

ÉTUDES SUR LA STRUCTURE GLUCIDIQUE
DES PAROIS DU CHAMPIGNON *Dendryphiella vinosa*
(BERK ET CURT) REISINGER*

R. BONALY

Laboratoire de Chimie Biologique, Université de Nancy I 5, rue Albert-Lebrun 54 Nancy (France)

(Reçu le 26 novembre 1971, accepté après modification le 15 février 1972)

ABSTRACT

Cell walls of the fungus *Dendryphiella vinosa* have been prepared by mechanical grinding of the cells and various fractions have been separated and analyzed. The results indicate the presence of D-glucans having essentially a β configuration, chitine, and proteins. Galactose and mannose are also present in low proportion and are linked to glucose in heteroglycans, but galactosamine or uronic acid polymers have not been detected.

SOMMAIRE

Les parois du champignon *Dendryphiella vinosa* ont été obtenues par broyage mécanique des cellules et diverses fractions ont été séparées et analysées. Les résultats indiquent la présence de D-glucannes de configuration surtout β , de chitine et de protéines. On trouve également dans ces parois de faibles quantités de galactose et de mannose associés au glucose sous forme d'hétéroglycannes, mais on ne peut détecter de polymères à base de galactosamine ou d'acide uronique.

INTRODUCTION

Les parois des champignons sont en général constituées de chitine, de glucanne et de cellulose. D'autres polymères à base de galactosamine ou à base d'acide uronique ont été également caractérisés dans certaines parois. Les champignons du groupe des Deutéromycètes ont des parois formées essentiellement de chitine et d'un glucanne dont la structure est encore imperfectement connue, il s'agit^{1,2} probablement de chaînes β -D-(1→3) et β -D-(1→6). Toutefois, les parois des conidies de *Colletotrichum lagenarium* (Deutéromycètes) semblent³ posséder un polysaccharide de type cellulose β -D-(1→4). Nos connaissances sur la structure des parois de ce groupe de champignons sont donc encore incertaines, elles sont presque totalement absentes en ce qui concerne les champignons de la « famille » des Dématiées.

*Dédicé au Professeur Jean-Émile Courtois à l'occasion de son 65ème anniversaire

Les examens morphologiques révèlent que le champignon *Dendryphiella vinoso* (Dématières) élabore des parois qui sont facilement dégradables par des micro-organismes du sol jusqu'à un stade de résidu noir. Il est donc apparu nécessaire d'entreprendre l'étude de la constitution chimique de ces parois, cela au point de vue écologique et au point de vue biologique, étant donné que des atteintes virales entraînent également des modifications chimiques des parois.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Méthodes analytiques — La recherche et la détermination des hexosamines ont été effectuées, après hydrolyse avec l'acide chlorhydrique 4M pendant 5 h à 110° en tube scelle, par chromatographie sur résine à l'aide de l'autoanalyseur Technicon selon la technique de Monsigny⁴. Les dosages des hexosamines totales et des N-acetyl-hexosamines ont été réalisés par la méthode d'Elson-Morgan selon le mode opératoire décrit par Ghysen et al⁵.

Le D-glucose a été dose par la D-glucose-oxydase (β -D-glucose O₂ oxidoréductase, E C 1 1 3 4) après hydrolyse des produits par l'acide chlorhydrique 2M pendant 2 h à 110° en tube scelle et en respectant les conditions d'hydrolyse préconisées par Spick et al⁶. L'estimation des rapports molaires des oses a été effectuée après hydrolyse par l'acide chlorhydrique 2M pendant 2 h à 110° en tube scellé, et après chromatographie descendante sur papier Whatmann 3 MM (solvant alcool butylique-pyridine-eau, 6 4 3, v/v) par la méthode de Wilson⁷ avec une précision de 10%.

La méthylation des polysaccharides a été effectuée selon la méthode de Hakomori et suivant la technique de Sandford et Conrad⁸. La complétion de la méthylation a été vérifiée en spectroscopie par disparition totale de la bande des groupes hydroxyles à 3450 cm⁻¹. Après hydrolyse par le méthanol chlorhydrique, la séparation des oses méthylés a été réalisée par chromatographie sur papier selon la technique de Petek⁹. Pour obtenir des oses méthylés de référence nous avons soumis au même traitement des échantillons de laminarine, glycogène, dextranne et du lactose.

Pour l'analyse des amino acides des prises d'essai aliquotes ont été hydrolysées à 110° en tubes scellés par l'acide chlorhydrique 6M pendant 18 h. L'analyse a été effectuée à l'aide de l'auto-analyseur Technicon.

Réactions enzymatiques — Nous avons utilisé le suc digestif d'*Helix pomatia* (Industrie Biologique Française) en tampon acide acétique-acétate de sodium 0,05M, pH 5,5, à la concentration de 20 µl pour 5 mg de substrat. Les incubations sont réalisées au bain-marie à 37° dans un volume final de 500 µl.

La chitinase (chitine glycanohydrolase, E C 3 2 1 14, Calbiochem, La Jolla, California) a été utilisée en tampon acide acétique-acétate de sodium 0,05M, pH 5,2 à 37°. La concentration d'enzyme était de 0,5 mg pour 5 mg de substrat et le volume final de la solution 0,5 ml.

La β -D-glucosidase (β -D-glucoside glucohydrolase, E C 3 2 1 21) et l' α -D-glucosidase (α -D-glucoside glucohydrolase, E C 3 2 1 20) (Sigma, St. Louis, Missouri) ont été utilisées respectivement en tampon acide acétique-acétate de sodium 0,05M,

pH 5,2 et dihydrogénophosphate de potassium-hydroxyde de sodium 0,05M, pH 6,8 Les incubations sont réalisées à 37°, la concentration de préparation enzymatique étant de 0,3 mg pour 6 mg de substrat Pour éviter tout artefact dû éventuellement à une contamination microbienne, nous avons effectué dans les mêmes conditions des incubations témoins

Électrophorèses — Elles sont réalisées sur papier Whatmann 3 MM pendant 1 à 2 h en utilisant une solution tampon de pyridine-acide acétique-eau (2.9.1000, v/v), pH 3,8, sous un voltage de 15 V/cm Les fractions séparées sont révélées par le réactif au nitrate d'argent alcalin¹⁰ et par la réaction chlore-benzidine¹¹

Spectres ir — Ils ont été réalisés à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer 337 sur un échantillon d'environ 2 mg, incorpore dans une pastille de bromure de potassium, ou dissous dans du tétrachlorure de carbone

Préparation des parois — Le champignon est cultivé pendant trois mois sur un milieu liquide (extrait de malt à 2%) non agité, le mycelium est lavé, puis broyé à l'aide de billes de verre dans un homogénéiseur MSK Braun Après un premier broyage de 30 sec, la masse cellulaire est traitée par l'acétone puis lavée plusieurs fois à l'eau distillée afin d'éliminer la majeure partie des constituants intracellulaires Après un second broyage de même durée, le broyat est incubé en présence de 0,2% de trypsine pendant 3 h à 37° à pH 8 Les parois sont ensuite lavées à l'eau distillée jusqu'à ce qu'elles apparaissent propres et dépourvues de membrane, ce qui est vérifié au microscope électronique¹²

Fractionnement chimique — Les parois sont soumises à un fractionnement chimique selon deux méthodes utilisées pour l'étude des parois de champignons.

Pour tous les traitements, le rapport produit à solution acide ou basique était de 1.50 (poids/vol) Les traitements à température ambiante ont été effectués sous agitation douce Après chaque traitement les produits sont séparés par centrifugation et les diverses fractions sont analysées puis dialysées Les produits solubles ont été soumis à l'électrophorese pour vérifier leur homogénéité Les composés solides ou en solution, retenus après dialyse, sont lyophilisés

Nous avons tout d'abord procédé selon une méthode utilisée par Bartnicki-Garcia¹³ pour identifier la chitine et son dérivé, le chitosanne Les parois sont extraites successivement par l'acide chlorhydrique M à froid et à chaud, puis par l'hydroxyde de sodium 2M Les extraits sont dialysés et lyophilisés Les rendements sont indiqués dans le Tableau I

Dans une seconde expérience, nous avons suivi la méthode de Mahadevan². Les parois sont traitées successivement par l'hydroxyde de sodium 2M, l'acide sulfurique 0,5M et la soude caustique 2M Les extraits sont dialysés et lyophilisés Les rendements sont indiqués dans le Tableau I

Ces deux traitements différents n'ont pas permis d'obtenir une dissolution complète des parois mais ont conduit à toute une série de produits Une analyse par chromatographie sur papier montre la présence d'oses et d'amino-acides traduisant pour ces produits une structure glycopeptidique que nous avons cherché à préciser

TABLEAU I

EXTRACTION DES PAROIS DU CHAMPIGNON *Dendryphella vinosa*

Fraction	Conditions d'extraction				Rendement ^a (%)
	Agent	Nombre d'extractions	Duree (h)	Temp (degrés)	
Méthode de Bartnicki-Garcia^{1,3}					
F _a	HCl M	2	0,5	15-25	0,16
F _b	HCl M	2	0,5	100	20
F _c	Résidu				66
F _{cs}	NaOH 2M	1	12	15-25	20
F _{cr}	Résidu				40 ^b
Méthode de Mahadevan²					
F ₁	NaOH 3M	3	24	15-25	15 ^c
F ₂	H ₂ SO ₄ 0,5M	1	24	110	8 ^d
F ₃	NaOH 2M	1	2	15-25	1
F ₄	Résidu				70 ^b

^aAprès dialyse et lyophilisation ^bAprès lavage et dialyse ^cAprès filtration sur Séphadex G-25 ^dNon purifié par dialyse

RÉSULTATS

Étude de la partie peptidique — Malgré un traitement initial par la trypsine, il est encore possible de détecter des amino-acides dans les parois et les produits. Le taux d'azote total des parois est de 76 µg/mg, correspondant à l'azote des amino-acides, des hexosamines et du pigment noir. Pour avoir une valeur plus précise de la partie peptidique, nous avons soumis les parois et les composés F₁, F₂ et F₄ à une hydrolyse par l'acide chlorhydrique 6M. Après chaque hydrolyse, il subsiste un résidu noir plus ou moins important, le surnageant est décanté puis analyse à l'auto-analysateur Technicon. Les valeurs des amino-acides déterminés sont rassemblées dans le Tableau II.

Nous n'avons pas cherché à élucider le mode de liaison avec la partie glucidique. Mais le fait de retrouver des glycopeptides après traitement par l'hydroxyde de sodium, comme dans le produit F₁, indique que, en plus d'éventuelles liaisons glycosidiques et esters rompus en milieu alcalin, d'autres liaisons covalentes interviennent pour unir les deux parties, osidique et peptidique.

Étude de la partie glucidique — Les deux traitements indépendants des parois ont fourni différentes fractions contenant toutes une partie glucidique qui a été analysée.

La fraction F_a contient à l'état libre du D-glucose et, en faible quantité, du mannose et du galactose. Après dialyse pendant 24 h et lyophilisation, on recueille le produit F_a (16 mg) de nature glycopeptidique. Il est homogène à l'électrophorèse, et contient du galactose et du D-glucose dans un rapport molaire de 1/0,8.

La fraction F_b contient du D-glucose et du galactose libres et un produit non

TABLEAU II

AMINO-ACIDES DES PAROIS ET DES FRACTIONS F_1 , F_2 ET F_4^a

Amino-acides	Parois		Fraction F_1		Fraction F_2		Fraction F_4	
	$\mu\text{moles/g}$	%	$\mu\text{moles/g}$	%	$\mu\text{moles/g}$	%	$\mu\text{moles/g}$	%
Acide aspartique	24	7,2	15	7,1	3,2	2,3	5,6	3,8
Threonine	20,5	6	13	6,3	7,3	5,4	7,4	5,2
Serine	23	6,9	13,7	6,6	7,1	5,3	5,8	4
Acide glutamique	35,5	10,7	23	11,1	14,3	10,7	17,6	12,4
Proline	22	6,6	21,5	10,3	13,7	10,1	11,5	8
Glycine	33,5	10,2	17	8,2	8,6	6,3	10,1	7
Alanine	26,5	8	17,3	8,3	13,7	10,1	12	8,4
Valine	20,5	6	13	6,3	9,7	7,1	11,1	7,8
1/2 Cystine	traces		0		7	5,2	0	
Méthionine	13,3	4	traces		8,4	6,2	9,3	6,5
Isoleucine	15,5	4,7	8,7	4,3	6,5	4,8	7,6	5,3
Leucine	22	6,6	9,5	4,6	8,3	6,1	9,4	6,6
Tyrosine	11,5	3,5	6,3	3,1	4	3	5,7	4
Phénylalanine	16,1	4,6	8,7	4,3	5,1	3,7	10,1	7
Lysine	14,2	4,3	10,5	5	5,8	4,2	6,6	4,6
Histidine	17	5,3	13,2	6,4	7,3	5,4	7,7	5,4
Arginine	17,4	5,4	16,8	8,1	5,7	4,1	5,8	4

^aAprès hydrolyse par l'acide chlorhydrique 6M pendant 15 h à 110° en tube scellé. Résultats exprimés en μmoles par g de produit, et pourcentage respectif de chaque amino-acide

dialysable Ce produit F_b (200 mg) est homogène à l'électrophorese Comme le produit F_a , il est de nature glycopeptidique mais sa partie glucidique est plus complexe, constituée d'une part de D-glucosamine et N-acetyl-D-glucosamine (Tableau III) et d'autre part des trois oses neutres, D-glucose, mannose et galactose dans un rapport molaire de 1 1 0,25 Dans le produit F_b , les taux de D-glucosamine et N-acetyl-D-glucosamine, libérées par action du suc d'*Helix pomatia* et de la chitinase, se trouvent dans un rapport de 3 2, ce qui permettrait d'y suspecter la présence de chitosanne Cependant la concentration totale de glucosamine dans ce produit, correspondant à moins de 8% de la teneur totale de D-glucosamine dans les parois, paraît trop faible pour pouvoir affirmer la présence de chitosanne dans les parois Il s'agit probablement d'un produit de dégradation de la chitine consécutif au traitement, et reste lié à un galactoglucomannane extrait par l'acide chlorhydrique M

Après dialyse et lyophilisation de la fraction F_c , on recueille 660 mg de produit F_c La partie glucidique est formée de D-glucose et de N-acetyl-D-glucosamine, comme le montre l'action du suc digestif d'*Helix pomatia* et de la chitinase, qui ne libèrent que des dérivés N-acétyles (Tableau III) En traitant le produit F_c par l'hydroxyde de sodium 2M pendant 12 h à température ambiante, on sépare un résidu noir F_{cr} et une phase soluble constituant la fraction F_{cs} Le résidu est lavé à l'eau distillée puis lyophilisé On recueille 400 mg de produit F_{cr} qui contient encore du D-glucose mais est enrichi en D-glucosamine qui se trouve, comme dans le produit F_c , sous forme de N-acetyl-D-glucosamine (Tableau III)

TABLEAU III
QUANTITÉS DE D GLUCOSE, HEXOSAMINES TOTALES ET N-ACÉTYL-D-GLUCOSAMINE LIBÉRÉES DES PAROIS ET DES PRODUITS Γ_a , F_b , F_c , F_{ca} ET F_{cr} PAR
HYDROLYSE ACIDE ET ENZYMATIQUE^a

Conditions d'hydrolyse	Parois			$\text{Product } \Gamma_a$			$\text{Product } F_b$			$\text{Product } F_c$			$\text{Product } \Gamma_{ca}$			$\text{Product } F_{cr}$		
	G ^b	HexN	GNac	G	HexN	GNac	G	HexN	GNac	G	HexN	GNac	G	HexN	GNac	G	HexN	GNac
HCl 2M, 2 h	1200	690		1500			2000			232			3300			2020		
HCl 4M, 6 h	140	traces		52						31						380		
<i>Helix pomatia</i> , 18 h à 37°	560	109	111	460	0	0	1540	26,5	17,5	1440	88	89	2600	12	27	1020	101	110
Chitnase	28	32					15,6	10,3	43	43	43	43	6	11	11	54,5	54	

^aRésultats exprimés en $\mu\text{moles par g de produit traité}^b$ Abréviations G, glucose, HexN, hexosamines totales (D glucosamine et N-acétyl D-glucosamine) exprimées en glucosamine, GNac, N-acetyl-D-glucosamine

Par addition de 4 vol de méthanol à la fraction F_{cs} on obtient au bout de 24 h à 4° un précipité brunâtre Après dialyse et lyophilisation, on recueille 200 mg de produit F_{cs} . Ce produit, homogène à l'électrophorèse, est de nature glycopeptidique La partie glucidique renferme du D-glucose et de la D-glucosamine dans un rapport molaire de 100/1 Un échantillon de 120 mg du produit F_{cs} est méthylé Après hydrolyse par le gaz chlorhydrique dans le méthanol, la chromatographie sur papier permet d'identifier du 2,3,4,6-tétra-O-méthyl-D-glucose, du 2,4,6-tri-O-méthyl-D-glucose et du 2,4-di-O-méthyl-D-glucose Le spectre IR du produit F_{cs} est superposable à celui de la laminarine; la bande à 890 cm⁻¹ est en faveur de liaisons β -D entre les oses

La fraction soluble brune F_1 est additionnée de 4 vol de méthanol et maintenue pendant 24 h à 4°. Il se forme un précipité brun qui est lyophilisé Ce précipité (200 mg) est filtré sur une colonne (580 ml) de Sephadex G-25 et élut par l'eau Le produit F_1 exclu du gel (150 mg après lyophilisation) est homogène à l'électrophorèse et de nature glycopeptidique À côté de la partie peptidique (Tableau II), la partie glucidique contient de faibles quantités de D-glucosamine (Tableau IV), du D-glucose, galactose et mannose dans un rapport molaire de 1,0,3,0,2 Le spectre IR du composé présente une très nette analogie avec celui de la laminarine, la bande à 890 cm⁻¹ étant en faveur d'une configuration β -D-pour les liaisons interosidiques

TABLEAU IV

QUANTITÉS DE D-GLUCOSE ET D-GLUCOSAMINE LIBÉRÉES DES PRODUITS F_1 , F_2 ET F_4 APRÈS HYDROLYSE PAR L'ACIDE CHLORHYDRIQUE ET LE SUC DIGESTIF D'*Helix pomatia*^a

Conditions d'hydrolyse	<i>Produit F₁</i>		<i>Produit F₂</i>		<i>Produit F₄</i>	
	G ^b	GN	G	GN	G	GN
HCl, 2M, 2 h	2750		4200		510	
HCl, 4M, 2 h		5,5		56		119
<i>Helix pomatia</i> , 24 h, 37°	2050	0			630	10,5

^aRésultats exprimés en μ moles par g de produit traité ^bAbréviations G, glucose, GN, glucosamine

Le produit F_1 est méthyle et, après hydrolyse, la chromatographie permet d'identifier du 2,3,4,6-tétra-O-méthyl-D-glucose, du 2,4,6-tri-O-méthyl-D-glucose et du 2,4-di-O-méthyl-D-glucose, résultats qui sont en faveur de chaînes glucannées avec des liaisons de type (1→3) et (1→6). Les dérivés méthylés du galactose et du mannose n'ont pu être caractérisés d'une manière certaine en raison de la faible teneur de ces hexoses dans le produit

La solution acide contenant la fraction F_2 est neutralisée par du carbonate de baryum Le surnageant lyophilisé contient à l'état libre des traces de galactose et de mannose, de la D-glucosamine et en majeure partie du D-glucose (Tableau IV). On y trouve également des amino-acides libres, dont une forte teneur en méthionine, et des oligopeptides dont la composition en amino-acides après hydrolyse est rapportée dans le Tableau II

Comme la fraction F_1 , la fraction F_3 est additionnée de 4 vol de méthanol, puis maintenue pendant 24 h à 4° Il se forme un précipité brun Après dialyse, on recueille le produit F_3 qui, par hydrolyse à l'acide chlorhydrique, libère du D-glucose et des traces infimes de D-glucosamine La trop faible quantité obtenue (10 mg) ne nous a pas permis de poursuivre plus avant son investigation, il peut s'agir d'un D-glycanne identique à celui du produit F_1

La fraction F_4 est constituée par un résidu noir Après lavage à l'eau distillée et lyophilisation, on recueille le produit F_4 Ce produit contient des amino-acides (Tableau II), de la D-glucosamine et du D-glucose (Tableau IV) Après hydrolyse avec l'acide chlorhydrique 6M pendant 12 h, il subsiste toujours un résidu noir, après lavage à l'eau distillée, celui-ci libère encore par hydrolyse chlorhydrique des traces d'amino-acides et de D-glucosamine

Action des α - et β -D-glucosidases — Les traitements chimiques ont conduit à l'obtention de produits riches en D-glucose Pour les produits F_1 et F_{cs} , le spectre plaide en faveur d'une configuration β -D du glucanne Afin de nous assurer de l'existence de ce type de configuration, nous avons soumis les produits à l'action des α - et β -D-glucosidases, dont l'action devrait se trouver facilitée par suite d'une dégradation partielle des polymères glucidiques au cours des traitements Les résultats rapportés dans le Tableau V révèlent une très nette action de la β -D-glucosidase par rapport à l' α -D-glucosidase, ce qui établit l'existence d'une configuration β -D pour le glucanne de la paroi Il faut noter cependant une action de l' α -D-glucosidase sur les produits F_1 et F_b qui contiennent les trois hexoses, D-glucose, galactose et mannose

TABLEAU V

ACTION DES α - ET β -D-GLUCOSIDASES PENDANT 15 H A 37° SUR LES PAROIS ET DIVERSES FRACTIONS ISOLEES DES PAROIS^a

Fractions	α -D-Glucosidase	β -D-Glucosidase
Parois	0	17,5
F_1	100	200
F_4	0	18,5
F_a	0	460
F_b	152	236
F_c	0	260
F_{cs}	5,5	69
F_{cr}	0	7,4

^aLes résultats sont exprimés en μ moles de D-glucose libéré par g de produit traité Le D-glucose est dose par la glucose-oxydase

DISCUSSION

Differentes études purement micromorphologiques ont déjà été réalisées sur le champignon *Dendryphella vinoso*^{14,15} Le présent travail a pour but d'associer des données chimiques aux examens ultrastructuraux afin de connaître par une première investigation la nature chimique d'éléments structures de la paroi

La teneur peptidique calculée d'après la concentration des amino-acides libérés par hydrolyse chlorhydrique avoisine 4 % des parois. Elle est composée des amino-acides couramment trouvés dans les parois des champignons^{16 17} avec toutefois une richesse marquée en amino-acides basiques. Le rôle de cette partie peptidique n'est pas élucidé, elle peut intervenir comme lien entre les polysaccharides et comme constituant enzymatique¹⁸.

La partie glucidique renferme les quatre composés suivants : D-glucosamine, D-glucose, galactose et mannose. La D-glucosamine est incorporée sous forme de N-acetyl-D-glucosamine dans la chitine, comme le démontrent les hydrolyses enzymatiques avec le suc d'*Helix pomatia* et avec la chitinase effectuées sur les parois et sur les produits F_c et F_{cr}. En se basant sur les valeurs de cette hexosamine, la concentration de chitine dans les parois est de l'ordre de 2,5 %, ce qui est assez faible par rapport aux taux trouvés dans d'autres parois de champignons.

Nous avons pu identifier dans les deux produits F_{cs} et F₁ un polymère à dominance de D-glucose. Ce D-glucanne possède une configuration β comme le révèlent le spectre IR et l'action des glucosidases, la méthylation des oses montre que les liaisons osidiques sont du type (1→3) et (1→6). Ces deux polymères, chitine et D-glucanne, constituent la charpente fondamentale de la paroi. Ce sont vraisemblablement eux qui confèrent un aspect strié à cette charpente¹⁹.

Les autres sucres sont associés sous forme d'hétéropolysaccharides. Nous avons en effet séparé deux produits F_a et F_b de nature glycopeptidique dont la partie glucidique est formée de galactose et de D-glucose pour le premier, et essentiellement de D-glucose, de galactose et de mannose pour le second. L'extraction de ces hétéropolysaccharides des parois correspond, au point de vue morphologique, à l'élimination d'une gaine fibrillaire mucilagineuse, ce qui est observable lorsque les examens au microscope électronique sont menés conjointement avec les traitements et analyses chimiques¹².

Les images au microscope électronique montrent également que le pigment noir, probablement de nature mélanique, est localisé dans la partie extérieure de la paroi¹², ce pigment est fortement lié à la chitine, l'ensemble formant un complexe difficilement dissociable (résidu noir F₄ et produit F_{cr}). Une telle association d'un pigment de nature mélanique et de chitine est un fait déjà rapporté chez les champignons^{13 20}.

Des polymères à base de galactosamine ou d'acide glucuronique n'ont pas été trouvés dans les parois de ce champignon, en effet les recherches de cette hexosamine et de l'acide uronique se sont révélées négatives à différents stades des traitements des parois.

Les faibles quantités de certains produits, la présence constante de peptides et de pigment non dissociables sans une dégradation marquée de la partie glucidique n'ont pas permis une étude complète. Il ressort cependant de nos résultats que les parois de *Dendryphiella vinoso* (Dematiées) ont une structure du type chitine-glycanne, groupe 5 selon la classification de Bartnicki-Garcia¹. En ce qui concerne la partie glycanne, nos résultats tendent à confirmer l'existence prédominante de β -D-(1→3) et

(1→6)-glucanne dans les parois de Deutéromycètes Les parois de *D. vinosa* se différencient des parois d'autres Deutéromycètes par une teneur plus élevée en galactose et en mannose et par l'absence de polymère à base de galactosamine et d'acides uroniques

REMERCIEMENTS

Nous remercions Monsieur le Professeur M. Pierfitte pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail, Mademoiselle F. Hasser pour sa collaboration technique et Monsieur M. Glardon pour son aide dans la préparation des parois

RÉFÉRENCES

- 1 S BARTNICKI-GARCIA, *Ann Rev Microbiol*, 22 (1968) 87
- 2 P R MAHADEVAN ET J TATUMEL, *J Bacteriol*, 90 (1965) 1073
- 3 M T ESQUERRE-TUGAYE ET A. TOUZE, *Phytochem*, 10 (1971) 821
- 4 M MONSIGNY, *Bull Soc Chim Biol*, 50 (1968) 2188
- 5 J M. GHUYSEN, D J TIPPER ET J L STROMINGER, *Methods Enzymol*, 8 (1966) 685
- 6 G SPICK, G STRECKER ET J MONTREUIL, *Bull Soc Chim Biol*, 51 (1969) 1287
- 7 C M WILSON, *Anal Chem*, 31 (1959) 1199
- 8 P. A. SANDFORD ET H. E. CONRAD, *Biochemistry*, 5 (1966) 1508
- 9 F PETEK, *Bull Soc Chim Fr*, (1965) 263
- 10 W E TREVELYAN, D P PROCTOR ET J S HARRISON, *Nature*, 166 (1950) 444
- 11 C MICHALEC ET Z KOLMAN, *J. Chromatogr*, 22 (1966) 385
- 12 O REISINGER ET R. BONALY, *Compt Rend*, 274 (1972) 50
- 13 S BARTNICKI-GARCIA, *Arch Biochem Biophys*, 108 (1964) 125
- 14 O REISINGER, *Rev Mycol*, 39 (1969) 109
- 15 O REISINGER ET F MANGENOT, *Compt Rend*, 269 (1969) 1843
- 16 M S MANOCHA ET J ROSS COLVIN, *J. Bacteriol*, 94 (1967) 202
- 17 S BARTNICKI-GARCIA, *J Gen Microbiol*, 42 (1966) 57.
- 18 R L METZENBERG, *Arch Biochem Biophys*, 100 (1963) 503
- 19 O REISINGER, These de Doctorat es Sciences, Nancy (1972)
- 20 A T BULL, *J Gen Microbiol*, 63 (1970) 75