

# S O M M A I R E

INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE PRELIMINAIRE	
INTRODUCTION .....	1
I. CARACTERES GENERAUX D'ASPERGILLUS ORYZAE .....	4
1) Applications industrielles .....	4
2) Position systématique .....	5
3) Variabilité .....	6
4) Physiologie de la biosynthèse de l' $\alpha$ -amylase .....	7
A. influence des constituants du milieu de culture sur la biosynthèse de l' $\alpha$ -amylase .....	7
B. mécanismes régulateurs de la biosynthèse .....	9
II. CARACTERES PARTICULIERS AUX SOUCHES BrBv IV ET 1135 .....	10
1) Caractères morphologiques ces souches BrBv IV et 1135 .....	10
2) Caractéristiques culturelles des souches BrBv IV et 1135 .....	10
A. influence du maltose sur la synthèse de l' $\alpha$ -amylase chez les souches BrBv IV et 1135 .....	11
B. influence du glucose sur la synthèse de l' $\alpha$ -amylase chez les souches BrBv IV et 1135 .....	11
III. PLAN DU TRAVAIL .....	12

## CHAPITRE I. PHYSIOLOGIE DE L'ACCUMULATION DES ACIDES ORGANIQUES DANS LES MILIEUX DE CULTURE

INTRODUCTION .....	17
I. PRODUCTION DE L' $\alpha$ -AMYLASE SUR MILIEU DEPREZ MODIFIE .....	20
II. IDENTIFICATION DES COMPOSES ACIDES PRESENTS DANS LES FILTRATS DE CULTURE .....	24
1) Recherche de l'acide malique dans les filtrats de culture .....	27
2) Identification des composés acides présents dans les filtrats de culture par chromatographie couche mince .....	22
3) Dosage enzymatique de l'acide glutarique et l'acide malique ....	24
4) Identification des acides organiques présents dans les filtrats de culture par chromatographie liquide haute pression .....	24
III. INFLUENCE DU GLUCOSE SUR L'ACCUMULATION DES ACIDES ORGANIQUES .....	33
1) Dosage du glucose dans les milieux de culture résultant d'une hydrolyse enzymatique du substrat .....	33
2) Recherche d'un "effet glucose" responsable de l'accumulation de l'acide malique .....	34
IV. INFLUENCE DE L'ACIDE $\alpha$ -D GLUCURONIQUE SUR LA PHYSIOLOGIE DE LA BILSYNTHÈSE DE L' $\alpha$ -AMYLASE .....	36
1) Influence de l'acétate de sodium comme source de carbone .....	36
2) Influence du maltose supplémenté d'acétate de sodium .....	37
V. INFLUENCE DE NE QUELQUES ÉLÉMENTS MINÉRAUX SUR L'ACCUMULATION DES ACIDES ORGANIQUES DANS LES FILTRATS DE CULTURE .....	40
VI. CONCLUSION .....	42

## CHAPITRE II. CARACTÉRISATION DES VOIES MÉTABOLIQUES RESPONSABLES DE L'ACCUMULATION DES ACIDES ORGANIQUES

INTRODUCTION .....	46
I. ACTIVITÉ GLYCOLYTIQUE .....	50
II. ACTIVITÉ DU CYCLE DE KREBS ET DU CYCLE GLYOXYLIQUE .....	51
1) Activités isocitrate déshydrogénase $NADP^+$ , $NAD^+$ dépendante et isocitratase .....	51
a) purification et étude des constantes de l'isocitrate déshydrogénase $NAD^+$ et $NADP^+$ dépendante .....	55

b) purification et étude des constantes de l'isocitrate . . . . .	48
c) étude de la régulation du rapport isocitrate déshydrogénase isocitrate . . . . .	50
2) Activité malate synthétase . . . . .	51
3) Activité succinate déshydrogénase . . . . .	54
4) Activité malate-cétylhydrogénase . . . . .	58
5) Activité crotonyl-coenzyme A déshydrogénase . . . . .	65
6) Activité glutamate déshydrogénase . . . . .	69
7) Activité malique enzyme . . . . .	72
III. ETUDE DES ACTIVITES RESPIRATOIRES . . . . .	75
1) Activité NADH oxydase et NADH cytochrome c oxydoréductase . . . . .	75
2) Etude de la respiration des souches BRV IV et 1135 . . . . .	79
3) Recherche d'une fermentation éthanolique . . . . .	82
4) Influence de l'aération des milieux de culture sur l'accumulation des acides organiques et sur la production d'acrylate . . . . .	83
IV. CONCLUSION . . . . .	89
CHAPITRE III. ETUDE DES RAPPORTS LIANT L'ACCUMULATION DES ACIDES ORGANIQUES ET LA SYNTHÈSE DE L' $\alpha$ -AMYLASE SUR DES PROTOPLASTES DES SOLCHES BRV IV ET 1135	
INTRODUCTION . . . . .	91
I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE . . . . .	92
1) Le mycélium . . . . .	92
2) Les enzymes lytiques . . . . .	93
3) La solution stabilisatrice . . . . .	94
II. ISOLEMENT DES PROTOPLASTES . . . . .	95
1) Préparation du complexe lytique . . . . .	95
2) Solution stabilisatrice . . . . .	99
A. pH de la solution . . . . .	99
B. pression osmotique . . . . .	99
3) Le mycélium . . . . .	100
A. âge du mycélium employé . . . . .	100
B. composition du milieu de culture . . . . .	100



4) Morphologie des protoplastes formés .....	103
5) Contrôle physiologique des protoplastes isolés .....	104
A. mesure des coefficients respiratoires .....	104
B. étude de la glucose-6-P déshydrogénase, de la malate déshydrogénase et de la NADH cytochrome c oxydoréductase .....	104
C. régénération des protoplastes .....	105
III. ETUDE DE LA PHYSIOLOGIE DE PRODUCTION DE L' $\alpha$ -AMYLASE ET DE L'ACIDE MALIQUE SUR LES PROTOPLASTES DES SOUCHES Br5v IV et 1435 .....	108
1) Etude de la production de l' $\alpha$ -amylase .....	108
2) Etude de la répression catabolique exercée par le glucose sur la synthèse d' $\alpha$ -amylase .....	110
3) Action du fluorure de sodium sur la production de l' $\alpha$ -amylase .....	112
IV. CONCLUSION .....	114
CONCLUSION GENERALE .....	115
BIBLIOGRAPHIE .....	118

## SOMMAIRE DES ANNEXES TECHNIQUES

Annexe n° 1 : Milieu de culture .....	A1
Annexe n° 2 : Chromatographie .....	A5
Annexe n° 3 : Extraction et dosage des nucléotides pyrimidiques .....	49
Annexe n° 4 : Recherche et dosage des activités enzymatiques .....	A12
Annexe n° 5 : Isolement des mitochondries .....	A17
Annexe n° 6 : Mesure des coefficients respiratoires .....	A18
Annexe n° 7 : Dosages de composés par voie chimique .....	A21
Annexe n° 8 : Dosages de composés par voie enzymatique .....	A24