

d'empêcher la coagulation de l'albumine par la chaleur, on peut stériliser directement à l'autoclave à 115° les solutions obtenues.

Les liquides ainsi préparés sont d'une limpidité parfaite, leur réaction est légèrement alcaline.

M. Marchal fait passer sous les yeux des membres des cultures très bien venues des espèces suivantes, obtenues dans une solution de blanc d'œuf à 10 p. 100 : bactériidie charbonneuse, vaccins charbonneux, charbon asporogène, bacille typhique, vibrion de Metschnikoff, *bacillus diphtheriae*, *coli communis*, *pyogenes albus*, *pyogenes aureus*, *pyocyaneus*, bacille de la tuberculose aviaire, du hog-choléra, etc.

Il est d'avis que cette *albumine incoagulable*, ainsi qu'on pourrait l'appeler, d'une préparation très simple, très rapide, peut, dans bien des cas, remplacer avantageusement les bouillons ordinairement en usage dans les laboratoires.

Ces solutions conviennent également très bien à la culture des moisissures; l'action de ces dernières sur le nouveau milieu fait l'objet de la note suivante.

De l'action des moisissures sur l'albumine,

par EMILE MARCHAL.

Les recherches de Nägeli (*) ont montré qu'un grand nombre de champignons sont capables d'enlever à la fois le carbone et l'azote dont ils ont besoin aux substances albuminoïdes.

(*) NÄGELI. *Untersuchungen über niedere Pilze.*

Mais elles n'ont pas indiqué, d'une façon précise, quelles sont les modifications que subit l'albumine sous l'action de ces microbes.

C'est pourquoi il m'a paru intéressant de rechercher si les champignons, les moisissures notamment, sont susceptibles d'oxyder les substances protéiques, de les transformer en composés minéraux simples : ammoniac ou acide nitrique.

Dans une première série d'expériences, j'ai fait usage de solutions à 10 p. 100 de blanc d'œuf, sans aucune addition de substances nutritives, et stérilisées par le procédé indiqué dans ce même bulletin.

Les liquides ainsi obtenus sont très légèrement alcalins ; le réactif de Nessler montre qu'ils ne renferment aucune trace d'ammoniac.

Un certain nombre de moisissures ont été ensemencées dans des ballons Pasteur renfermant 15 centimètres cubes de liquide albumineux.

Ce milieu étant très favorable au développement des bactéries, il était indispensable de partir d'une semence absolument pure. Dans ce but, bien que les cultures mères fussent déjà sans mélange, on fit des ensemencements sur plaques de gélatine nutritive (jus de pruneau + 10 p. 100 de gélatine).

Le semence fut de cette façon prise dans des colonies tout à fait pures.

C'est là un point capital qui a été trop souvent négligé dans les recherches sur la nutrition des champignons.

Les expériences de Nägeli elles-mêmes sont loin d'être, à cet égard, à l'abri de toute critique.

Les cultures ont été placées, pendant quinze jours, dans un thermostat, à la température de 20°.

Après ce temps, on a recherché, dans les liquides de culture, l'ammoniaque, par le réactif de Nessler; les nitrates, par la diphénylamine et l'acide sulfurique.

Le tableau suivant indique les résultats obtenus.

ESPÈCES	ÉTAT DE LA CULTURE	ESSAIS CHIMIQUES
<i>Acrostatagmus cinnabarinus</i>	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates
<i>Aspergillus flavescens.</i>	Id.	Id.
" <i>fumigatus.</i>	Id.	Id.
" <i>glaucus.</i>	Mycélium faible.	Pas d'ammoniaque.
" <i>terricola sp. nov.</i>	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates
<i>Botryotrichum pituliferum.</i>	Id.	Id.
<i>Botrytis cinerea.</i>	Id.	Id.
" <i>Bassiana.</i>	Id.	Id.
<i>Cephalothectum roseum.</i>	Id.	Id.
<i>Circinella umbellata.</i>	Formes-levures.	Id.
<i>Fusoma alba.</i>	Id.	Id.
<i>Fusarium rubrum.</i>	Mycélium abondant.	Id.
<i>Isaria farinosa.</i>	Développement normal.	Id.
<i>Mucor corymbifer.</i>	Id.	Id.
" <i>spinosus.</i>	Formes-levures.	Id.
" <i>plumbeus.</i>	Id.	Id.
" <i>racemosus.</i>	Id.	Id.
<i>Mycogone rosea.</i>	Développement normal.	Id.
<i>Oospora grandiuscula.</i>	Mycélium faible	Pas d'ammoniaque.
" <i>spec.</i>	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates
<i>Penicillium glaucum.</i>	Développement très faible	Pas d'ammoniaque.
" <i>cladosporioides.</i>	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates
" <i>spec. 1.</i>	Id.	Id.
" <i>spec. 2.</i>	Id.	Id.
<i>Sporotrichum globulifer.</i>	Id.	Id.
<i>Stachybotrys alternans.</i>	Id.	Id.
<i>Stemphylium spec.</i>	Id.	Id.
<i>Streptothrix Foersteri.</i>	Id.	Id.
<i>Syncephalastrum elegans.</i>	Mycélium faible.	Pas d'ammoniaque.
<i>Trichoderma viride.</i>	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates

Des ballons témoins, placés dans les mêmes conditions, n'ont présenté aucune trace d'ammoniaque ni de nitrates.

L'examen de ce tableau suggère les conclusions suivantes :

1° *La plupart des moisissures sont capables d'utiliser l'albumine et de lui emprunter à la fois le carbone et l'azote dont elles ont besoin.*

La plupart des espèces étudiées ont présenté, sur ce milieu albumineux, un développement très luxuriant; les espèces pathogènes (*Aspergillus flavescens*, *fumigatus*, *Mucor corymbifer*) s'y sont développées d'une façon très remarquable, bien que la température ne fût pas suffisamment élevée.

La légère alcalinité des solutions de blanc d'œuf ne semble nuire en aucune façon à la croissance des moisissures.

On peut d'ailleurs les neutraliser rigoureusement, en évitant toutefois la moindre acidité qui provoque immédiatement une précipitation d'albumine.

Chose étrange, le *Penicillium glaucum* n'a présenté, dans cette expérience, qu'un développement excessivement faible; ce champignon tirerait donc très peu profit de l'albumine et il est très probable que la croissance observée est due aux petites quantités de principes azotés non albuminoïdes et de glycose que renferme le blanc d'œuf.

Un autre fait intéressant est la production, dans ce milieu, de formes-levures, par quelques espèces; ce qui montre que la propriété que possèdent certains champignons de décomposer leur thalle en cellules bourgeonnantes est due essentiellement à la nature physique du milieu et non pas à la présence, dans celui-ci, de matières sucrées fermentescibles.

C'est ainsi que la plupart des Mucorinées ont présenté leurs articles arrondis caractéristiques; le *Fusoma* a reproduit les curieuses particularités signalées pour la première fois par Wasserzug (*).

(*) WASSERZUG. *Recherches morphologiques et physiologiques sur un hyphomycète*. Annales Institut Pasteur T. V., 1890.

2° Un grand nombre de moisissures jouissent de la propriété de transformer l'albumine en ammoniaque.

Cette propriété, dont l'importance est considérable au point de vue de la minéralisation des substances azotées, semble être, du reste, l'apanage d'un assez grand nombre de microbes.

Il y a quelques années déjà, M. Duclaux (*) a montré, en effet, que dans la maturation des fromages les substances albuminoïdes du lait sont transformées en composés ammoniacaux, sous l'influence de microbes particuliers ; plus récemment, M. Perdrix (**) a fait voir que le *Bacillus anthracis* produit de l'ammoniaque aux dépens des substances azotées du bouillon, du sérum sanguin et du lait.

Enfin il résulte de recherches dont je me propose de publier prochainement les résultats, que, dans la terre arable, la première phase de la nitrification — la transformation de l'azote organique en azote ammoniacal — se produit sous l'influence de moisissures et de bactéries.

Parmi les nombreuses espèces bactériennes que j'ai isolées du sol, il en est qui sont absolument incapables de produire de l'ammoniaque aux dépens des matières azotées, tandis qu'il en est d'autres qui jouissent, à un haut degré, de cette propriété.

Parmi ces dernières, une des plus énergiques est le *Bacillus mycoïdes* ou bacille de la terre (*Erde Bacillus* des auteurs allemands) ; essentiellement aérobie, il transforme rapidement, par voie d'oxydation, l'albumine en ammoniaque avec dégagement d'acide carbonique.

(*) DUCLAUX. *Le lait*, p. 213.

(**) PERDRIX. *Sur la transformation des matières azotées dans les cultures de bactériidie charbonneuse*. Annales de l'Institut Pasteur, 1888, p. 354.

J'ai constaté la présence de ce microbe à l'état normal dans la terre arable; je l'ai également isolé du fumier, du terreau, de composts et de l'humus des forêts.

Dans quelle mesure les moisissures transforment-elles l'albumine en ammoniacque?

Pour répondre à cette question, j'ai ensemencé dans des ballons renfermant 50 centimètres cubes de solution albumineuse les espèces suivantes : *Aspergillus terricola*, *Botryotrichum piluliferum*, *Cephalothecium roseum*, *Stemphylium spec.*, *Streptothrix Foersteri*.

Un dosage d'azote, effectué par le procédé Kjeldahl, a montré que la solution employée renfermait 1 gr. 365 d'azote albuminoïde par litre.

Après quinze jours de culture à 18°, les quantités d'ammoniacque produites ont été déterminées dans l'appareil de M. Schloesing.

Voici les résultats obtenus :

	Azote amm. dans 50 cm. cubes.	Az. amm. par lit.
<i>Aspergillus terricola</i>	21 milligr. 6	0 gr. 432
<i>Botryotrichum piluliferum</i>	16 milligr. 2	0 gr. 324
<i>Cephalothecium roseum</i>	25 milligr. 1	0 gr. 502
<i>Stemphylium spec.</i>	3 milligr. 6	0 gr. 072
<i>Streptothrix Foersteri</i>	14 milligr. 1	0 gr. 282

On voit donc que certaines espèces, notamment l'*Aspergillus* et le *Cephalothecium* ont converti en ammoniacque plus du tiers de l'azote organique mis à leur disposition.

J'ai recherché également si l'action des moisissures était identique sur les autres substances albuminoïdes : caséine du lait, sérine du sang.

Lait.

L'*Aspergillus terricola* et le *Botryotrichum piluliferum* ont été ensemencés dans 25 centimètres cubes de lait et placés à la température de 18°.

Durant les premiers jours, le développement est lent; après quatre jours, l'*Aspergillus* forme des gazonnements qui recouvrent bientôt toute la surface du liquide.

Après vingt jours, on a constaté les quantités suivantes d'ammoniaque : .

	Ammoniaque dans 25 cm. cubes.	Ammoniaque par litre.
<i>Aspergillus terricola</i>	32 milligr. 9	1 gr. 316
<i>Botryotrichum piluliferum</i>	14 milligr. 3	0 gr. 380

L'*Aspergillus* a donc transformé en ammoniaque près de 8 grammes par litre de caséine.

Sérum sanguin.

Les mêmes microbes ont été d'autre part cultivés dans du sérum sanguin, dilué au quart.

Après un séjour de quinze jours au thermostat à 18°, les quantités suivantes étaient observées :

<i>Aspergillus terricola</i> . . .	ammoniaque dans 25 cm. cubes :	20 milligr. 3
<i>Botryotrichum piluliferum</i>	— —	9 milligr. 6

Soit, par litre, respectivement 0 gr. 812 et 0 gr. 384 d'ammoniaque produite.

Bouillon peptonisé.

Les matières azotées du bouillon peptonisé sont également transformées en ammoniaque par la végétation

des moisissures. Des cultures des espèces précédentes, dans 25 cm. cubes de bouillon, ont présenté, après vingt jours, les quantités d'ammoniaque que voici :

<i>Aspergillus terricola</i>	35 milligr.	9 dans 25 cm. cubes.
<i>Botryotrichum piluliferum</i> . . .	4 milligr.	5 —

Ce qui représente, par litre : pour le premier, 1 gr. 356, pour le second, 0 gr. 180 d'ammoniaque produite.

On voit donc que, sous l'influence des moisissures, l'albumine, la sérine, la caséine aussi bien que les peptones, sont oxydées et que leur azote passe à l'état d'ammoniaque.

3° *Les moisissures sont incapables d'amener l'azote albuminoïde à l'état d'azote nitrique.*

Dans aucune des cultures, la diphénylamine n'a révélé la présence de nitrates; la réaction microchimique faite sur les filaments et les spores n'a également donné aucun résultat.

J'ai voulu m'assurer que, cultivées dans des solutions de sels ammoniacaux, ces moisissures ne donnent pas non plus lieu à production de nitrates.

Dans ce but, un certain nombre d'espèces ont été ensemencées dans des ballons Pasteur contenant le liquide nutritif suivant :

Eau	1000
Glycose	10
Sulfate d'ammoniaque . . .	1
Phosphate acide de potassium	1
Chlorure de potassium . . .	0.5
Sulfate de magnésium. . . .	0.5

Les espèces essayées : *Botryotrichum piluliferum*,

Aspergillus flavescens, *fumigatus*, *terricola*, *Cephalothecium roseum*, *Stemphylium spec.*, se sont développées, mais n'ont présenté de nitrates, ni dans les liquides de culture, ni dans leurs filaments ou leurs spores.

Les moisissures sont donc incapables de nitrifier l'ammoniaque.

D'après les recherches les plus récentes, cette propriété semble d'ailleurs être localisée chez un groupe très restreint de microbes. Toutes les bactéries, ferments ammoniacaux, que j'ai isolées du sol, sont dépourvues de propriété nitrifiante.

Si telle est l'action des moisissures, si ces organismes sont susceptibles de transformer en ammoniaque les substances azotées, étant donnée leur universelle diffusion dans la nature, ils doivent jouer un rôle important dans la minéralisation des substances organiques et notamment dans la transformation de l'azote organique en ammoniaque dans le sol.

La terre renferme de nombreuses moisissures ; Adamez (*) a indiqué ce fait il y a longtemps déjà, et si certains auteurs n'en ont, comme Fränkel (**), trouvé qu'en petite quantité, c'est qu'ils se sont servis pour isoler ces organismes de milieux alcalins, qui leur conviennent beaucoup moins que les milieux neutres ou acides. En me servant de ces derniers j'ai isolé de différentes terres notamment : *Penicillium glaucum*, *cladosporioïdes*, *Mucor racemosus*, *Mucedo*, *Botrytis cinerea*, divers

(*) ADAMEZ. *Untersuchungen über die niederen Pilze der Ackerkrume*. Leipzig, 1886.

(**) FRAENKEL. *Untersuchungen über das Vorkommen von Mikroorganismen in verschiedenen Bodenschichten (Zeitschr. f. Hygiene)*, 1887, p. 521.

Stemphylium, *Dematium*, des *Aspergillus*, notamment une espèce nouvelle très intéressante désignée plus haut sous le nom d'*Asp. terricola*, des *Oospora* et un certain nombre de levures et de formes bourgeonnantes, *Saccharomyces glutinis*, *Pasteurianus*, *Torula*, *Monilia*, etc. J'y ai rencontré également un *Streptothrix* que je rapporte à l'espèce étudiée par Gasperini (*), sous le nom de *Str. Foersteri*.

Dans la terre arable livrée à une culture intensive, grâce à l'absence de matière organique en grande quantité et à la réaction alcaline du milieu, le nombre des moisissures est relativement faible. Au contraire, dans les sols humeux, acides, dans certains terreaux, dans l'humus provenant de la décomposition de la litière des forêts, on rencontre des mycéliums nombreux de moisissures.

M. Höveler (**), attirait tout récemment l'attention sur la présence, dans les feuilles pourrissantes de l'humus des forêts, de filaments dématiés qu'il rapporte au *Dematium humifaciens* et auquel il attribue un rôle tout à fait prépondérant dans l'humification.

C'est là, mettre un peu trop dans l'ombre le rôle des bactéries qui existent, comme j'ai pu le constater, en grande quantité dans l'humus ; toutefois il est très probable que les moisissures interviennent efficacement dans ce phénomène.

Institut botanique de Bruxelles, janvier 1893.

(*) GASPERINI. *Recherches morphologiques et biologiques sur un micro-organisme de l'air (Annales de micrographie)*, t. II, p. 449.

(**) HOEVELER. *Ueber die Verwerthung des Humus bei der Ernährung chlorophyllführenden Pflanzen*, *Jahrb. f. wiss. Botanik*, Bd. 24, 1892.

Discussion :

Des observations sont présentées par M. Heger, portant :

1° Sur l'application qui pourrait être faite du procédé de M. Marchal, dans le but de rendre le sang incoagulable.

2° Sur l'application éventuelle du même procédé dans le but de conserver à l'albumine de l'œuf sa structure chimique, ceci en vue d'éviter les modifications qui se produisent très rapidement dans les solutions albumineuses quant à leurs réactions chimiques, et qui pourraient être dues à l'influence des ferments organisés.
