus*, si difficiles sous cet égard, le produisent abondamment dans les conditions appropriées, voir le cas d'une plus grande concentration de sucre. L'examen microscopique des croûtes colorées en bleu avec J, nous a permis de constater que le bleuissement était dû à une coloration bleue diffuse du mycélium, mais qu'à côté des filaments colorés, on trouvait d'autres jaunes, couverts de petits flocons bleus, rappelant par leur caractère les précipitations des matières albuminoïdes (p. ex. dans le moût de bière). Dans la cas de sulfate de Mn, ces corpuscules bleus avaient un contour plus régulier et anguleux comme dans les grains d'amidon du riz. Quant aux cellules géantes, elles, selon les cas, restaient après l'addition de J jaunes ou présentaient une coloration bleue de la membrane ou de cellule entière. Ces différences de coloration du mycélium normal ou anormal sont caractéristiques de son état plus ou moins bon de vitalité. Selon nos observations le bleuissement du filament entier est un phénomène postmortel. La coexistence des filaments colorés par J en jaune et en bleu, s'explique par le fait que la croûte d'une moisissure ne garde pas sa pleine vitalité qu'en partie de filaments.

Faute de place, nous ne discuterons pas les résultats des travaux concernant l'étude d'amidon chez les plantes vertes et chez

les algues [16, 18, 19, 21, 33, 36] pour ne nous arrêter que sur le travail tout récent de D. Schmidt [38] qui traite la formation d'amidon chez l'*Aspergillus niger*. En nous basant sur nos résultats, nous ne pouvons pas arriver à la conclusion de cet auteur que l'amidon ne se forme que dans un mycélium bien développé. De même, nous ne sommes pas d'accord avec D. Schmidt sur l'effet déterminant la production d'amidon d'un rapport constant entre les matières azotées et hydrocarbonées du milieu de culture. De fait, il existe, selon nos observations, un minimum de substances alimentaires nécessaires pour la croissance normale de la moisissure sans lequel la formation d'amidon n'est pas possible (par exemple sur le milieu fondamental dix fois dilué); à partir de ce minimum l'augmentation d'un des composés du milieu peut avoir lieu jusqu'à un maximum qui n'entrave pas encore le développement des *Citromyces*, sans que ce changement du rapport cité provoque un changement visible dans la fonction en question. Durant nos expériences, nous n'avons pas constaté un rapport inverse qui existe, selon Boas et Schmidt, entre la quantité de conidies et celle d'amidon; dans les cas où le milieu est bien approprié aux besoins des *Citromyces*, on peut observer à côté d'une abondance de conidies aussi celle d'amidon; l'influence d'une suralimentation se traduit par une faible formation des conidies et par une forte production d'amidon. Quant à l'action d'acidité, nous acceptons la manière de voir de Boas, qu'elle joue un rôle déterminant la production d'amidon, mais nous admettons qu'à côté de cet agent il existe d'autres, comme p. ex. l'action des sels. Il nous semble possible d'admettre qu'au moment où l'alimentation des moisissures cesse de satisfaire leurs besoins vitaux à la suite d'une culture prolongée, l'autoregulation des ferments ne fonctionne plus normalement et l'amidon apparaît. Si la cause nuisible agit d'une manière lente et progressive, comme dans le cas d'accumulation des acides, la moisissure peut parcourir son cycle complet d'évolution et présenter un habitus normal, tout en emmagasinant dans ces parties plus âgées du mycélium une quantité d'amidon augmentant avec le temps.

Conclusions.

1. L'action spécifique des sulfates se fait sentir par les déformations des croûtes de *Citromyces* et par les anomalies de leur mycélium.
2. La richesse plus ou moins grande des conidies est un caractère spécifique des *Citromyces* qui varie peu sous l'action des sulfates.

3. La plus abondante formation des conidies a été observée sur les sulfates de Mg., Al, Mn et Zn.

4. L'addition de 1 Mol. d'un sulfate non toxique ne supprime pas chez un *Citromyces* résistant la production normale des conidies.

5. Aucun cas de mutation n'a été observé chez les *Citromyces* étudiés sous l'action des sulfates.

6. La production des pigments par les *Citromyces* est peu influencée par l'addition des sulfates.

7. Par l'action des sulfates de K, Al, Fe... et Ni, on a obtenu une suppression de la coloration chez le *Citromyces a.*

8. Tous les *Citromyces* étudiés ont la faculté potentielle de produire l'amidon, elle demande pour son fonctionnement des conditions qui diffèrent selon l'espèce.

9. L'absence presque totale de la réaction d'amidon avec J. a été constatée pour les sulfates de Na, Mg., Mn et Co.

10. La richesse des conidies chez un *Citromyces* peut marcher de pair avec l'abondance d'amidon.

Littérature.

1. Bainier et Sartory. Bull. Soc. Mycol. France. Vol. 29 (1913) p. 137.
2. Bernhauer, K. Biochem. Zeitschr. Vol. 153 (1924) p. 517.
3. Boas, Fr. Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Vol. 34 (1916) p. 786.
4. — Biochem. Zeitschr. Vol. 78 (1916) p. 308.
5. — Idem. Vol. 81 (1917) p. 80.
6. — Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Vol. 37 (1919) p. 50 et 57.
7. — Beihefte z. Bot. Centr. Vol. 36 (1919) p. 135.
8. Boas, Fr. et Leberle, H. Biochem. Zeitschr. Vol. 95 (1919) p. 170.
9. Boas, Fr., Langkammerer, H. et Leberle, H. Idem. Vol. 105 (1919) p. 199.
10. Boas, Fr. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Vol. 53 (1921) p. 364.
11. Buchner, E. et Wüstenfeld, H. Biochem. Zeitschr. Vol. 17 (1909) p. 395.
12. Butkewitsch, Wl. Idem. Vol. 129 (1922) p. 455 et 464.
13. — Idem. Vol. 131 (1922) p. 327.
14. — Idem. Vol. 136 (1923) p. 224.
15. Danilow, A. Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Vol. 43 (1923) p. 27.
16. Elias, H. et Weiss, St. Biochem. Zeitschr. Vol. 127 (1922) p. 1.
17. Gössl, J. Beihefte z. Bot. Centr. Vol. 18 (1905) p. 119.
18. Herzfeld, E. et Klinger, R. Biochem. Zeitschr. Vol. 107 (1920) p. 268.
19. Herzfeld, E. et Klinger, R. Idem. Vol. 112 (1920) p. 55.
20. Herzog, R. O. et Polotzky, A. Zeitschr. f. physiol. Chem. Vol. 59 (1909) p. 125.
21. Iljin, W. S. Biochem. Zeitschr. Vol. 132 (1923) p. 494.

22. Kossowicz, A. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. Vol. 3 (1913) p. 321.
 23. Kusnetzov, S. J. Biochem. Zeitschr. Vol. 158 (1925) p. 339.
 24. Lieske, R. Jahrb. f. wiss. Bot. Vol. 50 (1911) p. 328.
 25. Lipska, I. Acta Soc. Bot. Pol. Vol. 2. (1924). p. 161.
 26. Mayenburg, O. H. v. Jahrb. f. wiss. Bot. Vol. 36 (1901) p. 382.
 27. Mazé et Perrier. Ann. Inst. Pasteur. Vol. 18 (1904) p. 553.
 28. Milburn, Th. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Vol. 13 (1904) p. 129 et 256.
 29. Nikitinsky, J. Jahrb. f. wiss. Bot. Vol. 40 (1904) p. 1.
 30. Pantanelli, E. Idem. Vol. 40 (1904) p. 303.
 31. Papenhausen, H. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Vol. 12 (1904) p. 466.
 32. Plotho, O. v. Biochem. Zeitschr. Vol. 110 (1920) p. 33.
 33. Pringsheim, H. et Müller, K. Zeitschr. f. physiol. Chem. Vol. 118 (1922) p. 236.
 34. Raciborski, M. Bull. intern. de l'Acad. des Sciences de Cracovie (1905) p. 461 et 764.
 35. Ritter, G. E. Jahrb. f. wiss. Bot. Vol. 52 (1913) p. 351.
 36. Salkowsky, E. Zeitschr. f. physiol. Chem. Vol. 114 (1921) p. 31.
 37. Schiemann, E. Mycol. Centralbl. Vol. 2 (1913) p. 261.
 38. Schmidt, D. Biochem. Zeitschr. Vol. 158 (1925) p. 223.
 39. Schnücke, R. Idem. Vol. 153 (1924) p. 372.
 40. Teichmann, W. Zeitschr. f. techn. Biol. Vol. 9 (1921) p. 1.
 41. Vorbrodt, W. Bul. de l'Acad. des Sciences de Cracovie. Vol. 59 p. 223.
 42. Waterman, H. J. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. Vol. 3 (1913) p. 1.
 43. Wehmer, C. Bot. Zeitung. Vol. 49 (1891) p. 233.
 44. — Beiträge zur Kenntniss einheimischer Pilze. Vol. 1 (1893) Hannover.
 45. — Mycol. Centralbl. Vol. 2 (1913) p. 195.
 46. — Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Vol. 31 (1913) p. 210.
 47. Wöltje, W. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Vol. 48 (1918) p. 97.
-

Table I.

Noms de Citro- myces	A. Changements de la croûte				B. Changements du mycélium		
	Humidité	Superposition de couches	Plissement	Culs-de-sac	Floçons	Submersion	Colonies compactes
C. β.	Cd — Nr. 4 et 5 Fe... — Nr. 1	Fe... — Nr. 1	Na, Al — Nr. 1 Mn. — Nr. 1 et 2	—	Ni — Nr. 2	Cd — Nr. 3	Cu — Nr. 3 Zn — Nr. 1 et 2
C. Pfef.	Cu — Nr. 3	—	Mn — Nr. 1 à 6	Al — Nr. 6 Ni, Cu — Nr. 4 à 6 Zn — Nr. 1 à 6	—	Cd — Nr. 4	—
C. α.	NH ₄ , Na, Al Fe..., Fe..., Co, Ni	K, Mn Cu — Nr. 3 à 6	—	—	—	Fe... — Nr. 2 Cd — Nr. 1 et 2	Ni — Nr. 2 Cu — Nr. 3
C. glaber	Al — Nr. 2 Cd. — Nr. 5	—	Na — Nr. 1	K, Fe..., Ni — Nr. 4 à 6	—	Zn — Nr. 2	Ni — Nr. 3 Cu — Nr. 4
C. γ.	—	—	Na — Nr. 1	K — Nr. 4 à 6 Fe... — Nr. 3 à 6 Ni — Nr. 2 à 6	Zn — Nr. 1 et 2	Co — Nr. 2 Fe... — Nr. 2	Cu — Nr. 4 Cd — Nr. 4 et 5
C. glaber d'Amst.	NH ₄ , Na — Nr. 1 Fe... — Nr. 2 Ni — Nr. 3	Al — Nr. 2 et 3	—	Mn — Nr. 5 à 6 Fe..., Ni — Nr. 4 à 6 Co, Zn — Nr. 3 à 6	Al — Nr. 1 Cu — Nr. 3	Fe... — Nr. 3 Zn. — Nr. 2	Zn — Nr. 1

Table II.

C. β .	C. α .	C. gl.	C. γ .	C. gl. d'Amst.
Co, Ni — Nr. 2	Co, Ni—Nr. 2	Mn — Nr. 1	Fe ^{...} — Nr. 3	Na, K — Nr. 1
Cu — Nr. 3	Cu—Nr. 2-4	Fe ^{...} —Nr. 2-4	Cu — Nr. 4 et 5	Fe ^{...} , Cu—Nr. 3 et 4
Zn — Nr. 1	Cd—Nr. 1-4	Fe ^{...} —Nr. 3-6	Zn — Nr. 1-3	Fe ^{...} — Nr. 3-6
Cd — Nr. 3 et 4	—	Ni — Nr. 3 et 4	Cd — Nr. 4 et 5	Ni — Nr. 3
—	—	Cu — Nr. 4 et 5	—	Zu — Nr. 1-3
—	—	Zn — Nr. 2 et 3	—	Cd — Nr. 5
—	—	Cd — Nr. 5	—	—

Table III.

Sulfates de	C. β .	C. Pfef.	C. α .	C. glab.	C. γ .	C. gl. d'Amst.
NH ₄ .	4	4	2	3	3	2
Na.	4	2	1	3	3	2
Mg.	4	4	3	4	4	3
Al.	4	4	2	4	4	2
K.	4	2	1	3	3	2
Mn.	4	4	2	4	4	2
Fe ^{...}	3	3	2	4	4	3
Fe ^{...}	3	3	2	4	4	3
Co	4	4	2	4	3	2
Ni.	4	4	2	4	3	1
Cu.	3	3	2	4	2	1
Zn.	4	4	3	4	3	2
Cd.	4	4	3	2	2	3

Table IV.

C. α .	C. glaber	C. γ .	C. gl. d'Amst.	Sulfates de
Nr. 1 et 2	Nr. 1 à 6	Nr. 1 à 6	Nr. 1 à 6	NH ₄
Nr. 1 et 2	Nr. 1 à 6	Nr. 1 à 6	Nr. 2 à 6	Na
Nr. 1 à 6	Nr. 1 à 6	Nr. 1 à 6	Nr. 1 à 6	Mg.
—	Nr. 2 à 6	Nr. 2 à 6	Nr. 4 à 6	Al.
—	Nr. 1 à 6	Nr. 1 à 6	Nr. 1 à 6	K.
Nr. 1	Nr. 1 à 6	Nr. 1 à 6	Nr. 1 à 6	Mn.
Nr. 1 à 6	Nr. 2 à 6	Nr. 2 à 6	Nr. 3 à 6	Fe ^{...}
—	Nr. 3 à 6	Nr. 3 à 6	Nr. 4 à 6	Fe ^{...}
Nr. 2 à 6	Nr. 4 à 6	Nr. 2 à 6	Nr. 4 à 6	Co
—	Nr. 4 à 6	Nr. 2 à 6	Nr. 4 à 6	Ni
Nr. 3 à 6	Nr. 5 et 6	Nr. 4 à 6	Nr. 5 et 6	Cu
Nr. 1 à 6	Nr. 3 à 6	Nr. 3 à 6	Nr. 3 à 6	Zn.
Nr. 1 à 6	Nr. 5 et 6	Nr. 5 et 6	—	Cd.

Table V.

Noms de Citromyces	Série A.	Série B.	Série C.	Milieu simple	Milieu double
	15 j. — 4 sem. 6 s. — 8 sem.	15 j. — 4 sem. 6 s. — 8 sem.	15 j. — 4 sem. 6 s. — 8 sem.	5 j. — 10 jours 15 j. — 30 jours	5 j. — 10 jours 15 j. — 30 jours
C. β .	7-7-7-8	8-11-11-10	8-10-13-13	5-6-7-9	9-10-11-18
C. Pfef.	6-6-7-7	8-10-9-10	9-12-13-13	5-5-6-7	9-11-12-16
C. α .	6-7-7-8	7-8-10-11	6-9-11-12	5-5-6-7	7-9-10-16
C. glaber	6-7-7-8	7-9-9-9	9-10-11-12	5-6-6-7	8-11-12-17
C. γ .	5-6-7-8	7-7-8-9	8-9-10-12	5-6-7-8	8-10-11-16
C. gl. d'Amst.	5-6-7-7	6-8-11-10	7-9-12-11	5-5-6-8	9-12-13-15

Table VI.

Sulfates de	C. β .	C. Pfef.	C. α .	C. glaber	C. γ .	C. gl. d'Amst.
	Nr. 4-5-6	Nr. 4-5-6	Nr. 4-5-6	Nr. 4-5-6	Nr. 4-5-6	Nr. 4-5-6
NH ₄	6-7-8	7-6-8	6-5-7	7-8-7	7-6-6	6-7-7
Na.	6-8-7	7-7-6	7-6-7	6-7-7	6-6-6	6-7-6
Mg.	7-7-7	6-7-7	6-7-7	7-7-7	6-7-7	7-7-7
Al.	7-7-8	6-6-6	8-5-6	8-9-6	6-6-6	7-7-8
K.	7-6-7	6-6-7	6-6-7	7-7-7	6-6-5	7-7-7
Mn.	7-8-9	8-8-8	7-7-6	8-7-8	6-7-7	7-8-7
Fe ⁺	7-7-8	6-7-8	7-7-7	6-7-8	6-7-6	6-6-7
Fe ⁺⁺	6-7-7	8-7-6	5-7-7	7-6-8	6-6-6	5-6-7
Co.	9-8-8	8-8-8	8-8-8	9-7-8	7-7-6	7-8-8
Ni.	7-7-7	7-8-8	8-8-7	8-8-8	7-8-7	7-8-7
Cu.	5-6-7	5-6-6	6-7-5	5-6-5	6-6-6	-6-6
Zn.	7-7-7	7-7-6	7-6-7	7-7-8	6-7-6	7-6-7
Cd.	9-8-6	5-6-6	9-7-5	5-7-7	5-6-7	-8-8

Table VII.

Noms de Citromyces	Milieu simple				Milieu double			
	5 jours	10 j.	15 j.	35 j.	5 jours	10 j.	15 j.	35 j.
C. β .	48.2	72.2	72.7	17.3	124.7	135.5	151.2	46.7
C. Pfef.	83.2	89.5	89.0	25.2	141.6	141.2	128.4	43.1
C. α .	61.1	76.2	78.2	19.6	118.1	180.4	197.8	69.6
C. glaber	44.1	51.2	46.7	29.2	108.8	116.4	104.6	32.2
C. γ .	61.1	56.7	65.6	15.8	124.7	126.7	121.1	89.0
C. gl. d'Amst.	35.3	43.6	59.1	67.1	72.2	101.6	134.9	162.7

Table VIII.

Sulfates de	Citromyces β						C. Pfefferianus						Citromyces α					
	Nr. 1	2	3	4	5	6	Nr. 1	2	3	4	5	6	Nr. 1	2	3	4	5	6
Na. 4 sem.	2 sem.	50.3-67.2-61.8-48.0-52.1-61.8	67.7-60.3-65.2-72.1-68.2-74.0	69.1-60.6-53.3-60.8-51.8-59.8														
	4 sem.	14.4-35.8-27.6-23.6-24.8-14.4	20.1-17.6-21.6-22.6-35.6-38.1	14.4-34.8-25.6-26.6-33.8-31.0														
Al. 4 sem.	2 sem.	31.5-61.8-64.7-60.8-67.7-65.2	67.2-73.9-53.3-74.2-65.2-39.8	70.5-63.1-60.1-25.1-52.3-61.3														
	4 sem.	11.6-31.8-37.8-24.4-31.0-43.7	61.1-38.1-29.8-21.3-33.6-19.8	48.6-44.2-52.1-14.4-23.6-31.3														
K. 4 sem.	2 sem.	80.7-71.6-60.1-75.2-48.2-77.7	70.0-74.6-62.0-78.7-75.7-66.6	83.7-80.2-65.6-74.7-53.2-67.1														
	4 sem.	37.2-45.5-36.2-44.6-20.1-56.2	31.2-48.6-55.7-48.6-21.6-31.2	64.6-58.5-52.7-57.7-25.2-45.6														
Sulfates de	Citromyces glaber						Citromyces γ						C. glaber d'Amsterdam					
	Nr. 1	2	3	4	5	6	Nr. 1	2	3	4	5	6	Nr. 1	2	3	4	5	6
Na. 4 sem.	2 sem.	46.5-50.3-36.8-27.9-41.7-37.1	58.6-48.5-32.8-35.6-47.8-46.5	63.7-60.1-71.6-57.2-67.7														
	4 sem.	21.3-31.0-23.8-16.6-32.2-19.8	11.6-28.6-22.0-34.6-39.1-33.1	99.2-40.2-31.0-39.1-41.1														
Al. 4 sem.	2 sem.	57.0-45.7-39.6-29.5-32.5	41.8-36.6-32.0-30.3-31.3	69.6-46.6-55.4-54.4-46.6														
	4 sem.	Absence de développement 34.8-33.1-34.1-24.8-25.3	Absence de développement 30.0-28.8-21.3-22.8-22.1	65.0-26.4-30.0-48.0-61.1														
K. 4 sem.	2 sem.	57.2-44.6-50.7-43.1-39.1-51.7	70.1-53.2-47.1-48.1-52.2-51.7	70.5-65.6-57.2-55.2-31.6-60.5														
	4 sem.	33.2-32.2-31.7-41.7-19.6-32.2	11.6-32.7-25.6-36.2-36.7-45.5	35.7-43.1-34.2-45.1-11.0-39.1														

Table IX.

Noms de Citromyces	Série A.	Série B.	Série C.
	1 sem. 4-6-8	1 sem. 4-6-8	1 sem. 4-6-8
C. β.	— — — —	— 1 — —	2-2-3-3
C. Pfef.	— — — 1	— 4-3-3	4-4-3-3
C. α.	— — 2-2	— — — 2	— 2-2-3
C. glaber	2-2-2-2	2-3-3-3	4-4-4-4
C. γ.	— 2 — —	— 3-3-3	4-3-3-4
C. gl. d'Amst.	— — 3-3	— 2-3-3	— 2-4-4

Table X.

Sulfates de	C. Pfefferianus	C. α.	C. glaber	C. γ.	C. gl. d'Amst.
	Nr. 1-2-3-4-5-6	Nr. 1-2-3-4-5-6	Nr. 1-2-3-4-5-6	Nr. 1-2-3-4-5-6	Nr. 1-2-3-4-5-6
NH ₄	—	— 2-2-2	— 4-4-2-2-1	—	— 1-2-1
Na.	—	—	—	—	—
Mg.	—	—	—	—	— 1 — 1
Al.	—	—	0-2-2-3-3-3	0 — 2-2-2-2	0 — 1-1 —
K.	— 1-1-1	—	— 3-3-3-3-3	— 1	— 1-3-3-2-1
Mn.	—	—	1 — 1 — 2	1 — 1	— 1
Fe ⁺⁺	— 1 —	—	0-1-2-2-2-1	0-0 —	0-0-2 — 1 —
Fe ⁺⁺⁺	0-1-2-2 —	0 — 1-1-2-2	0-0-3-2-2-2	0-0-4 —	0-0 —
Co.	0-0 —	0 —	0-0 —	0 —	0-0-1 —
Ni.	0-0 —	0 — 1-1	0-0 — 1 —	0-2 —	0 0-2-2 —
Cu.	0-0-2-2 —	0-1-2-1-1-1	0-0 0-4-4-4	0-0-0-2 —	0-0-1-1-1-1
Zn.	1-1-1 —	—	0 — 4-4-1-1	—	— 1-2-2-2-2
Cd.	0-0-0 — 2 —	—	0-0 0-0 — 1	0 0-0 — 1 —	0-0-0-0-1-2

Bydgoszcz. Institut National Scientifique d'Agriculture.

(Wpłynęło do redakcji dnia 2 listopada 1925 r.).