

Zeitschrift: Bulletin de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 40 (1948)

Artikel: Contribution à l'étude biologique de la thio-urée : effets antimélaniques
Autor: Fleury, Clément
Kapitel: Partie expérimentale
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099450>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 17.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE PREMIER¹

MÉLANOGÉNÈSE ENZYMATIQUE ET THIO-URÉE

Les oxydases sont très largement répandues dans le règne végétal où il est relativement aisé de les mettre en évidence. C'est ainsi que nous avons commencé notre étude par l'observation d'un végétal, noircissant facilement à l'air, chez lequel on a découvert un prochromogène phénolique: la DOPA (97). Il s'agit de la fève commune ou *Vicia faba*.

a) *Etude du jus de Vicia faba.*

Des graines de *Vicia faba*, soigneusement lavées à plusieurs reprises dans de l'eau distillée stérile, sont mises à germer sur sciure stérile.

Sitôt l'ouverture des cotylédons, les plantules sont transportées sur milieu synthétique de KNOP (préparé d'après 143). Quelque temps après, les jeunes plantes ont été prélevées à fin d'expérience.

¹ Nous avons groupé, dans une suite logique, les observations et expériences faites au laboratoire dont les moins importantes n'ont été que mentionnées. Chaque expérience est classée selon la méthode décimale qui permet de la retrouver au moyen d'une table, lorsqu'elle est citée dans le texte, entre parenthèses, comme un simple rappel bibliographique. Cette présentation offre de multiples avantages, entre autres:

1. alléger le texte de la partie théorique et la discussion;
2. nous permettre, dans la partie pratique, de donner de plus amples renseignements sur les conditions expérimentales.

• Enfin, chaque expérience comporte toujours quatre parties distinctes:

1. désignation et titre;
2. définition des conditions expérimentales;
3. résultats;
4. conclusions.

E.IIIa.3.1

Quels sont les ferments oxydants contenus dans Vicia faba ?

Jus obtenu par broyage au mortier de 5 gr environ de tiges effeuillées avec environ 50 cm³ d'eau distillée, filtrage sur papier. Utilisation immédiate du jus, dont on répartit 2 cm³ par tube.

Réactifs	Durée d'observation
paracrésol en solution aqueuse 0,4 %	1-2 jours
glycocolle » » 0,75 %	»
tyrosine » » saturée	»
hydroquinone » » »	»
α-naphtol » » 1,0 %	quelques secondes
p-phénylène-diamine » » 1,0 %	» »
gaïac » alcoolique 1,0 %	» »

Quantité de liquide: 5 cm³ par tube.

Réactifs:	Eau distillée	Paracrésol + glycocolle	Tyrosine	Hydroquinone	Résine de gaïac	α-naphtol + p-phénylènediamine
	3 cm ³	2 + 1 cm ³	2 cm ³	2 cm ³	2 cm ³	1,5 + 1,5
Jus bouilli	noir très faible	inchangé	inchangé	rosé	jaune	violet brun
Jus frais	noir faible	brun roux	noir faible	brun rouge	bleu puis gris sale	violet bleu

Conclusions:

1. Il y a de la tyrosinase, mais on n'observe pas la formation de crésol-azur.
2. Il existe également une peroxydase et peut-être une laccase.
3. Nous constatons une faible oxydation azymatique du chromogène (DOPA).

E.IIIa.3.2

Quelle est l'action de la TU sur les ferments de *Vicia faba* ?

Mêmes conditions expérimentales que dans l'expérience précédente.
Les tiges ont été broyées dans 50 cm³ environ de TU 1 ‰.

Réactifs:	Eau distillée 3 cm ³	Paracrésol+glycocolle 2+1 cm ³	Tyrosine 2 cm ³	Hydroquinone 2 cm ³	Résine de gaïac 2 cm ³	α -naphтол+p-phényl-ènediamine 1,5+1,5
Jus bouilli	rose à peine perceptible	inchangé	inchangé	rose pâle	jaune or	violet
Jus frais	inchangé	inchangé	inchangé	rose	bleu puis jaune	violet

Conclusions :

1. La réaction de la tyrosinase est annihilée par la TU dans les deux cas (paracrésol et tyrosine).
2. L'autoxydation de l'hydroquinone n'est pas suspendue par la TU, mais son oxydation enzymatique l'est quelque peu.
3. L'oxydation du chromogène naturel est inhibée par la TU.
4. La peroxydase voit ses réactions secondaires seules entravées.

Cette action antimélanique de la TU sur les tissus de *Vicia faba* est encore précisée par les expériences suivantes:

E.IIIa.3.1' et IIIa.3.2'

Action antimélanique de la TU sur le jus de *Vicia faba*.

Broyat de tiges de *Vicia faba* dans l'eau distillée 5 cm³
Addition subséquente de TU à 1 ‰ 5 cm³
Observations au bout de 3-4 jours.

Jus bouilli une minute + eau distillée	Jus frais + eau distillée	Jus frais + TU
Légèrement noir	noir	inchangé

Conclusions :

L'oxydation enzymatique du chromogène de *Vicia faba* est inhibée par la TU. (Il s'agit probablement de la DOPA.)

Ces premiers résultats positifs obtenus avec *Vicia faba*, nous avons jugé intéressant de contrôler à nouveau l'activité de la TU sur un autre végétal. A cet effet notre choix s'est porté sur le champignon de couche ou *Psalliota campestris*.

b) *Action de la TU sur le noircissement de Psalliota campestris.*

E.X.5.1

Protection par la TU, contre le brunissement de la chair des psalliotés.

Observations sur diverses races, en particulier Darlington à chair et peau blanches.

Après avoir sectionné en deux parties les champignons, nous les immergeons quelques minutes dans une solution de TU à 1 ‰. On n'observe en ce cas aucun brunissement de la chair de ces végétaux alors que les témoins non traités ont rapidement noirci.

Conclusion :

La mélanogénèse, causée par l'oxydation enzymatique du prochromogène fongique, est inhibée par la TU.

Nous estimons que la TU pourrait avoir une application pratique pour les champignonnistes.

Les champignons du type Darlington, par exemple, de couleur très blanche et de chair très sensible, sont rapidement tachés de brun au moindre contact lors de la cueillette; ceci à cause des microlésions formées libérant ainsi la tyrosinase et le prochromogène, avec formation consécutive d'une mélanine brune.

Ce préjudice porté à la belle présentation de la récolte pourrait être écarté en aspergeant les psalliotés, immédiatement après la cueillette, à l'aide d'une solution de TU apte à conserver aux tissus leur blancheur primitive. Un simple lavage suffit ensuite à éliminer la faible quantité de substance ainsi retenue sur chaque champignon.

Ces constatations nous ont incité ensuite à rechercher un milieu de conservation pour les champignons destinés aux collections de laboratoire. En effet, ceux-ci, habituellement immergés dans le formol, laissent lentement exsuder un pigment jaune brun ou jaune qui nuit à la bonne présentation de la pièce.

En ce qui nous concerne, le procédé de traitement ci-dessous a permis de conserver depuis bientôt deux ans, avec une réelle apparence de

fraîcheur, des échantillons de champignons atteints d'une maladie bactérienne rare. Voici le procédé de préparation:

E.X.5.2

Milieu conservateur, à base de TU, pour collections de psalliotes.

1. Couper en tranches fines le champignon, ou tout au moins le sectionner verticalement en deux parties.
2. Laisser les fragments dans une solution aqueuse saturée de TU, durant une nuit
3. Rincer ensuite plusieurs fois les morceaux dans une solution identique jusqu'à ce que le liquide reste clair.
4. Immerger jusqu'au lendemain dans une solution de formol du commerce saturée de TU.
5. Monter les pièces sur un support, après s'être assuré que le lavage dans une solution fraîche de formol saturée de TU laisse le liquide de lavage parfaitement incolore.
6. Introduire les pièces dans le milieu conservateur définitif suivant:

Formol du commerce saturé de TU	90 parties
Alcool 95°	9 parties
Acide acétique glacial	1 partie

Remarques. — Si les fragments de champignons sont trop mous, les traiter tout de suite dans le formol saturé, et répéter l'opération au moins deux fois.

Si les champignons sont entiers, recommencer les opérations autant de fois qu'il sera nécessaire pour obtenir un liquide incolore.

Il semble que ce procédé soit applicable à tous les champignons qui contiennent le système phénol-phénolase.

Conclusions:

La TU pénètre facilement dans les tissus de *Psalliota campestris* dont elle bloque la mélanogénèse. Nous proposons un traitement pour conserver, en collection, les champignons spécialement pourvus du système phénol-phénolase.

c) *Action de la TU sur la réaction de CHODAT.*

Continuant nos investigations sur l'action de la TU comme agent protecteur dans les réactions de mélanogénèse enzymatique, nous avons entrepris l'étude de la réaction, quasi synthétique, découverte par CHODAT. Représentative de ces processus, cette réaction permettra de parfaire nos connaissances sur le mode d'action de la TU considérée en tant qu'inhibiteur des oxydations.

E.VIII.7.2 (du 14.I.44)

Action de la TU sur la réaction de CHODAT.

Le réactif de CHODAT se compose:

de paracrésol à 0,4%: 2 cm³
 et de glycocolle à 1,0%: 1 cm³.

Ces substances sont dissoutes dans une solution tampon phosphate M/15 de pH 7.

La TU est en solution aqueuse à 0,562% soit $7,4 \cdot 10^{-2}$ moléculaire; c'est-à-dire que 1 cm³ de cette solution de TU correspond moléculairement à 2 cm³ de la solution de paracrésol.

Le ferment tyrosinase provient d'un jus de pomme de terre préparé par broyage au mortier de fines tranches du tubercule dans une solution tampon pH 7, puis filtrage de la pâte ainsi obtenue.

Volume final dans chaque tube: 6 cm³.

Addition à chacun d'entre eux d'I goutte de toluol comme antiseptique.

Réactifs			Observations après	
Jus de pomme de terre 2 cm ³	Réactif de CHODAT 3 cm ³	TU	¼ heure	24 heures
bouilli	+	—	inchangé	inchangé
frais	—	—	199 S. ¹	inchangé
frais	+	—	0121 K. et V. ²	rouge
frais	+	0,25 cm ³	rouge	rouge bleu
frais	+	0,50 cm ³	167 S.	dichroïque
frais	+	0,75 cm ³	76 K. et V.	(crésol-azur) ³
frais	+	1,0 cm ³	154 S.	CA.
			81 K. et S.	dichroïque
			169 S.	bleu vert
			86-91 K. et V.	
			199 S.	rose
			0121 K. et V.	inchangé

Conclusions:

La TU inhibe la réaction de CHODAT, et cela d'autant plus que la concentration de TU est plus élevée. C'est ainsi qu'avec des quantités équimoléculaires de TU et de paracrésol, non seulement la réaction est ralentie, mais encore il n'y a pas formation de crésol-azur après 24 heures.

¹ D'après le code des couleurs de SÉGUY (223).² D'après le code des couleurs de KLINCKSIECK et VALETTE (120).³ Désormais abrégé par CA.

E.X.1.7

Comportement du couple « paracrésol-TU », et recherche du point d'impact de la TU.

Conditions: comme précédemment.

La solution de paracrésol est à 0,4%, celle de TU à 0,281%, c'est-à-dire: équimoléculaire au paracrésol.

Deux tubes par série. Volume total dans chaque tube: 5 cm³.

Les désignations (a), (b) et (c) correspondent à l'ordre d'addition des produits, (a) et (b) ayant lieu à quelques secondes d'intervalle et (c) 10 minutes plus tard.

Les contrôles sont faits au bout de 4 heures. A ce moment les différences dues au retard de 10 minutes sont relativement inapparentes. Seules subsistent les actions plus profondes que nous voulons rechercher.

Série	Ferment 2 cm ³	Paracrésol 1 cm ³	TU 1 cm ³	Paracrésol + TU 2 cm ³	Observa- tions	Action
I	(a)	—	—	—	inchangé	0
II	(b)	(a)	—	—	rouge foncé	+++
III	(b)	—	—	(a)	rose	±
IV	(b)	—	(c)	(a)	inchangé	0
V	(b)	(a)	—	(c)	rouge	++
VI	(b)	(c)	—	(a)	rose	±
VII	(b) et (c)	—	—	(a)	rouge foncé	+

Conclusions :

La série III confirme l'action inhibitrice de la TU en quantité équimoléculaire au paracrésol.

La série IV confirme l'action d'une quantité de TU moléculairement supérieure à celle du paracrésol.

La série V laisse supposer que la TU couplée avec le paracrésol possède encore quelque activité inhibitrice.

La série VI montre que la TU agit en inhibant le ferment.

La série VII montre que la TU agit en bloquant le paracrésol ou mieux un de ses produits de réaction (quinone), puisque l'addition de ferment n'est pas capable de favoriser notablement la réaction.

Ces premiers résultats obtenus, relativement à l'effet inhibiteur de la TU sur certaines réactions enzymatiques, il nous a paru très important de chercher quel est le groupe vraiment actif de la TU avant d'entreprendre la suite de nos expérimentations sur les organes vivants. Pour atteindre ce but, nous avons procédé en éprouvant plusieurs corps voisins de celle-ci.

d) *Action des dérivés de la TU sur la réaction de CHODAT.*

E.VIII.7.6

Action comparée de la TU et de la S-méthylpseudothio-urée sur la réaction de CHODAT.

Paracrésol: solution aqueuse 0,4% ($=3,7 \cdot 10^{-2}$ moléculaire).

Thio-urée et S-méthylpseudothio-urée¹ en solution aqueuse ($7,4 \cdot 10^{-2}$ moléculaire).

Dans chaque tube nous avons mis: $\left\{ \begin{array}{l} 2 \text{ cm}^3 \text{ de jus de pomme de terre dans sol. tampon pH 7} \\ 2 \text{ cm}^3 \text{ de paracrésol 0,4\%} \\ 1 \text{ cm}^3 \text{ de glyocolle 1\%} \\ 2 \text{ cm}^3 \text{ de TU ou S-méthylpseudothio-urée} \end{array} \right\}$ Réactif de CHODAT

On désigne le ferment par F, le paracrésol par K, le glyocolle par G, et l'eau distillée par E.

Les autres conditions comme précédemment.

Résultats: cf. tableau page suivante.

Conclusions:

Confirmation de l'action inhibitrice de la TU sur la formation du érésol-azur, mais ne persistant pas au delà de 24 heures.

La S-méthylpseudothio-urée n'a aucune action empêchante aux concentrations étudiées.

¹ Gracieusement fournie par la Maison HOFFMANN-LA ROCHE à Bâle.

Substances				Observations après				
F	K	G	E	5 min.	15 min.	30 min.	24 heures	48 heures
+	—	—	+	inchangé	inchangé	inchangé	inchangé	inchangé
—	+	+	+	inchangé	inchangé	inchangé	inchangé	inchangé
+	+	+	+	rose	rouge	rouge	CA.	CA. dichroïque
+	—	+	+	inchangé	inchangé	inchangé	inchangé	inchangé
+	+	—	+	rose tr. pâle	rose	rouge	rouge cerise	rouge rubis
Quantité de S-méthyl- pseudoTU				S-méthylpseudothio-urée				
0,8 cm ³				rose	rouge	rouge	rouge brun CA.	CA. dichroïque
1,0 cm ³				rose	rouge	rouge	rouge brun CA.	CA. dichroïque
1,2 cm ³				rose	rouge	rouge	rouge brun CA.	CA. dichroïque
1,4 cm ³				rose	rouge	rouge	rouge brun CA.	CA. dichroïque
1,6 cm ³				rose	rouge	rouge	rouge brun CA.	CA. dichroïque
1,8 cm ³				rose	rouge	rouge	brun rouge foncé	CA. dichroïque
2,0 cm ³				rose	rouge	rouge	brun rouge CA. clair	CA. dichroïque
Quantité de TU				Thio-urée				
0,8 cm ³				rose très pâle	rose très pâle	rose pâle	rose	début de CA.
1,0 cm ³				rose très pâle	rose très pâle	rose très pâle	rose pâle	début de CA.
1,2 cm ³				inchangé	inchangé	inchangé	rose très pâle	dichroïsme faible
1,4 cm ³				inchangé	inchangé	inchangé	rose très pâle	dichroïsme très faible
1,6 cm ³				inchangé	inchangé	inchangé	rose très pâle	dichroïsme très faible
1,8 cm ³				inchangé	inchangé	inchangé	traces de rose	dichroïsme très faible
2,0 cm ³				inchangé	inchangé	inchangé	traces de rose	dichroïsme très faible

E.VIII.7.7

Action de diverses substances voisines de la TU sur la réaction de CHODAT.

Les produits utilisés sont des corps purs du commerce ou des substances fabriquées à l'École de Chimie de l'Université de Genève (laboratoire de chimie analytique).

Chaque solution contient une quantité de substance équimoléculaire à la TU dont la concentration est de 1^o/₁₀₀.

Les autres conditions d'expériences sont identiques à celles qui précèdent.

T = solution tampon phosphate pH 7.

Volume total: 6 cm³ par tube à essais, consistant en

- a) ferment 2 cm³;
- b) réactif de CHODAT 3 cm³;
- c) substance 1 cm³.

Résultats : cf. page suivante.

Conclusions :

La substitution de l'O au S fait disparaître l'activité inhibitrice, sauf un très faible reliquat chez phénylurée, uracile et phénylsemicarbazide.

La présence du groupe -N=N- dans les substituants de -NH₂ diminue le pouvoir d'inhibition, alors que le groupe allyle contenant une double liaison -CH=CH₂ renforce au contraire l'action.

La saturation des deux groupes -NH₂ par un pont du genre -CH=CH-COR (thio-uracile par ex.), renforce l'activité, empêchant principalement le cours de la première partie de la réaction.

Le diéthylthiocarbamate exerce enfin une inhibition totale et permanente du phénomène.

Substances	Observations après					Dissolution de la substance	Inhibition produite
	5 min.	15 min.	1 heure	5 heures	24 h.		
F — — T	inch.	inch.	inch.	inch.	inch.		
F — G T	inch.	inch.	inch.	inch.	inch.		
F K G T	rose	rouge	rouge	début CA.	CA.		
Thio-urée	inch.	rose pâle	rose pâle	rose pâle	début CA.	C ¹	+
S-méthylpseudoTU	rose	rouge	rouge	CA.	CA.	C	0
Allylthio-urée	inch.	rose tr. pâle	rose pâle	rose pâle	début CA.	C	++
Diphénylthiocarbazon	rose pâle	rose foncé	rouge clair	CA. faible	CA.	I ¹	±
Diphénylcarbazon	rose	rouge	rouge	CA.	CA.	I	0
Diphénylthiocarbazide	inch.	inch.	inch.	jaunâtre clair	jaune	I	+
Diphénylcarbazide	rose	rouge	rouge	CA.	CA.	I	0
« 133 WANDER » ²	inch.	inch.	rose tr. pâle	rouge, bleu clair	CA. foncé	I	+
Uracile	rose pâle	rouge	rouge	CA.	CA.	C	0
Phénylurée ³	rose pâle	rouge	rouge	CA.	CA.	C	0
Phénylsemicarbazide	rose pâle	rouge	rouge	CA.	C.A.	C	0
Semicarbazine HCl	jaunâtre	jaune	jaune	jaune et rose pâle	rouge rubis	C	?
Diéthylthiocarbamate de Na	inch.	inch.	inch.	inch.	inch.	C	++++

¹ C signifie dissolution complète; I signifie dissolution incomplète.

² Aimablement fourni par la Maison WANDER à Berne.

³ Préparée et recristallisée par la Maison HOFFMANN-LA ROCHE à Bâle.

E.VIII.7.8

Action de divers dérivés ou corps voisins de la TU sur la réaction de CHODAT.

Conditions semblables à celles de l'expérience précédente.

L'isothiocyanate d'allyle est ajouté sous forme de 1 cm³ d'une solution étherée.

Substances	Observations après					Dissolution de la substance	Inhibition produite
	quelques secondes	15 min.	1 heure	5 heures	24 h.		
F K — E	inch.	rose foncé	rouge clair	rouge	rouge foncé		
F K G E	inch.	rouge clair	rouge clair	rouge brun, CA. faible	CA.		
Thio-urée	inch.	rose très pâle	rose	rose foncé	CA., bleu pâle	C	+
Urée	inch.	rouge clair	rouge clair	rouge brun, CA. faible	CA.	C	0
TMTD	inch.	rouge clair	rouge clair	»	CA. faible	I	±
Thiocyanate d'ammonium	inch.	rouge clair	rouge clair	»	CA.	C	0
Carbonate de guanidine	inch.	rouge clair	rouge clair	rouge brun, CA.	CA.	C	0
Acide p-sulfanilique	rose	rouge bleu	rouge	rouge foncé	brun foncé	C	?
Isothiocyanate d'allyle	inch.	rose foncé	rose foncé	rouge clair	CA. faible, bleu clair	I	±
Guanine	inch.	rouge clair	rouge clair	rouge brun, CA.	CA.	I	0
Caféine	inch.	rouge clair	rouge	rouge brun, CA.	CA.	I	0

Conclusions :

L'acide p-sulfanilique accélère la réaction et donne lieu à la formation d'un pigment de couleur différente du crésol-azur.

L'isothiocyanate d'allyle inhibe légèrement la réaction.

Le TMTD a une action très faible sur le crésol-azur, peut-être à cause de sa faible solubilité.

La substitution de l'O au S (urée) abolit l'activité inhibitrice, de même que par =NH (guanidine).

E.VIII.7.9 et VIII.7.10

Action de divers produits sur la réaction de CHODAT.

Mêmes conditions que dans les expériences précédentes.

Dans la première expérience, la TU est à la concentration de $7,4 \cdot 10^{-2}$ moléculaire, tandis que dans la seconde elle est de $7,4 \cdot 10^{-3}$ moléculaire.

Substances	Observations après						Dissolution de la substance	Inhibition produite
	qq.sec.	5 min.	30 min.	1 heure	7 h.	22 h.		
F — — E F K G E	inch. inch.	inch. rose	inch. rouge	inch. rouge foncé	inch. CA. faible	inch. CA.		
Thio-urée	inch.	inch.	traces de rose	rose tr. pâle	rose pâle	rose	C	+
DiphénylTU sym.	inch.	rose pâle	rouge	rouge	CA. faible	CA.	I	0
PhénylTU	inch.	inch.	inch.	inch.	inch.	inch.	C	++
	5 min.	15 min.	30 min.	1 heure	2 h. ½	20 h.		
F K G E	rose	rose rose	rouge clair	rouge	rouge foncé	CA.		
Thio-urée	rose tr. pâle	rose pâle	rose pâle	rose	rouge clair	CA. faible	C	+
Thio-uracile	inch.	inch.	rose tr. pâle	rose foncé	rouge clair	CA. faible	I	+
Méthylthio-uracile	inch.	inch.	rose tr. pâle	rose foncé	rouge clair	CA.	I	+
« Thiomidil WANDER »	rose tr. pâle	rose	rose	rouge clair	rouge	CA.	I	+
8-oxyquinoléine	rose	rose	rose	rose	rose	CA. faible	I?	++

Conclusions :

La substitution par un seul groupe phényle renforce l'action, tandis que deux groupes symétriques semblent l'abolir.

Le thio-uracile, le méthylthio-uracile, et dans une certaine mesure le Thiomidil, inhibent la réaction spécialement dans ses premières phases, confirmant les observations de l'E.VIII.7.7 avec le « 133 WANDER ».

La 8-oxyquinoléine exerce, par contre, son effet inhibiteur surtout sur la seconde phase de la réaction ou formation de crésol-azur.

e) *Action sur diverses réactions phénol-phénolase.*

Nous vérifions ici l'effet inhibiteur sur diverses réactions homologues de la mélanogénèse.

E.X.1.9 et X.1.10

Action de la TU sur diverses réactions phénol-phénolase.

Le ferment est constitué par 2 cm³ d'un jus de pomme de terre en solution tampon pH 7.

Le phénol est représenté par 2 cm³ d'une des substances suivantes:

paracrésol	à 0,400%	en solution tampon		
catéchol	à 0,407%	»	»	»
coumarine	à 0,768%	»	»	» (peu sol.)
tyrosine	à 0,670%	»	»	»
adrénaline	à 0,964%	»	»	»

L'acide aminé consiste en 1 cm³ de glycolle 1% en solution tampon.

Volume total par tube à essais: 7,5 cm³; on complète éventuellement par la solution tampon phosphate pH 7.

Résultats: cf. les pages 85 et 86.

Conclusions:

La coumarine ne donne lieu à aucune réaction colorée en présence de TU et de tyrosinase.

La TU exerce sur le réactif de CHODAT une action inhibitrice dont l'effet croît avec sa concentration.

Elle entrave, parallèlement à la quantité ajoutée, l'oxydation du catéchol.

Sur la tyrosine, elle exerce une action inhibitrice qui apparemment n'augmente pas avec l'accroissement de la dose employée. L'effet inhibiteur est plus marqué sur les derniers stades de la réaction.

L'oxydation de l'adrénaline est entravée progressivement au début; les étapes ultérieures (formation d'adrénochrome) sont ralenties uniformément, sans égard à la quantité de TU introduite.

Enfin il semble y avoir compétition entre la TU et les acides aminés, pour les raisons suivantes:

- le glycolle protège partiellement le paracrésol et le catéchol contre l'inhibition due à la TU;
- les stades ultérieurs de l'oxydation de la tyrosine et de l'adrénaline (contenant des restes aminés dans leur molécule) ne paraissent pas influencés parallèlement à la concentration de TU ajoutée.

CHAPITRE SECOND

ASPERGILLUS NIGER et THIO-URÉE

A. Détermination des conditions matérielles d'expérience

Expérimentons maintenant la TU sur l'*A.n.* Nous ne reviendrons pas sur les raisons qui nous ont déterminé à choisir cette moisissure de préférence à tant d'autres végétaux, nous les avons exposées au début de notre travail.

Si, dans toute expérience, il est indispensable que certaines conditions matérielles essentielles soient réalisées, il s'avère que celles qui se rapportent aux moisissures exigent spécialement un supplément de précisions.

En effet, la plupart des moisissures sont extrêmement sensibles à de minimes variations expérimentales. C'est ainsi que RAULIN (207, 208) avait déjà constaté qu'il ne pouvait atteindre une erreur moyenne inférieure à $\pm 5\%$. LAPPALAINEN (132') en particulier nous confie que ses résultats étaient tellement inconstants qu'il lui a fallu abandonner le plan primitif de sa thèse: l'étude du métabolisme de l'*A.n.*, pour déterminer quelque peu les diverses causes de variations.

De ce qui précède, on doit logiquement inférer qu'il est absolument impossible d'avoir des résultats probants et sérieux si l'on n'établit pas des conditions expérimentales inéquivoques.

Avant donc d'entreprendre nos essais proprement dits, il était nécessaire d'effectuer des recherches préliminaires concernant les manipulations principales requises pour la culture de notre moisissure.

Nous avons dû établir et préciser personnellement certains détails techniques trop brièvement mentionnés ou omis par les auteurs qui ont abordé ce problème.

Notre attention s'est portée sur divers détails d'ordre pratique concernant nos expériences. Voici nos conclusions en cette matière:

a) *Choix du matériel.*

Ce choix est capital pour assurer la régularité des résultats.

α) *Flaconnage.*

A ce propos, nous avons contrôlé directement les points suivants:

1. Rôle de la qualité du verre (E.II.6.1 et 3.3').
2. Mode de lavage des flacons (E.II.12.1, 2 et 3).

Il en résulte qu'il ne faut utiliser le verre « Jena 20 », par exemple, qu'après nettoyage des flacons par immersion dans le mélange sulfo-chromique durant 3 jours environ.

β) *Etuve.*

Nous avons déterminé au préalable les isothermes (E.XVI.1.1) de l'étuve employée. Tous les flacons d'une même expérience sont placés en tenant compte de ces courbes. La température est maintenue à $34,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (écart maximum).

γ) *Constituants du milieu de culture.*

Nous avons choisi le milieu synthétique de RAULIN (d'après 132) légèrement modifié. Sa composition est la suivante:

Glucose	70,00 gr
Acide tartrique	4,00 »
Nitrate d'ammonium	4,00 »
Phosphate biammoniacal	0,60 »
Carbonate de potassium	0,60 »
» de magnésium	0,40 »
Sulfate d'ammonium	0,25 »
Sulfate de zinc	0,07 »
Sulfate ferrique ¹	0,07 »
Silicate de sodium PH V	I goutte ou
» de potassium	0,07 gr
Eau distillée (dans verre Jena 20) <i>ad</i>	1500 cm ³

Parmi les substances chimiques à contrôler, la TU occupe une place spéciale. Nous avons fait les vérifications suivantes quant à sa pureté relativement au thiocyanate:

¹ Les sels de Fe⁺² ou Fe⁺³ sont considérés comme d'activité égale (86).

E.II.2.15

Absence de thiocyanates dans les solutions aqueuses de TU.

Réaction selon (179), avec une solution aqueuse de TU.

L'addition de FeCl_3 à la solution de TU acidulée produit une coloration brun rouge fugace.

(L'essai d'extraction par l'éther puriss. du pigment obtenu reste infructueux, contrairement à ce qui se passerait s'il y avait des thiocyanatés.)

Conclusion :

Nous n'avons pu mettre des thiocyanates en évidence dans la TU utilisée pour nos expériences.

Nous devons en outre nous rendre compte si la TU ne provoquait pas un changement du pH de l'eau dans laquelle elle est mise en solution, et ensuite si l'addition d'une telle solution au milieu de RAULIN n'y provoquait point une variation de son acidité.

E.XVI.2.3

La TU provoque-t-elle un changement du pH du liquide dans lequel on la met en solution ?

Les mesures de pH sont faites au potentiomètre à électrode de verre, à 18°C.

Liquide examiné	pH
Eau distillée	5,66
Liquide de RAULIN stérile	3,47
Solution de 2,5% de TU dans l'eau distillée	5,68
Même solution de TU après stérilisation à l'autoclave.	5,50
Liquide de RAULIN brun, après développement de l'A.n. durant 7 jours	8,16
Même liquide de culture après addition de 2 cm ³ d'eau dist.	8,10
Autre portion du même liquide après addition de 2 cm ³ de la solution de TU à 2,5% (diluée 10 fois)	8,12
Autre portion du même liquide après addition de 2 cm ³ de la solution de TU 2,5%	8,07

Conclusions :

Les changements de pH dus à la TU sont insignifiants et sont de l'ordre des variations expérimentales.

La stérilisation d'une solution concentrée (2,5%) de TU n'a que peu d'influence sur son pH si l'on songe que les concentrations maxima de TU expérimentées sont beaucoup plus faibles.

L'eau utilisée jouera, dans le milieu de culture, un rôle prédominant en raison de sa masse et des difficultés pour obtenir un tel liquide parfaitement privé de tout élément actif. Nous avons distillé soit de l'eau ordinaire, soit de l'eau déjà distillée dans un appareil en métal. L'opération a été exécutée dans un récipient en verre Jena 20 et nous avons recueilli ensuite le liquide obtenu dans un flacon également en verre Jena 20 à fin de conservation.

Ces précautions sont indispensables si l'on veut avoir de l'eau dont la teneur en éléments oligodynamiques¹ reste du même ordre de grandeur, au cours des expériences successives.

Enfin il s'agit de déterminer à présent dans quelles conditions devront être effectuées les manipulations, pour limiter au minimum les erreurs expérimentales.

b) *Opérations expérimentales.*

α) Stérilisation des milieux.

Deux procédés sont également en faveur:

- la stérilisation à la chaleur (autoclave);
- la stérilisation à froid (filtration stérile).

Le premier consiste à porter à l'autoclave 20' à 115°C le milieu de culture à stériliser.

Le second à faire passer sur un filtre SEITZ muni d'un papier « Entkeimung-Schichten Seitz-E.K., Grösse 6 » le liquide que l'on veut rendre stérile.

Avant de préférer un procédé à l'autre, il est nécessaire de les expérimenter. Il se pourrait en effet que nous commettions une erreur systématique en négligeant un épiphénomène propre à l'une des méthodes employées. Aussi une étude du rôle de la stérilisation s'avère indispensable, en particulier pour la TU.

Action comparée des deux modes de stérilisation sur la TU.

Nous avons déjà vu que la TU est décomposée par la chaleur; il n'est donc pas exclu que la stérilisation en transforme une quantité plus ou moins importante en d'autres substances telles que le thiocyanate d'ammonium.

¹ Selon NÆGELI (174).

E.XVII.2.2'

Observation du dégagement de H_2S à partir de la TU au cours de sa stérilisation.

TU aux concentrations de 1/100 à 1/10 dans bouillon de viande.

Papier imprégné d'acétate de Pb (sol. à 2%) placé près de l'orifice du tube à l'intérieur.

Stérilisation: autoclave 20 minutes à 112°C.

Les papiers se trouvant dans les tubes contenant la TU ont noirci, d'autant plus intensément que la quantité de substance est plus élevée.

Conclusion:

La stérilisation à l'autoclave détruit une certaine quantité de TU avec formation de H_2S .

Nos expériences apportent la confirmation des remarques de POŁONOVSKI et LESPAGNOL (197) concernant la destruction de la TU avec dégagement de H_2S .

Nous savons qu'une très petite quantité seulement subit cette action destructrice, mais nous devons toutefois ne pas négliger l'importance de cette transformation, dans le cas particulier qui nous occupe.

En conséquence il s'agit surtout de savoir si nous devons préférer la stérilisation à froid à la stérilisation à l'autoclave.

Nous avons entrepris dans ce but les différents contrôles comparés suivants:

E.II.2.18 et II.2.19

Contrôle gravimétrique de la destruction de la TU au cours de sa stérilisation.

Solution de TU 2,5%.

Stérilisation à l'autoclave durant 20 minutes à 115°C par portions de 100 cm³ (ou au SEITZ par filtration).

Le liquide stérilisé est ensuite évaporé à 105°C dans des récipients de quartz.

Pesée du résidu au dixième de mgr.

Résidu sec pesé	Stérilisation			
	à l'autoclave		par filtration	
	E.II.2.18	E.II.2.19	E.II.2.18	E.II.2.19
	Poids de TU (mgr)			
avant stérilisation	—	247,4 (1)	250,3 (2) [±0,3]	247,4 (1)
après stérilisation	—	248,7 (3) [±1,3]	249,9 (2) [±0,1]	250,0 (2)
différence	—	+1,3	—0,4	+2,6
Total des erreurs moyennes	—	±1,3	±0,4	—

Conclusion :

Les différences de poids observées sont de l'ordre de grandeur des erreurs expérimentales.

E.II.2.18' et II.2.20

Contrôle titrimétrique de la disparition de la TU lors de sa stérilisation.

Solution de TU 2,5%.

Deux procédés de titration:

- a) iodométrie (E.II.2.18');
- b) oxydation en SO_4 (E.II.2.20) selon KITAMURA (119).

Dosage effectué	Stérilisation			
	à l'autoclave		par filtration	
	E.II.2.18'	E.II.2.20	E.II.2.18'	E.II.2.20
	Poids de TU (mgr)			
avant stérilisation . . .	—	23,9 (7) [±0,1]	25,0 (2) [±0,0]	23,9 (7) [±0,1]
après stérilisation . . .	—	23,9 (12) [±0,1]	25,5 (1) —	24,0 (9) [±0,1]
différence de poids . . .	—	0,0	+0,5	+0,1
Total des erreurs moyennes		±0,2	—	±0,2

Conclusion :

Les différences ne dépassent pas les erreurs expérimentales.

Ces expériences confirment en tous points celles de DUTOIT et GAGNAUX (72, 81) que nous citons à la page 32.

E.II.2.5, II.2.6 et II.2.17.

Contrôle biologique destiné à mettre en évidence une différence d'action de la TU stérilisée à l'autoclave et par filtration.

Solution de TU à 2,5% ajoutée à raison de 1 cm³ par flacon; l'addition a lieu, soit avant stérilisation, soit après.

Quantité totale de TU/flacon = 25 mgr.

Culture d'*A.n.* selon les conditions habituelles.

Expérience No	Mode de stérilisa- tion de la TU	TU ajoutée		Poids sec des mycélia (mgr) après		
		avant	après ¹	4 jours	8 jours	9 jours
II.2.5	autoclave	+	—	—	510 (2) [± 4]	—
6	»	+	—	581 (7) [± 20]	—	429 (7) [± 23]
5	»	—	+	—	478 (2) [± 3]	—
6	»	—	+	578 (7) [± 20]	—	431 (7) [± 15]
17	»	—	+	444 (7)	—	489 (7)
17	filtration	—	+	473 (7)	—	494 (7)
5	aucune addition de TU			—	552 (2) [± 5]	—
6	»	»	»	931 (4) [± 25]	—	555 (3) [± 50]
17	»	»	»	685 (4)	—	430 (4)

¹ Stérilisation.

Conclusions :

Il ne paraît pas y avoir de différence sensible résultant du fait que l'on stérilise la TU à l'autoclave avec le milieu ou séparément.

Il en est de même pour la différence de poids constatée en présence de TU stérilisée par filtration ou à l'autoclave.

Nous constatons, en consultant le tableau précédent, que l'*Aspergillus* ne fournit pas une réponse nette à la question, car aux phénomènes de croissance succèdent très rapidement ceux d'autolyse. Nous avons choisi en conséquence un autre microorganisme: l'*Escherichia coli*.

E.XVII.1.2

Action comparée de la TU stérilisée avec le milieu de culture ou séparément.

Escherichia coli souche N° 31 de l'Institut de Botanique Générale, Genève.

Inoculation: V gouttes d'une culture âgée de 18 heures.

T° de l'expérience 34,5°C ± 0,5°C.

Lectures de l'opacité du bouillon au photomètre de PULFRICH.

Valeurs néphélométriques = $\frac{10000}{x}$.

x = chiffre lu sur le tambour de l'appareil.

Valeurs reportées ici: valeur néphélométrique trouvée — valeur néphélométrique initiale = valeurs néphélométriques corrigées.

TU: solution à 2‰; 2 cm³ par tube = concentration finale 4‰.

Age des cultures (heures)	Addition de TU		
	stérilisée sans le bouillon	stérilisée avec le bouillon	aucune (2 cm ³ H ₂ O)
	Valeurs néphélométriques corrigées		
0	0	0	0
3	61 (3)	42 (3)	44 (3)
9	639 (3)	670 (3)	622 (3)
27½	2071 (3)	2258 (3)	2488 (3)
48½	2846 (3)	2998 (3)	3187 (3)

Conclusions:

La TU, à la concentration finale de 4‰, augmente légèrement la croissance de la bactérie.

La stérilisation de compagnie avec le bouillon diminue cette action stimulante.

En somme, il n'y a pas de différence sensible dans le développement des microorganismes étudiés, en utilisant l'une ou l'autre des méthodes envisagées. Il semble toutefois logique, par le fait de la production de H_2S , si minime soit-elle, de recourir le plus souvent possible au mode de stérilisation par filtration.

Puisque nous recommandons de stériliser de préférence par filtration, nous avons le choix entre l'emploi du filtre SEITZ et celui des bougies filtrantes. Nous n'avons pas utilisé ces dernières, car elles nécessitent une installation passablement compliquée, exigent l'emploi de quantités assez grandes de liquides et libèrent des substances activant le développement des bactéries (43).

Mais nous savons d'autre part que la filtration, sur papier au filtre SEITZ, peut alcaliniser le pH des solutions (250); de même il est possible de prévoir une action éventuelle du papier par libération soit des cations qu'il contient (250), soit d'un facteur de croissance (263). Il n'est en outre pas prouvé que le revêtement métallique du filtre ne libère pas des ions toxiques pour les microorganismes.

C'est pourquoi nous avons comparé l'action d'eau distillée stérilisée par filtration avec celle d'eau de même provenance mais stérilisée à l'autoclave (E.II.2.21) et nous avons observé que la filtration au SEITZ n'influe pas d'une façon apparente sur le développement de l'*A.n.*

En somme nous stérilisons de préférence par filtration, sachant toutefois que nous ne commettons aucune erreur apparente, si nous utilisons la chaleur pour rendre nos milieux stériles.

Lorsque nous aurons achevé cette opération, nous devons ensuite inoculer le milieu.

β) Inoculation.

Elle se fait par le moyen d'une suspension de conidies dans de l'eau distillée stérile.

Nous n'avons pu mettre en évidence (E.II.6.2) une variation de récolte ayant pour cause une différence d'origine des conidies, prélevées sur des mycéliums développés sur différents milieux.

Pour des raisons pratiques nous avons choisi la pomme de terre comme milieu fournisseur de conidies.

* Le rôle de la quantité de conidies contenues dans l'inoculat n'est pas à considérer comme négligeable, certes, et nous l'avons démontré pour l'*A.n.* (E.II.6.5). Il nous faut au moins $0,5 \text{ cm}^3$ d'une forte suspension pour réaliser nos conditions expérimentales.

Nous n'avons pas retenu l'utilisation de la saponine, préconisée par quelques-uns, car, contrairement à leur opinion, ce produit n'est pas sans effets sur l'*A.n.* (E.II.11.1 et 2) (78).

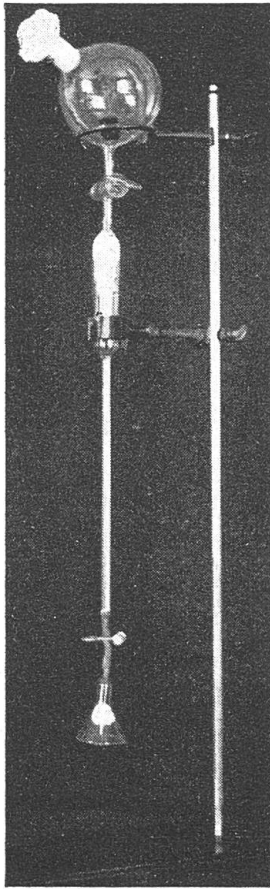


Fig. 7
Distributeur stérile
prêt à l'emploi

Afin d'obvier à tous ces inconvénients, nous avons mis au point un appareil d'inoculation (*distributeur stérile*) qui prélève les conidies au-dessous de la surface de la suspension. A condition que cette dernière soit suffisamment concentrée, la pellicule superficielle de conidies non immergées n'influera en aucune manière sur la régularité de l'opération. La description de cet appareil a été donnée par ailleurs (78) (fig. 7).

Ajoutons à ce sujet que la plupart des expériences en série ont pu être réalisées grâce à lui.

γ) Traitement du mycélium, préalablement à sa pesée.

A un moment déterminé du développement de la culture, nous prélevons le gâteau mycélien et le déposons sur un double papier filtre (compensé et taré) SCHLEICHER et SCHÜLL N° 589^a Ø 9 cm. Ces filtres s'étant raréfiés du fait des circonstances internationales, nous avons utilisé par la suite les papiers SCHLEIFFER de mêmes caractéristiques, mais fabriqués en Suisse.

Nous filtrons le liquide de culture et lavons 2 à 3 fois le mycélium à l'eau distillée.

Nous portons ensuite ce dernier au four à flamber pour sa dessiccation où il doit séjourner durant 6 heures à 100-105°C.

Cette opération achevée, on doit le porter rapidement à l'exsiccateur sur H₂SO₄ ou CaCl₂, où il séjournera une nuit,

Le mycélium est très hygroscopique et subit des variations de poids, de l'ordre du mgr, dans l'espace de quelques minutes. C'est ce que nous confirme notre expérience (E.II.8.1) d'où il résulte qu'il est préférable de choisir la rapidité de la manipulation à la précision de la pesée qui peut être faite au mgr.

δ) Interprétation et transcription des résultats.

Il arrive très souvent que les séries expérimentales soient irrégulières et nous venons de mentionner quelques-unes des précautions nécessaires pour obtenir des résultats homogènes.

Cependant, il subsistera toujours une variation plus ou moins importante selon les expériences, surtout dans nos premiers essais (faits en 1943).

Afin de faciliter l'estimation de l'ordre de grandeur de ces inégalités, nous reportons généralement au-dessous du chiffre de la valeur moyenne l'erreur moyenne entre crochets [].

On peut définir l'erreur moyenne comme la moyenne arithmétique de la somme des écarts de la moyenne, en valeur absolue. Ce que l'on peut représenter par la formule suivante:

$$\varepsilon = \frac{\sum |d|}{n}$$

où d représente la différence, en valeur absolue, de la valeur trouvée pour chaque mesure, à la valeur moyenne calculée; n étant le nombre d'individus ou de mesures, que nous exprimerons dans nos rapports expérimentaux par la valeur entre parenthèses ().

Par exemple:

Soit 500 mgr le poids sec moyen de 3 mycélia, et leurs poids respectifs: 650, 450 et 400 mgr.

$$\varepsilon = \frac{|150| + |50| + |100|}{3} = \frac{300}{3} = \pm 100$$

Nous exprimerons ces données par

$$\text{poids sec (mgr): } \begin{array}{l} 500 \text{ (3)} \\ [\pm 100] \end{array}$$

où chaque chiffre sera accompagné de ses deux caractéristiques.

c) *Conclusion: définition des « conditions habituelles d'expérience ».*

Il résulte de ce qui précède que nous opérerons désormais de la façon suivante, désignée sous le terme de *conditions habituelles*:

Milieu de culture: milieu liquide synthétique de RAULIN.

Quantité de liquide: 50 cm³.

Flacons: Erlenmeyers marque « Jena 20 », de capacité 100 cm³ (laissés 3 jours en contact avec le mélange sulfo-chromique).

Eau utilisée: redistillée en verre Jena 20 et conservée dans des flacons en verre de même qualité.

Stérilisation du milieu de RAULIN durant 20 minutes à 115°C (autoclave).

Les autres substances ajoutées sont généralement stérilisées par filtration au moyen du filtre SEITZ (papier N° 6).

L'inoculation se fait par une suspension de conidies dans de l'eau distillée ou redistillée, à raison de 0,5 cm³ par flacon. Notre *distributeur stérile* rend de précieux services pour l'inoculation d'un minimum de 10 flacons. (Les premières expériences que nous avons faites (marquées x)

ont été exécutées en inoculant, au moyen d'une pipette à boules, V gouttes de suspension par flacon).

Filtration, lavage du mycélium: 2 à 3 fois à l'eau distillée.

Dessiccation au four durant 6 h. à 100-105°C, séjour d'une nuit à l'exsiccateur et pesée rapide au mgr.

Résultats rapportés sous forme de la valeur moyenne accompagnée de deux caractéristiques: nombre de flacons et erreur moyenne.

B. Etude de quelques données biologiques, ayant trait plus particulièrement à l'A.n. et à sa pigmentation

a) *Pigments de l'A.n.*

α) *Conidies.*

Nous avons tout d'abord élucidé quelques points concernant la mise en évidence d'une monophénolase dans les conidies, et le liquide de culture.

Après quelques expériences préliminaires, destinées à établir les conditions expérimentales (E.VII.2.2, 2.3 et 4.2) nous devons conclure qu'il faut que les spores du témoin soient bouillies environ pendant 1 minute. Il est en outre nécessaire, pour la bonne marche de la réaction, que celle-ci ait lieu en milieu tamponné.

Tenant compte de ces observations, nous nous sommes posé ensuite la question de savoir quel est le pH optimum à la réaction et quel rôle peut jouer la nature du tampon employé.

E.VII.2.4 et VII.2.12

Rôle du pH et de la nature du tampon dans la réaction tyrosinase des conidies.

Conditions établies par les expériences préliminaires citées ci-dessus.

Forte suspension de conidies (1 cm³).

Solution tampon (2 cm³).

Réactif de CHODAT dans de l'eau distillée (3 cm³).

Nous avons utilisé un mélange M/15 de phosphates entre pH 5,3 et 8,0;

et une solution M/5 d'acide borique + NaOH entre pH 7,8 et 10,0.

II gouttes de toluol dans chaque tube comme antiseptique.

pH	5,3	5,9	6,5	7,1	7,7	8,0	7,8	8,0	8,4	9,0	9,6	10,0
Réaction après 2 jours	0	0	±	+	+++	+++	0	0	0	0	±	±

Conclusions:

Réaction optimum au pH 7,7 et nulle en dessous de 6,5 (confirmation des expériences VII.2.3 et VII.2.8).

Le tampon borate inhibe la réaction.

Ces résultats nous laissent à penser qu'il se trouve dans les conidies d'*A.n.* un ferment que nous croyons être très voisin de la tyrosinase, si ce n'est la tyrosinase elle-même, comme le prouvent les expériences suivantes :

E.II.4.1 et VII.2.1

Présence d'une oxydase dans les conidies d'A.n.

Conditions: comme précédemment.

Les résultats sont déjà apparents au 4^{me} jour, mais la mesure de la teinte n'a été faite qu'au 25^{me} jour.

Suspension de conidies	Addition	
	de réactif	d'eau distillée
fraîche	orangé 0121 K. et V. ¹ 199 S.	jaune brun clair
bouillie	jaune brun	—

Conclusion :

Nous constatons la présence d'un ferment du type de la tyrosinase, mais ne formant pas de crésol-azur (comme pour *Vicia faba*).

E.II.4.2

Présence d'une oxydase dans les conidies d'A.n.

Mêmes conditions expérimentales que précédemment.

Observations faites au 21^{me} jour.

Suspension de conidies	Addition	
	de réactif	d'eau distillée
fraîche	orangé 131 K. et V. ¹ 196 S.	jaune brun clair
bouillie	jaune brun	jaune brun

Conclusion :

Il existe, dans les conidies de l'*A.n.*, une monophénolase du type de la tyrosinase.

¹ Voir notes p. 76.

β) Liquide et mycélium.

Nous venons de prouver la présence d'une tyrosinase dans les conidies de l'*A.n.* En est-il de même dans le liquide et le mycélium de cette moisissure ?

E.II.4.1' et II.4.2'

Le mycélium d'A.n. produit-il de la tyrosinase ou toute autre phénolase ?

Culture d'*A.n.* sur KNOP mod: de l'E.II.1.1 (âge: 21 jours; $t^{\circ} = 25^{\circ} \text{C}$). On décapite le mycélium avec des ciseaux, et l'on prend environ 2 gr de la partie inférieure de celui-ci que l'on broie dans 15 cm³ d'eau distillée. Le jus est filtré puis examiné au 20^{me} jour.

Filtrat	Réactif	Eau distillée
frais	0	0
bouilli	0	—

Conclusion :

Aucun changement de teinte. Le milieu n'étant pas tamponné, nous ne pouvons encore affirmer l'absence d'oxydase.

E.II.4.8

Existe-t-il une tyrosinase dans le liquide de culture d'A.n. ?

Liquide de culture d'*A.n.* in RAULIN, pas encore brun.

Addition du réactif de CHODAT tamponné, ou addition de tampon phosphate pH 7.

Volume total 6 cm³.

	Avec réactif	Sans réactif
Observation du jus frais (au 30 ^{me} jour).	0	0

Conclusion :

Pas de monophénolase dans le liquide de RAULIN avant la phase d'autolyse.

E.II.4.8'

Existe-t-il une tyrosinase dans le liquide de culture d'A.n. ?

Liquide de culture brun d'*A.n.* cultivé sur milieu de RAULIN.

Mêmes conditions que dans l'E. précédente.

	Avec réactif	Sans réactif
Observation du jus frais (au 8 ^{me} jour).	+	0

Conclusion :

Il existe une monophénolase dans le liquide d'*A.n.* ayant subi l'autolyse neutre.

Afin de préciser la nature du pigment du liquide, nous avons fait l'expérience suivante:

E.XV.2.2a

Adsorption des pigments par l'« Eponit ».

On laisse quelques heures le liquide pigmenté d'A.n. en contact avec l'Eponit; on filtre ensuite.

Résultat: le liquide filtre incolore.

Conclusion:

Les pigments sont adsorbés par l'Eponit.

E.XV.2.1

Extraction, par divers solvants, du pigment brun contenu dans le liquide d'A.n.

Technique: le solvant choisi est agité dans un tube à essais avec une quantité équivalente de liquide brun.

On laisse reposer et on examine la teinte du liquide extracteur, ou celle du mélange.

Produits essayés	Constatations
eau froide	pas de changement
eau chaude	changement de teinte (plus foncé) sans précipité
alcool éthylique	opalescent, puis gris brun
» amylique	couche brune
chloroforme	incolore
sulfure de carbone	inchangé
benzène	»
sulfure de carbone + benzène	»
alcool éthylique + benzène	couche supérieure légèrement jaune
éther	couche jaune
acétone	pas de changement
pétrole	pas de changement

Conclusions:

L'alcool amylique est un solvant du pigment brun, tandis que l'éther et l'alcool-benzène extraient un pigment jaune.

E.XV.2.2b

Action de l'ultrafiltration sur les pigments du liquide de l'A.n. et mise en évidence d'une fraction oxydable à l'air (phénolique?).

Liquide brun d'A.n. cultivé sur milieu de RAULIN (E.XV.1.2).

Filtration du liquide au SEITZ muni du papier utilisé pour la stérilisation des liquides.

I. Le filtrat obtenu est un liquide clair qui *rosit* à l'air.

II. Traitement du filtrat par	Constatations
hyposulfite	pas de changement
H ₂ O ₂	jaune clair
H ₂ SO ₃	jaune
NaOH	brun grisâtre, puis rose orangé
HCl	jaune or

III. Le résidu resté sur le filtre est ensuite récupéré en faisant passer de l'eau sur le même filtre placé à l'envers. On obtient ainsi un liquide brun.

Traitement du résidu par	Constatations
hyposulfite	pas de changement
H ₂ O ₂	jaune clair
H ₂ SO ₃	jaune
NaOH	jaune
HCl	jaune or

Conclusions :

Il existe une fraction ultrafiltrable oxydable à l'air (prochromogène phénolique?) et brunissant par addition de NaOH.

Il existe une fraction non ultrafiltrable ne brunissant pas par addition de NaOH (mélanine?).

b) *Pigmentation.*

α) Rôle du rapport : surface aérée/volume du liquide.

RAULIN a montré que le développement de la moisissure est d'autant plus rapide que le liquide nutritif est moins profond et que le poids de la récolte varie légèrement en sens inverse de l'épaisseur du liquide sur lequel végète l'*Aspergillus*.

L'auteur précité s'exprime ainsi: « Le développement... est d'autant plus rapide..., que, à égalité de surface, le périmètre est plus grand. Mais l'influence du périmètre est incomparablement moindre que celle de la profondeur. Ces différents effets de la forme des vases sont tout simplement en relation directe avec l'intervention nécessaire de l'oxygène de l'air dans le développement des mucédinées ».

Nous avons tenu à nous assurer de la réalité du phénomène sur la souche qui fait l'objet de notre étude, portant plus particulièrement notre

attention sur la rapidité du noircissement du liquide en rapport avec la forme des flacons choisis.

Nous avons pu vérifier (E.II.6.6 et II.6.13) que les phénomènes de pigmentation du liquide sont favorisés par l'augmentation du rapport de la surface aérée avec le volume du liquide. Ceci est également valable pour le mycélium.

Il est en outre indéniable, en confirmation des observations de RAULIN, que ces phénomènes sont encore en rapport avec l'aérobiose, c'est-à-dire avec la respiration aérobie du champignon.

β) Rôle de l'âge de la culture.

E.II.1.9a

Poids sec des mycélia d'A.n. en fonction de l'âge des cultures.

Conditions habituelles.

Age des mycélia (jours)	Poids sec des mycélia (mgr)	Erreur moyenne %
20 (heures)	3,8 (2) [± 1,2]	31
2	91,8 (2) [± 53,8]	58
3	581 (4) [± 114]	19
4	811 (3) [± 162]	20
5	844 (3) [± 70]	8
6	767 (2) ¹ [± 12]	2
7	659 (3) [± 51]	7
14	417 (3) [± 16]	3
21	328 (3) [± 13]	3
27	288 (3) [± 11]	3

¹ Pigmentation du liquide et du mycélium

Conclusions :

Il y a deux phases dans le développement de l'A.n.

Ce sont:

- a) la phase de croissance;
- b) la phase d'autolyse.

Il résulte également qu'il est avantageux d'opérer les prélèvements des mycélia le 5^{me} jour pendant lequel les échantillons sont plus homogènes et le poids maximum.

La pigmentation débute entre le 5 et le 6^{me} jour.

Le graphique de la figure 8, résumant l'expérience ci-dessus, confirme en tous points les données de STEFANOWSKA (228) sur le *P. glaucum*.

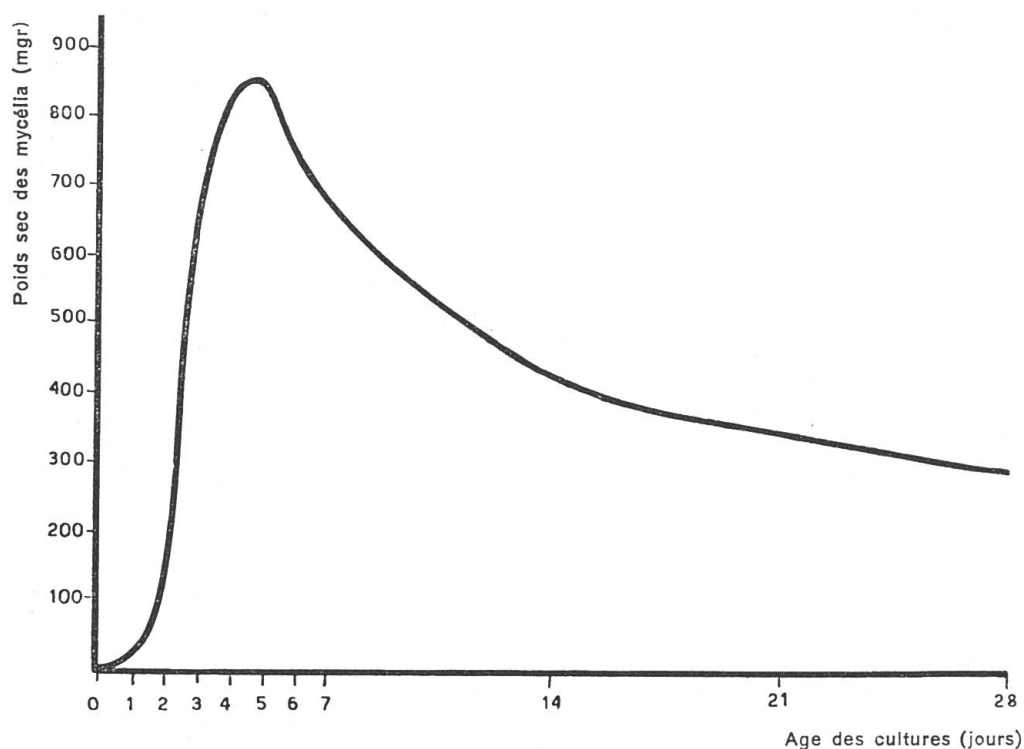


Fig. 8.

Courbe de poids d'*Aspergillus niger*.

Après une phase d'ascension rapide, le poids diminue dès le 5^{me} jour: c'est l'autolyse.

γ) Corrélations autolyse—pigmentation.

Au cours de l'expérience précédente, nous avons constaté que l'autolyse et la pigmentation semblent débiter simultanément. Il nous faut dorénavant observer les cultures en vue de préciser cette manifestation.

E.II.1.9', II.6.8 et II.6.10

*Observations montrant la corrélation existant entre l'autolyse
et la pigmentation.*

E.II.1.9' Conditions habituelles x.

E.II.6.8 Conditions habituelles x, $t^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$, flacons cylindriques Jena 20.E.II.6.10 Conditions analogues à celles de l'E.II.6.8, mais addition, en vue d'une autre expérience, de 1 mgr de MnCl_2 par flacon.

Concerne 2 flacons par expérience; nous en avons choisi un (N^o 1) dont le liquide est faiblement ou peu pigmenté et un second (N^o 2) fortement coloré.

	E.II.1.9'		E.II.6.8		E.II.6.10	
	N ^o 1	N ^o 2	N ^o 1	N ^o 2	N ^o 1	N ^o 2
Mycélie: poids sec (mgr)	736 (1) —	595 (1) —	808,5 (1) —	702 (1) —	667 (1) —	387 (1) —
Teinte du liquide	orangé 111 K. et V. orangé 198-203 S.	rouge orangé 82 K. et V. orangé 172 S.	urine clair	brun foncé	jaunâtre	brun foncé

Conclusion :

L'augmentation de l'intensité de pigmentation du liquide est en rapport direct avec l'intensité de l'autolyse.

Nous avons complété ces constatations par l'observation dirigée suivante:

E.II.1.12'

Expérience prouvant la corrélation existant entre l'autolyse et la pigmentation.

Conditions de l'E.II.1.12.

Au 7^{me} jour, les flacons sont inégalement colorés. On en fait 3 lots.

Lot	Couleur du		Conidies	Poids sec au 8 ^{me} jour (mgr)
	mycélium	liquide		
A	blanc	jaune clair	±	609,1 (4) [±4,0]
AB	marron clair	orangé très clair	+	475,4 (13) [±2,9]
B	brun	orange foncé ou brun	+++	444,3 (11) [±4,2]

Conclusion :

Nous pouvons affirmer que le brunissement du liquide va de pair avec l'autolyse.

Nous constatons donc l'autolyse chaque fois qu'il y a pigmentation. La réciproque toutefois n'est pas strictement vérifiée. Qu'arrive-t-il quand il n'y a pas de pigmentation? En fait, on peut constater que l'autolyse est soit également absente, soit très restreinte.

Comment avons-nous observé ces faits?

E.II.1.1' et II.1.2

Absence de pigmentation sur milieu de KNOP sucré.

Milieu de KNOP + saccharose 2%.

Flacons de KARLSBERG contenant 25 cm³; t^o = 22°C.

E.II.1.2	E.II.1.1 et II.1.2
Poids sec au 20 ^{me} jour (mgr)	Aspect du liquide
180 (4) [±30]	Liquide clair, jaunâtre Pas d'autolyse apparente

Conclusion :

Il n'y a pas de pigmentation du liquide sur le milieu de KNOP.

E.II.8.2

Mise en évidence, sur milieu de CZAPECK, d'une autolyse (autolyse acide) sans pigmentation brune (cf. p. 110).

E.II.6.9

Comparaison entre le milieu de KNOP et celui de RAULIN quant à l'apparition du pigment brun et de l'autolyse.

Conditions habituelles^x, flacons cylindriques Jena 20 de 100 cm³, t° = 37°C.

Source de carbone pour les deux milieux: saccharose 6%.

Milieu	Poids sec au 17 ^{me} jour (mgr)	Aspects du liquide et du mycélium
KNOP	768 (2) [±34]	liquide clair, pas d'autolyse visible
RAULIN	642 (2) [±21]	liquide brun roux, autolyse apparente

Conclusion :

Il y a pigmentation et autolyse sur milieu de RAULIN, alors que l'on ne peut constater aucune formation de pigment brun ou roux par l'A.n. sur milieu de KNOP.

E.II.6.16

Comparaison entre le milieu de CZAPECK tamponné et celui de RAULIN, quant à l'apparition du pigment brun et de l'autolyse.

Conditions habituelles^x.

Composition du milieu de CZAPECK tamponné d'après (108).

Milieu	Poids sec au 10 ^{me} jour (mgr)	Aspect	
		du liquide	du mycélium
CZAPECK tamp.	794 (2) [±40]	pas de pigment brun	ferme et élastique (aut.=0)
RAULIN	347 (2) [± 6]	brun noir	très mou, friable (autol.+)

Conclusion :

Aucun pigment brun n'apparaît dans le milieu de CZAPECK tamponné, contrairement au RAULIN.

c) *Développement et nutrition.*

Où réside la cause de cette différence ?

Si l'on compare la composition des milieux où le brunissement n'a pas lieu, on constate l'absence d'ammonium comme source d'azote.

Afin de prouver cette proposition, nous avons fait les expériences suivantes:

E.II.6.18 et II.6.19

Action du remplacement de l'ammonium par du sodium dans le milieu de RAULIN.

Conditions habituelles.

Quantités équivalentes d'azote. Sels de Na remplaçant l'ammonium dans le RAULIN modifié.

Age des cultures (jours)	RAULIN normal		RAULIN modifié	
	E.II.6.18	E.II.6.19	E.II.6.18	E.II.6.19
Poids sec des mycélia (mgr)				
6	—	662 (2)	—	521 (2)
9	493 (2)	457 (2)	630 (2)	504 (2)
14	393 (2)	—	641 (2)	—

Conclusions :

L'autolyse est retardée par la substitution.

La pigmentation brune est soit absente (E.II.6.18), soit tardive (E.II.6.19).

Ces deux phénomènes, sans paraître dissociés par la substitution, sont pourtant tous deux retardés.

Pour établir d'une façon plus certaine l'importance de l'ammonium sur la pigmentation du liquide, il nous faut au moins la preuve inverse suivante:

E.II.8.2

Action du remplacement du sodium par l'ammonium dans le milieu de CZAPECK-DOX mod.

Conditions habituelles.

Milieu CZAPECK-DOX mod. (d'après 108).

Quantité d'azote fourni: 0,492 gr/l sous forme de:

a) $\text{NaNO}_3 = 3,0 \text{ gr/l}$ b) $\text{NH}_4\text{NO}_3 = 1,4 \text{ »}$ Acidité totale des liquides réunis, mesurée au moyen de NaOH avec la phénolphtaléine comme indicateur (exprimée en cm^3 de NaOH N/10 par flacon).

Age des cultures (jours)	Milieux			
	a	b	a	b
	Poids sec des mycélia (mgr)		Acidité totale des liquides de culture (cm^3)	
3	17 (4)	35 (4)	5,6 (4)	6,6 (4)
8	110 (3)	163 (3)	13,1 (3)	9,9 (3)
12	236 (3)	352 (3)	22,0 (3)	14,3 (3)
17	382 (3)	475 (3)	34,5 (3)	15,5 (3)
21	426 (3)	427 (3)	26,8 (3)	5,6 (3)
24	383 (2)	387 (2)	14,4 (2)	5,0 (2)
28	350 (2)	289 (2)	9,6 (2)	2,9 (2)
	liquide jaunâtre	liquide orangé clair typique		

Conclusions :

L'ammonium plus facilement assimilable que le NO_3 favorise plus ou moins directement l'autolyse et semble conditionner la pigmentation.

Nous mettons encore en évidence la relation unilatérale autolyse-noircissement, ainsi qu'une nouvelle relation entre l'autolyse et la diminution d'acidité totale ou l'augmentation du pH.

Nous croyons également que la source de carbone est importante pour ces phénomènes ; il convient de nous demander : Quelle relation existe-t-il entre ces processus et le sucre introduit ?

E.II.2.10'

Expérience montrant le rapport existant entre la pigmentation, l'autolyse et la consommation du glucose chez l'A.n.

Conditions habituelles^x.

Dosage du glucose par la méthode de KOLTHOFF (124).

Consommation du glucose exprimée en % de la valeur initiale.

Age des cultures (jours)	Poids sec des mycélia (mgr)	Glucose consommé (%)	Pigmentation du liquide
44 (heures)	104 (3) [±29]	12,2	aucune
4	729 (3) [±48]	84,1	aucune
6	674 (3) [±14]	98,8	orangé rouge dans 1 flacon
8	510 (3) [±34]	99,8	orangé rouge dans tous les flacons

Conclusions :

Le glucose est consommé en presque totalité au moment où débutent l'autolyse et le brunissement qui sont ici liés.

C. Etude de deux substances présentant des groupes chimiques analogues à ceux de la TU

α) Cystéine et cystine.

E.II.10.3

Actions de la cystéine HCl d.l. sur la croissance de l'A.n.

Conditions habituelles.

Stérilisation de la cystéine à l'autoclave avec le liquide de RAULIN.

Séries { a) pas de cystéine
b) 10,3 mgr cystéine/flacon
c) 51,8 mgr cystéine/flacon

Age des cultures (jours)	Séries		
	a	b	c
Poids sec des mycélia (mgr)			
3	707 (1)	408 (1)	123 (1)
5	775 (3)	770 (3)	802 (3)
6	652 (2)	710 (2)	704 (2)
7	602 (2)	658 (2)	646 (2)
10	457 (2)	464 (2)	473 (2)
Autolyse au 10 ^{me} jour (en % du maximum du poids atteint au 5 ^{me} jour).	41 %	40 %	41 %

Conclusions :

Inhibition de la croissance, au début de la culture, puis augmentation de poids au 5^{me} jour.

Pas d'action décelable sur l'autolyse.

E.II.10.4

Action de la cystéine HCl d.l. sur la croissance et l'autolyse de l'A.n.

Mêmes conditions que dans l'expérience précédente.

Cystéine stérilisée par filtration.

Pour désigner le degré d'intensité de la pigmentation brune du liquide, nous faisons la notation suivante:

L¹ Cette lettre suivie du 0 (zéro) signifie qu'elle n'est pas apparente: (L0).
Le signe ± après L indique une très faible intensité (L±) et (L+++)
représentent une forte pigmentation brune.

Age des cultures (jours)	Séries		
	a	b	c
	Poids sec des mycélia (mgr)		
4	678 (3)	540 (3)	455 (3)
5	728 (3)	732 (3)	710 (3)
7	751 (3) L0	769 (3) L0	794 (3) L0
8	599 (2) L+++	649 (2) L++	707 (2) L±
Autolyse au 8 ^{me} jour (en % du maximum de poids atteint au 7 ^{me} jour).	20%	16%	11%

Conclusions:

Ici encore, la cystéine retarde la croissance surtout au début du développement, puis il y a égalisation et même augmentation du poids maximum, comme précédemment.

L'action sur l'autolyse est devenue apparente. En fait, il y a diminution de l'autolyse en même temps que de la pigmentation du mycélium et du liquide.

Remarquons le caractère temporaire du retard de croissance; celui-ci est en effet rapidement suivi d'un accroissement de poids. Les récoltes obtenues à ce moment (6-7^{me} jour) sont supérieures au témoin.

¹ La lettre C (cf. p. 115 et suiv.) prendra la même signification pour la pigmentation des conidies.

L'explication la plus facile est que la cystéine, fongistatique, subisse une destruction par le jeu normal du métabolisme de la moisissure.

C'est ce que nous avons tenté de vérifier par les expériences suivantes :

E.II.10.4'

La cystéine est-elle consommée au 4^{me} jour ?

Comme matériel, nous utilisons les cultures de l'E.II.10.4.

Mise en évidence de la cystéine par le nitroprussiate de Na en solution alcaline [cf. ROSENTHALER (219)].

Recherche de la cystéine	Séries	
	b	c
Au début de la culture	+	+++
Au 4 ^{me} jour	0	0

Remarque: Le papier à l'acétate de Pb ne noircit pas dans les liquides les séries a, b et c, ni au début, ni au 4^{me} jour.

Conclusions :

La cystéine n'est plus décelable au 4^{me} jour de culture.

Sa disparition résulte d'un processus autre que la réduction puisqu'il n'y a pas formation de H₂S.

Il est donc naturel d'admettre l'oxydation en SO₄¹ de la cystéine, comme GARREAU en a d'ailleurs montré la possibilité (82).

Dans ce cas le premier stade de la transformation serait la cystine.

Quelle est l'action de ce dernier produit sur le métabolisme du champignon ?

¹ Le S élémentaire est transformé en SO₄ par l'A.n. (99).

E.II.10.1

Action de la cystine sur l'A.n.

Conditions habituelles.

Séries	a)	0	mgr	de cystine
	b)	8	mgr	/flacon
	c)	39,2	»	»
	d)	80	»	»

Stérilisation à l'autoclave (en milieu de RAULIN).

Après stérilisation, il reste un dépôt de cystine insoluble dans les séries c et d.

Age des cultures (jours)	Séries			
	a	b	c	d
	Poids sec des mycélia (mgr)			
5	901 (3) C++	892 (3) C+±	895 (3) C+	893 (3) C+
9	630 (3) C+++ — L+++	625 (3) C+++ — L+++	581 (3) C+++ — L++	604 (3) C+++ — L++
autolyse au 9 ^{me} jour (en % du maximum au 5 ^{me} jour)	30%	29%	35%	32%

Conclusion :

L'autolyse n'est pas perturbée par la cystine, contrairement à la formation des conidies et la pigmentation du liquide qui sont quelque peu retardées.

E.II.10.2

Action de la cystine sur l'A.n.

Conditions semblables à celles de l'expérience précédente.

Deux séries seulement: flacons à 0 et à 25 mgr cystine (à cette concentration toute la cystine est soluble).

Age des cultures (jours)	Séries	
	sans	avec
	Poids sec des mycélia (mgr)	
2	113 (1)	40 (1)
5	722 (3)	523 (3)
9	504 (3) C+++ — L+++	419 (3) C0 — L0
12	389 (3) C+++ — L+++	284 (3) C± — L±
Autolyse du 5 ^{me} au 9 ^{me} jour	30%	20%

Conclusions :

La cystine exerce aussi une action fongistatique.

L'autolyse n'est pas influencée d'une façon notable, mais la formation des conidies et la pigmentation du liquide sont nettement entravées.

β) Urée.

E.II.13.1

Comparaison entre l'action de la TU et celle de l'urée sur l'A.n.

Conditions habituelles.

On ajoute 2 cm³, l'appoint étant fait avec de l'eau distillée stérilisée par filtration.

Thio-urée et urée, stérilisées par filtration.

Quantités équimoléculaires à TU = 3,0 mgr/flacon

Age des cultures (jours)	Addition de			
	0	TU	U	TU + U
5	Poids sec des mycélia (mgr)			
	796,4 (10) [± 13,8]	663,9 (10) [± 10,1]	780,8 (10) [± 15,7]	664,1 (9) [± 12,3]
	Différence en % du poids du témoin			
	—	Δ TU — 16,6%	Δ U — 1,9%	Δ (U+TU) — 16,6%

Conclusions :

Le calcul de la somme algébrique des différences constatées séparément avec l'U et la TU donne un résultat très voisin (—18,5) de celui trouvé avec les deux substances présentes dans le même milieu de culture (—16,6).

On ne peut donc pas affirmer que l'urée agit comme antimétabolite de la TU puisqu'elle est incapable de diminuer notablement l'effet de cette dernière.

Une expérience semblable effectuée avec 50 mgr de TU et 39,5 mgr d'urée (E.II.13.2)¹, aboutit à des résultats analogues.

¹ Publiée dans un autre travail (78').

D. Actions de la TU et dérivés sur l'A.n.

Nous avons groupé ici les expériences portant sur l'A.n. considéré spécialement quant à son comportement vis-à-vis de la TU.

a) *Expériences préliminaires.*

Divers milieux de culture ont été essayés. En particulier celui de KNOP mod. sucré et celui de RAULIN.

E.II.1.1

Action de la TU sur l'aspect de l'A.n.

Milieu de culture: KNOP mod. additionné de glucose 2%.

Quantité de liquide: 25 cm³ en flacons de KARLSBERG.

Durée de la culture: 8 jours.

T° = 22° C. Stérilisation habituelle (TU avec le milieu).

Observations portant sur	Sans TU	Avec TU 1‰
Aspect du mycélium	cérébroïde, grisâtre	mycélium lisse ou légèrement mame-lonné, blanc
Conidies	noires et abondantes	absentes
Quantité de mycélium	normale	faible

Conclusions :

La TU inhibe le développement du mycélium et des conidies.

La coloration du mycélium et du liquide n'apparaît pas sur ce milieu.

E.II.2.1

Action de la TU sur l'aspect et le développement de l'A.n.

Mêmes conditions expérimentales que dans l'expérience précédente, mais saccharose au lieu de glucose.

Observations au 18 ^{me} jour	Sans TU	Avec TU 1‰
Aspect du mycélium	vallonné	légèrement mame-lonné, blanc
Conidies	noires	absentes
Poids sec (mgr)	180 (4) [±30]	90 (4) [±12]

Conclusions :

Mêmes constatations que dans l'expérience précédente.

Nous sommes arrivé par hasard exactement à la 1/2 dose toxique qui est en ce cas de 1‰.

b) *Action de la TU sur la croissance et le métabolisme de l'A.n.*

E.II.1.8 et II.2.10

Action de la TU sur le développement de l'A.n. et la consommation du glucose par celui-ci.

Conditions habituelles^x.

Dosage du glucose selon KOLTHOFF.

On fait 9 groupes contenant respectivement 0, 20, 60, 120, 200, 300, 400, 500 et 1000 mgr de TU par litre.

Stérilisation avec le milieu (autoclave).

Résultats : cf. page suivante.

Conclusions :

La TU agit sur le poids sec ainsi que sur la consommation du glucose. Elle influe par conséquent sur le rapport: poids sec/glucose consommé.

Lorsqu'on étudie l'activité de doses croissantes de TU on remarque qu'elle n'est pas directement proportionnelle à la quantité employée. Il y a deux séries de concentrations: la première allant de 0 à 0,2-0,4 ‰, la seconde à partir de 0,2-0,4 jusqu'à saturation de la solution (env. 10 ‰).

Dans le premier cas, on constate une légère augmentation de poids au 2^{me} jour suivie d'une diminution considérable par rapport au témoin.

Le minimum de poids enregistré se situe aux environs de 0,1 ‰. Pigmentation présente mais retardée.

Dans le second cas, on trouve une diminution progressive du poids accompagnée d'un rendement coûteux et défectueux. Pas de pigmentation, même après deux mois d'observation.

^x Cf. notre travail sur l'effet fongistatique de la TU (78').

âge des cult. (jours)	Constata- tions se rap- portant à:	TU ajoutée (mgr/l)								
		0	20	60	120	200	300	400	500	1000
44 h.	Poids sec (mgr)	104 (3) [±29]	115 (3) [±22]	122 (3) [±6]	104 (2) [±24]	65 (3) [±9]	55 (3) [±13]	63 (3) [±18]	24 (3) [±2]	11 (3) [±0]
	Glucose cons. (%)	12,2	11,6	12,7	9,2	10,2	9,4	7,7	3,2	2,3
	Rapport P/G	0,45	0,48	0,43	0,47	0,24	0,21	0,30	0,26	0,15
4	Poids sec (mgr)	729 (3) [±48]	643 (3) [±4]	647 (3) [±5]	681 (3) [±60]	670 (3) [±19]	610 (3) [±18]	546 (2) [±84]	505 (3) [±10]	350 (3) [±30]
	Glucose cons. (%)	84,1	84,3	77,4	72,1	74,4	69,7	58,9	60,4	37,7
	Rapport P/G	0,45	0,37	0,37	0,39	0,34	0,32	0,34	0,30	0,30
6	Poids sec (mgr)	674 (3) [±14]	598 (3) [±8]	591 (3) [±7]	612 (3) [±13]	654 (3) [±16]	651 (3) [±25]	635 (3) [±29]	569 (3) [±5]	497 (3) [±9]
	Glucose cons. (%)	98,8	92,9	95,9	91,1	92,5	89,3	88,9	83,4	73,5
	Rapport P/G	0,34	0,31	0,27	0,28	0,27	0,27	0,26	0,25	0,22
8	Poids sec (mgr)	510 (3) [±34]	520 (3) [±47]	495 (3) [±19]	548 (3) [±9]	556 (3) [±26]	586 (3) [±21]	557 (3) [±23]	494 (3) [±21]	454 (3) [±8]
	Glucose cons. (%)	99,8	99,0	97,3	100	95,9	93,4	93,0	89,3	84,9
7	Poids sec (mgr)	828 (3) [±6]	646 (3) [±4]	632 (3) [±4]	578 (3) [±5]	642 (3) [±30]	588 (3) [±42]	532 (3) [±37]	535 (3) [±31]	478 (3) [±22]
	Glucose cons. (%)	98,9	97,2	97,9	95,8	94,2	83,6	86,8	85,2	81,6
	Rapport P/G	0,38	0,30	0,29	0,27	0,37	0,31	0,26	0,26	0,23
14	Poids sec (mgr)	476 (3) [±21]	413 (3) [±48]	386 (3) [±40]	438 (3) [±23]	471 (3) [±78]	535 (3) [±87]	409 (3) [±4]	416 (3) [±7]	351 (3) [±7]
21	Poids sec (mgr)	379 (3) [±13]	356 (3) [±21]	208 (3) [±6]	280 (3) [±58]	371 (3) [±128]	528 (3) [±102]	385 (3) [±16]	330 (3) [±9]	311 (3) [±18]
28	Poids sec (mgr)	381 (3) [±13]	236 (3) [±9]	247 (3) [±31]	172 (3) [±9]	206 (3) [±19]	333 (3) [±81]	401 (3) [±97]	326 (3) [±16]	305 (3) [±34]
35	Poids sec (mgr)	404 (3) [±34]	230 (3) [±3]	242 (3) [±44]	158 (3) [±5]	161 (3) [±5]	397 (3) [±129]	390 (3) [±83]	242 (3) [±68]	278 (3) [±49]

c) *Action antimélanique de la TU.*

Ces effets de la TU se manifestent en particulier sur les systèmes oxydasiques de la mélanogénèse.

E.VII.2.8

Action inhibitrice de la TU sur la réaction « tyrosinase » des conidies d'A.n.

Conditions habituelles, suspension bouillie.

0,05 cm³ par tube d'une sol. de TU à 2%. Volume final = 6 cm³.

II gouttes de toluol par tube comme antiseptique.

Coloration observée après (jours):	Sans TU		Avec TU	
	Suspension de conidies			
	fraîche	bouillie	fraîche	bouillie
10	rose clair	inchangée	inchangée	inchangée
38	rose	inchangée	rose très clair	inchangée

Conclusion :

La TU inhibe la réaction tyrosinase des conidies de l'*Aspergillus niger*, offrant ainsi une preuve supplémentaire que la nature du phénomène provoquant leur noircissement est bien du type phénol-phénolase.

E.X.6.1

Action inhibitrice de la TU sur la réaction « tyrosinase » du liquide brun d'A.n.

Conditions habituelles.

A.n. âgé de 8 jours; t° = 35°C.

On utilise 3 cm³ de jus + 1 cm³ sol. tampon; TU ajoutée = 0,5 cm³ sol. 2 ‰.

I goutte de toluol par tube.

Coloration observée après	Sans TU	Avec TU
20 jours	rouge clair	rose clair

Conclusion :

La TU inhibe l'oxydation du paracrésol par l'intermédiaire de la monophénolase contenue dans le liquide d'A.n. en période d'autolyse.

Après ces constatations intéressantes, nous examinons l'effet directement exercé par la TU sur la pigmentation du champignon.

E.II.2.2

*Action de quantités croissantes de TU sur la pigmentation.*Conditions habituelles^x.

T° = 37°C.

Observations sur	TU/flacon (mgr)			
	0	0,5	5	50
<i>les conidies</i> apparaissant après	4 jours	4 jours	11 jours	rien au 30 ^{me} jour
<i>les liquides</i> brunissant après	6 jours	7½ jours	14 jours	clair au 30 ^{me} jour
<i>les mycélia</i> au 30 ^{me} jour poids sec (mgr)	327 (6) [+ 15]	243 (4) [+ 2]	217 (4) [+ 15]	445 (4) [+ 19]
aspect	vallonné	vallonné	plissé	cérébroïde, absent par places
consistance	friable et visqueuse	friable et visqueuse	visqueuse	ferme et élastique
<i>les conidies</i> au 30 ^{me} jour abondance pigmentation	+++ brun noir	+++ brun noir	+ chocolat	0 —
<i>les liquides</i> au 30 ^{me} jour intensité de la pigmentation	+++	+++	++	jaune clair

Conclusions :

La TU exerce une action sur:

- la vitesse de formation des conidies,
- le brunissement du mycélium du liquide,
- le poids de la moisissure.

On note que l'effet sur les poids n'est pas proportionnel à la quantité de TU ajoutée.

Cette observation mérite d'être soumise à une expérimentation plus complète afin d'en préciser les modalités.

E.II.1.8'

Action antimélanique de la TU sur l'A.n.

Flacons de l'E.II.1.8.

Le signe + traduit la pigmentation des liquides chez au moins la moitié + 1 des flacons de la série.

Age des cultures (semaines)	Quantité de TU (gr/l)								
	0	0,02	0,06	0,12	0,2	0,3	0,4	0,5	1,0
1	+	—	—	—	—	—	—	—	—
2	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3	+	+	+	+	—	—	—	—	—
4	+	+	+	+	+	+	—	—	—
5	+	+	+	+	+	+	+	—	—
8	+	+	+	+	+	+	+	—	—

Conclusions :

Jusqu'à 400 mgr/l, la TU retarde la pigmentation.
Aux concentrations supérieures elle la supprime.

d) *Action de dérivés de la TU en particulier, sur la pigmentation de l'A.n.*

E.II.14.1 et II.14.2

Action de divers dérivés de la TU sur la pigmentation de l'A.n.

Conditions habituelles.

TU: 50 mgr/flacon; les autres substances sont en quantité équimoléculaire.

Substances éprouvées	Pigmentation des liquides aux		Conidies au 5 ^{me} jour	Poids sec (mgr)	Inhib. de la pigmen- tation
	7 ^{me} jour	9 ^{me} jour			
Aucune	++	+++	+	(9 ^{me} jour) 418 (2) [+ 24]	0
TU	0	jaune	0	430 (2) [+ 11]	+
S-méthyl- pseudoTU	++	+++	±	312 (2) [+ 47]	0
Aucune	++	—	—	(7 ^{me} jour) 482 (2) [+ 18]	0
TU	0	—	—	495 (2) [+ 27]	+
PhényITU	0	—	—	8 (2) [+ 2]	+
Diphényl- TU sym.	++	—	—	512 (2) [+ 31]	0

Conclusions:

La S-méthylpseudoTU et la diphénylITU n'exercent aucune action notable sur la pigmentation.

La phényITU, par contre, est très toxique et entrave la pigmentation.

E.II.14.3

Action de diverses substances dérivées ou parentes de la TU sur la pigmentation de l'A.n.

Conditions habituelles.

TU: 50 mgr /flacon.

Les autres substances sont ajoutées en quantité équimoléculaire à celle de la TU.

Substances éprouvées	Pigmentation des liquides aux		Conidies au 7 ^{me} jour	Poids sec des mycélia (mgr) au 9 ^{me} jour	Inhib. de la pigmentation
	7 ^{me} jour	9 ^{me} jour			
Aucune	brun	brun	++	426 (2)	—
Thio-urée	orange	roux	0	[+ 38]	+
	jaune tr. clair	jaune clair		357 (2)	
Diphénylthiocarbazone	liquide coloré par la substance, inch.		0 ?	[+ 42]	+ ?
				378 ¹	
Diphénylcarbazon	nulle	nulle	0	567	+
Cryogénine	nulle	jaune clair	0	495 (2)	±
				[+ 22]	
Diéthylthiocarbamate de Na	nulle	nulle	0	0	(+)
Caféine	nulle	nulle	+	58 (2)	+
				[+ 15]	
AllyITU	nulle	nulle	0	475 (2)	+
				[+ 38]	
Diphénylthiocarbazide	liquide coloré par la substance		0	0	(+)
Diphénylcarbazide	nulle	myc. très légt. col.	0	528	±
Uracile	brun tr. faible	brun faible	+	492 (2)	0
				[+ 12]	
Guanine	mycél. tr. légt. col.	brun clair	+	407	0
TMTD	nulle	nulle	0	0	(+)
« 133 WANDER »	myc. très légt. col.	brun clair	+	581	0
Phénylurée	nulle	nulle	0	595 (2)	+
				[+ 17]	

Conclusions :

Il y a trois substances qui sont très toxiques: ce sont le diéthylthiocarbamate, la diphénylthiocarbazide et le TMTD.

La correspondance avec la réaction de CHODAT semble se vérifier dans les grandes lignes, en ce sens que les corps ne possédant pas d'atome de S sont peu actifs ou pas actifs. Notons cependant que la phénylurée et la cryogénine exercent une action très semblable à celle de la TU, sur la pigmentation de l'A.n.

Enfin la caféine exerce un effet nocif considérable.

¹ Les chiffres en italique représentent les poids des mycélia auxquels s'ajoutent ceux des reliquats des substances peu solubles dont une partie est restée sur le filtre avec le mycélium.

E.II.14.4

*Action de diverses substances dérivées ou parentes de la TU
et de la 8-oxyquinoléine, sur la pigmentation de l'A.n.*

Conditions semblables à l'E.II.14.3.

Substances éprouvées	Pigmentation des liquides au 7 ^{me} jour	Poids sec des mycélia au 9 ^{me} jour	Inhib. de la pigmen- tation
Aucune	brun	462 (2) [± 41]	—
TU	jaune clair	327 (2) [+ 30]	+
Urée	brun	455 (2) [+ 21]	0
Thio-uracile	brun orange	429 (2) [± 7]	0
Méthylthio-uracile	brun orange	476	0
« Thiomidil WANDER »	brun mauve	499 (2) [± 38]	0
Carbonate de guanidine	brun	582 (2) [+ 15]	0
Semicarbazine HCl	jaune	733 (2) [+ 46]	+
Thiocyanate d'ammonium	0	274 (2) [± 12]	+
Acide p-sulfanilique	brun	465 (2) [± 33]	0
8-oxyquinoléine	0	0	(+)

Conclusions :

Peu d'effets par les thio-uraciles, mais action anticryptogamique notable de l'oxyquinoléine.

Seuls, la TU, le thiocyanate d'ammonium et la semicarbazine inhibent la pigmentation. Cette dernière substance entrave en même temps l'autolyse, comme semble aussi le faire, dans une moindre mesure, le carbonate de guanidine.

e) Action « antioxygène » *in vivo*.

Nous avons vu plus haut que la TU protège les phénols contre l'oxydation enzymatique. En sera-t-il de même *in vivo* ?

L'E.XV.1.2' (78') nous a montré que la TU protège le catéchol contre sa transformation par l'A.n., et que la protection est d'autant plus efficace que la quantité de TU protectrice est plus élevée.

Enfin, nous avons étendu nos investigations à l'étude de son effet sur la respiration.

E.VI.1.1

Respiration du mycélium d'A.n. développé en présence de TU.

On a préparé au préalable des cultures agitées d'A.n. sur RAULIN, obtenant ainsi des « boules » de mycélium.

L'agitation est obtenue à l'aide d'un chariot mobile agité d'un mouvement de va-et-vient à raison de 45 secousses/minute.

Une série de flacons sans TU servent de témoins, l'autre contient 1% de TU.

T° = 22°C; âge de la culture: 10 jours.

On prélève 10 boules de dimension sensiblement égale dans chacune des séries; on les lave à l'eau, puis on les introduit dans les récipients du manomètre de WARBURG contenant chacun 2,5 cm³ de liquide de RAULIN frais stérile et, dans un godet séparé, 0,5 cm³ de KOH 5%.

Un thermobaromètre dont le récipient contient 2,5 cm³ d'eau distillée et 0,5 cm³ de KOH permet les corrections des erreurs dues aux variations de pression barométrique, ainsi que les faibles différences éventuelles de température au cours de l'expérience. Technique selon KREBS (183).

T° = 25°C. Durée de l'observation: 3 heures.

	Récipient témoin avec 10 boules développées sur RAULIN seul	Récipient avec 10 boules développées sur RAULIN + TU
O ₂ disparu (mm ³)	163	44
Poids sec du mycélium examiné	500 mgr	750 mgr
Rapport $\frac{\text{O}_2 \text{ consommé}}{100 \text{ mgr mycélium}}$	32,6	5,8

Conclusion:

Un mycélium de culture agitée sur RAULIN contenant de la TU à raison de 1‰ consomme environ cinq fois moins d'oxygène qu'un mycélium développé dans les mêmes conditions, mais sans TU.

f) *Action de la TU sur l'autolyse d'A.n.*

Afin de préciser l'action de la TU sur l'autolyse, nous avons d'abord essayé d'observer ce qui se passe si on l'ajoute en quantités croissantes à diverses périodes de la vie de l'A.n.

E.II.1.9b

Addition de TU en quantités croissantes au 4^{me} jour de la vie de l'A.n.

Conditions habituelles^x.

Addition de 2 cm³ de solution stérile contenant des doses croissantes de TU.

Volume final: 52 cm³.

Age des cultures (jours)	TU ajoutée (mgr/l)								
	0	20	60	120	200	300	400	500	1000
	Poids sec des mycélia (mgr)								
4	811 (3) [+162]	—	—	—	—	—	—	—	—
5	844 (3) [+70]	—	—	—	—	—	—	—	—
6	767 (3) [+12]	—	—	—	—	—	—	—	—
7	659 (3) [+51]	561 (3) [+36]	543 (3) [+28]	553 (3) [+36]	600 (3) [+59]	559 (3) [+40]	586 (3) [+19]	581 (3) [+9]	627 (2) [+78]
14	417 (3) [+16]	338 (3) [+23]	348 (3) [+14]	348 (3) [+14]	307 (3) [+13]	341 (3) [+13]	328 (3) [+9]	353 (3) [+22]	301 (2) [+2]
21	328 (3) [+13]	311 (3) [+6]	303 (3) [+14]	316 (3) [+6]	271 (3) [+20]	292 (3) [+9]	285 (3) [+12]	270 (3) [+24]	190 (2) [+13]
28	288 (3) [+11]	297 (3) [+17]	282 (3) [+19]	275 (3) [+10]	264 (3) [+12]	262 (3) [+19]	246 (3) [+18]	244 (3) [+8]	243 (2) [+0]

Conclusions :

Il y a augmentation de l'autolyse à toutes les concentrations. Notons en passant que le brunissement n'est pas empêché.

E.II.1.10

Addition de TU en quantités croissantes au 5^{me} jour de la vie de l'A.n.

Conditions habituelles^x.

Mêmes opérations que pour l'expérience précédente.

Age des cultures (jours)	TU ajoutée (mgr/l)								
	0	20	60	120	200	300	400	500	1000
	Poids sec des mycélia (mgr)								
5	772(3) [±59]	—	—	—	—	—	—	—	—
6	755(3) [±1]	724(3) [±13]	716(3) [±11]	781(3) [±9]	736(3) [±33]	772(3) [±23]	776(3) [±31]	773(3) [±11]	776(3) [±28]
7	664(2) [±2]	634(3) [±67]	618(3) [±45]	710(3) [±13]	631(3) [±47]	673(3) [±25]	681(3) [±6]	621(3) [±79]	621(3) [±80]
8	571(2) [±31]	501(2) [±1]	573(3) [±49]	600(3) [±78]	621(3) [±67]	601(3) [±10]	547(3) [±21]	518(3) [±17]	551(3) [±81]
9	414(2) [±7]	518(3) [±84]	520(3) [±75]	493(3) [±50]	473(3) [±45]	477(3) [±39]	485(3) [±53]	496(3) [±80]	462(3) [±42]
10	432(2) [±15]	428(3) [±24]	462(2) [±78]	383(3) [±22]	450(3) [±40]	412(3) [±28]	503(3) [±66]	438(3) [±31]	430(3) [±77]
12	356(2) [±2]	345(3) [±16]	345(3) [±18]	316(3) [±9]	323(3) [±6]	335(3) [±24]	305(3) [±2]	326(3) [±23]	333(3) [±20]
14	285(2) [±7]	301(3) [±12]	312(3) [±10]	298(3) [±16]	294(2) [±8]	287(2) [±7]	271(2) [±5]	276(3) [±8]	269(5) [±13]

Conclusions :

Les erreurs moyennes sont passablement élevées, surtout entre le 7^{me} et le 10^{me} jour, avec un maximum pour la quantité la plus grande de TU. On ne peut tirer de conclusions nettes de ce tableau, sinon que l'autolyse est perturbée par la TU, dans des sens différents selon la concentration de substance ajoutée et l'âge de la culture à laquelle on fait l'addition.

Il semble que nous soyons au point critique où les réactions s'inversent pour de faibles variations des conditions expérimentales.

Il semble donc que nous approchons d'un point critique. C'est ce que confirme l'expérience suivante dont les résultats sont encore plus inconstants que les précédents.

E.II.1.11

Addition de TU en quantités croissantes au 6^{me} jour de la vie de l'A.n.

Conditions habituelles^x.

Addition de quantités croissantes de TU au 6^{me} jour.

Age des cultures (jours)	TU ajoutée (mgr/l)								
	0	20	60	120	200	300	400	500	1000
	Poids sec des mycélia (mgr)								
4	719(3)	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	825(3)	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	779(3)	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	614(3)	635(3)	593(3)	591(3)	698(3)	739(3)	757(3)	692(3)	772(3)
	[±138]	[±99]	[±90]	[±66]	[±81]	[±66]	[±92]	[±38]	[±74]
8	621(3)	467(3)	508(3)	512(3)	457(3)	518(3)	598(3)	578(3)	729(3)
	[±110]	[±21]	[±51]	[±58]	[±14]	[±44]	[±137]	[±52]	[±106]
9	472(3)	428(3)	451(3)	401(3)	434(3)	461(3)	446(3)	545(3)	550(3)
	[±16]	[±12]	[±45]	[±22]	[±11]	[±30]	[±40]	[±70]	[±168]

Conclusions :

Les variations expérimentales sont trop élevées pour tirer une conclusion valable. La TU doit intervenir dans des phénomènes trop complexes pour être analysés efficacement. Les réactions individuelles sont passablement différentes.

En vue de préciser le phénomène, nous avons fait la dernière expérience suivante:

E.II.1.12

Action de diverses concentrations de TU sur l'autolyse de l'A.n.

Conditions habituelles^x, mais flacons non passés au mélange sulfochromique de façon à fournir une série peu homogène de cultures dont les unes sont en autolyse au 6^{me} jour et d'autres ont encore un liquide parfaitement jaune clair. Au 7^{me} jour, nous avons classé ceux-ci en trois séries, de teinte égale.

Série	Aspect
A	mycélium blanc, liquide jaune clair (pas d'autolyse)
AB	mycélium et liquide orangé clair (début d'autolyse)
B	mycélium et liquide brun noir (autolyse avancée)

La TU est ajoutée à raison de 0,5 et 50 mgr/flacon pour chaque série, constituant ainsi 3 séries de 3 concentrations différentes. Les pesées sont faites le lendemain, donc au 8^{me} jour d'âge de l'A.n.

Série	Quantité de TU (mgr /flacon)		
	0	5	50
	Poids sec au 8 ^{me} jour (mgr)		
A	609,1 (4) [± 4,0]	591,2 (4) [± 3,2]	586,8 (4) [± 3,7]
AB	475,4 (13) [± 2,9]	461,8 (9) [± 3,4]	451,9 (11) [± 3,8]
B	444,3 (11) [± 4,2]	451,3 (11) [± 3,8]	431,8 (11) [± 2,9]

Conclusions :

Action réelle de la TU sur l'autolyse.

Sens différent de l'action, selon le degré de développement ou mieux le type de métabolisme de l'A.n. au moment de l'addition et la quantité de TU ajoutée. L'action est toutefois bien moins marquée ici que dans le cas où l'on ajoute la TU avant la germination, c'est-à-dire au début de la culture.

En fait il y a :

1. augmentation de l'autolyse pour tous les flacons contenant 50 mgr de TU,
2. augmentation de l'autolyse avec 5 mgr TU si on ajoute celle-ci avant que celle-là ne commence à se manifester,
3. diminution de l'autolyse avec 5 mgr TU introduite lorsque celle-là est déjà évoluée (=renversement d'action).

E.XV.1.2

Action de la TU et du catéchol sur le développement et l'autolyse de l'A.n.

Conditions habituelles.

Quantités équimoléculaires de TU et de catéchol (TU = 0,1 ‰).

Stérilisation des deux substances par filtration.

Séries	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³
TU	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5	—	—
Catéchol	—	—	—	0,5	0,5	0,5	0,5	—
Eau dist.	1,5	1,0	0,5	1,0	0,5	—	1,5	2,0
Poids sec (mgr)								
6 ^{me} jour	615(5) [± 11]	607(5) [± 16]	595(5) [± 17]	592(5) [± 9]	597(5) [± 30]	585(5) [± 17]	794(4) [± 26]	787(5) [± 7]
10 ^{me} jour	496(5) [± 32]	501(5) [± 15]	497(5) [± 4]	438(4) [± 16]	451(5) [± 27]	460(4) [± 10]	462(5) [± 20]	469(5) [± 12]
	Différence de poids par rapport au témoin (%)							
au 6 ^{me} jour	—21,8	—22,8	—24,3	—24,7	—24,1	—25,6	+ 0,8	—40,4 ¹
au 10 ^{me} jour	+ 5,7	+ 6,8	+ 5,9	— 6,6	— 3,8	— 1,9	— 0,4	

¹ Différence de poids (%) entre le 6^{me} et le 10^{me} jour.

Différence de poids (mgr) entre les flacons contenant la TU
et ceux chargés de TU + catéchol.

Après (jours)	Quantité de TU (mgr/flac.)	Différence mesurée entre les séries		Variations extrêmes
		séries	mgr	
6	5	I et IV	+ 23	+ 20
	10	II » V	+ 10	+ 46
	15	III » VI	+ 10	+ 34
10	5	I » IV	+ 58	+ 48
	10	II » V	+ 50	+ 42
	15	III » VI	+ 37	+ 14

Conclusions :

On constate en somme que l'autolyse est :

- peu changée par le catéchol,
- diminuée du 6^{me} au 10^{me} jour par la TU,
- augmentée par l'association TU-catéchol.