

Levures du genre *Saccharomyces* isolées de macérations de cerises

Autor(en): **Schweizer, Charles / Schaffer, F.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **12 (1921)**

Heft 5-6

PDF erstellt am: **09.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-984245>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Levures du genre *Saccharomyces* isolées de macérations de cerises.

Par CHARLES SCHWEIZER.

(Travail exécuté au laboratoire du Service fédéral de l'Hygiène publique,
Chef: F. Schaffer.)

Au printemps, de véritables forêts de cerisiers couvrent de leurs voiles blancs des vastes surfaces, chez nous en Suisse surtout autour du Rigi et dans le Jura bâlois, nous démontrant l'importance que la culture des cerises a acquise dans ces contrées. De pair avec cette culture marche une industrie agricole, également très importante, produisant une eau-de-vie des plus recherchées, nommée l'eau-de-vie de cerises, connue généralement sous le nom de kirsch. Pour obtenir ce produit on entasse ordinairement les cerises dans des tonneaux et les abandonne à la fermentation spontanée; après la fermentation on procède à la distillation à feu nu ou à la vapeur indirecte. L'emploi de cultures pures pour la mise en fermentation de la macération de cerises est encore très peu en usage; on se sert de préférence de levures de vin. Je me suis donc proposé de *rechercher dans les macérations de cerises mêmes des levures qui conviendront particulièrement à la fabrication du kirsch* à l'aide de cultures pures. Ces macérations ont d'une part été préparées au laboratoire en petit et d'autre part en grand dans la distillerie X. Fischlin fils, à Arth (Rigi). Le prélèvement des échantillons de ces macérations a été fait par le Dr H. Fischlin. Il va sans dire que toutes les précautions ont été prises pour éviter une pénétration de germes étrangers.

Sitôt reçus au laboratoire, les échantillons ont été soumis au **trriage** d'après la méthode que Koch a instituée en 1883 pour le triage des bactéries et que Hansen a appliqué également aux levures. On sait que ce procédé consiste à délayer un peu du milieu naturel à étudier dans un milieu gélatiné ou gélosé, préalablement fondu; on agite bien, de manière à répartir uniformément les germes et on fait ensuite couler dans une plaque de Petri stérilisée. Les milieux fondus se solidifient en refroidissant et les germes qui y sont disséminés se trouvent pris et se développent en colonies. Par l'examen macroscopique de l'aspect et de la couleur des colonies, joint à l'observation microscopique de la forme des cellules, on peut facilement s'assurer de la pureté des colonies ainsi obtenues.

Pour la **détermination** des espèces j'ai fixé pour chaque levure isolée les données suivantes:

1° Examen de *l'aspect de la végétation* dans du moût de bière à 10° Balling (correspondant à une densité de 1,040 = 10,3 % d'extrait), de la *forme et des dimensions des cellules* qui se sont développées pendant deux jours et à 20° dans ce même milieu. Il me semble assez important d'arriver ici à une unification de la méthode, aussi bien en ce qui concerne la nature du milieu employé que sa concentration. Certains auteurs ont employé à

cet examen du moût de vin ou de cidre et très souvent aussi le milieu dont ils avaient isolé la levure; mais, il me semble que pour la détermination des espèces il sera recommandable d'employer toujours le même milieu et de la même concentration. Le moût de bière se trouve un peu partout où il y a des brasseries et dans les autres contrées on peut facilement le préparer au laboratoire avec du malt touraillé; dans les brasseries on demandera de préférence du premier moût non houblonné que l'on diluera ensuite au laboratoire à 10° Balling. Dans mes recherches, j'ai employé du moût servant à la fabrication de bière brune.

2° Examen de la forme et de l'aspect d'une *colonie géante* cultivée pendant trois semaines à 20° sur du moût de bière à 10° Balling, solidifié par une adjonction de 12 % de gélatine.

3° Examen d'une culture jeune en *plaque* ainsi que de cultures en *strie* et en *piqûre* sur le même milieu.

4° Examen de la *sporulation* sur blocs de plâtre. Dans les laboratoires de M. le professeur R. Chodat à Genève on se sert de plaques de porcelaine déglacée à la place des blocs de plâtre et ces plaques sont de beaucoup plus pratiques. Dans une large éprouvette, étranglée vers le bas, comme les éprouvettes servant à la culture sur tranches de pommes de terre, repose une plaque en porcelaine déglacée dont une des extrémités est plus étroite et qui seule plonge dans l'eau. On stérilise le tout et on strie ensuite la levure à la surface de la plaque. Cette méthode a l'avantage de rendre le danger d'infection beaucoup moindre; mais on ne peut pas se procurer ces plaques partout. C'est pour cette raison que, malgré les avantages incontestables de celles-ci, je me suis servi de blocs préparés avec des quantités égales de plâtre et d'eau, que j'ai placé ensuite dans des vases de Petri stériles, après les avoir stérilisés et nettoyés dans de l'eau bouillante; on ajoute un peu d'eau stérile pour maintenir une humidité suffisante. J'ai observé à différentes températures le temps nécessaire aux différentes espèces jusqu'à l'apparition des premiers rudiments de sporulation, ceci en raison de l'importance attachée par Hansen à la détermination des températures maxima, optima et minima ainsi que le temps nécessaire à la formation des ascospores à diverses températures intermédiaires. Il me semble pourtant suffisant de choisir une seule température conventionnelle et de déterminer exactement le temps que les levures mettent à sporuler à cette température. On se servira de préférence de la température de 25° C., l'optimum de la plupart des levures se trouvant dans le voisinage de cette température. Pour certaines levures le mode de germination des ascospores a également quelque importance; cette germination peut être observée dans une préparation microscopique ordinaire, en remplaçant l'eau par du moût de bière. J'ai chaque fois noté le nombre des spores, ainsi que leur aspect et leurs dimensions.

5° Examen de la *fermentescibilité* de différents sucres; pour le genre *Saccharomyces* des essais avec la dextrose, la maltose, la saccharose et la lactose sont suffisants.

6° Examen de la *fermentation* d'un moût de bière à 10° Balling également avec détermination de la quantité d'alcool et du volume de levure formés. Cette dernière détermination peut se faire facilement par centrifugation dans des précipitomètres gradués, comme je l'ai pu démontrer récemment¹⁾; elle ne donne d'ailleurs que des résultats comparatifs. Dans le cas spécial qui m'occupe ici, j'ai en même temps fait une fermentation en moût de cerises. Cette dernière ne m'a pas servie à l'identification des espèces mais plutôt à obtenir quelques renseignements préliminaires sur leur valeur pour la fermentation industrielle des cerises. Sur la proposition de M. le Dr Th. v. Fellenberg nous avons en même temps déterminé l'acidité volatile produite dans les fermentations des moûts de cerises; elle ne montrait aucune proportionalité avec l'alcool formé.

* * *

Nous passons maintenant à l'énumération des représentants du genre *Saccharomyces* que nous avons réussi à isoler des macérations de cerises et qui seuls peuvent jouer un rôle dans la fermentation par cultures pures. Nous savons que ce groupe avait été créé par Meyen et nous y rangeons aujourd'hui toutes les levures capables de donner des ascospores à une seule membrane et germant par bourgeonnement. Comme le genre *Saccharomyces* comprend toutes les levures de distillerie, de fabriques de levure, de brasserie, de cidrerie et vinification et offre par conséquent un nombre considérable d'espèces, Hansen l'a divisé en six sous-groupes, classant les espèces d'après leur caractère de fermentation avec la dextrose, la maltose, la saccharose et la lactose.

Premier sous-groupe.

Ici se rangent les levures faisant fermenter la dextrose, la saccharose et la maltose, mais n'agissant pas sur la lactose. Il me semble que tout d'abord nous pouvons encore distinguer dans ce sous-groupe un type qui se rapproche du *Saccharomyces cerevisiæ* et un autre qui a les caractères du *Saccharomyces Carlsbergensis*; en outre il reste encore un grand nombre de représentants de ce sous-groupe qui ne se rapprochent ni de l'un ni de l'autre de ces deux types importants.

Type *cerevisiæ*.

Le *Saccharomyces cerevisiæ* Hansen se distingue du *Saccharomyces Carlsbergensis* par ses colonies géantes en forme de rosette à bord fortement ondulé (Fig. 1) ainsi que par sa faculté de former des ascospores beaucoup plus facilement et abondamment. J'ai réussi à isoler deux levures de ce type qui ne sont pas identiques avec le *Saccharomyces cerevisiæ* Hansen de la collection du Service suisse de l'Hygiène publique provenant du laboratoire de Carlsberg. Par analogie, je les ai désigné suivant leur origine de macérations de cerises comme *Saccharomyces cerasi* I et II.

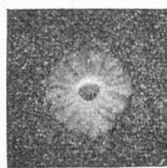
¹⁾ Trav. de Chim. alim. et d'Hyg., 11, 193 (1920).

Saccharomyces cerasi I nov. spec.

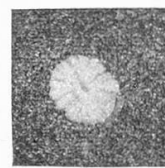
Cette espèce a été isolée d'une macération de cerises, provenant des montagnes autour de Arth dans le canton de Schwyz, qui avait été fermentée dans la maison X. Fischlin fils S. A., à Arth.



1



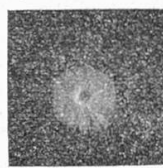
2



3



4



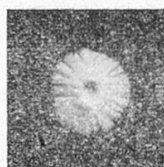
5



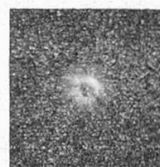
6



7



8



9

- | | |
|------------------------------------|--|
| 1. <i>S. cerevisiae</i> Hansen | 5. <i>S. Carlsbergensis</i> var. <i>cerasi</i> Schweizer |
| 2. <i>S. cerasi</i> I Schweizer | 6. <i>S. Chodati</i> Schweizer |
| 3. <i>S. cerasi</i> II Schweizer | 7. <i>S. Guilliermondii</i> Schweizer |
| 4. <i>S. Carlsbergensis</i> Hansen | 8. <i>S. Zopfii</i> Artari |
| | 9. <i>S. Fischlinii</i> Schweizer |

Culture dans du moût de bière à 10° Balling: Après 24 heures il n'y avait pas encore d'écume; le liquide est peu troublé et on observe un dépôt assez bien sédimenté. Après deux jours une forte écume s'était produite; sous le microscope les cellules ovales prédominaient. J'ai toujours pris les mesures d'une centaine de cellules, afin d'avoir les dimensions maxima, moyenne et minima d'après le calcul de probabilité. J'obtins ainsi les chiffres suivants:

Longueur: 4,5 — 6,5 — 7,5 μ

Largeur: 3,0 — 4,5 — 5,5 μ

Le chiffre en gros caractère indique la moyenne, autrement dit, le sommet de la courbe de probabilité; j'indiquerai dans la suite les mesures toujours de cette manière. On trouve exceptionnellement des formes en boudin jusqu'à 10μ de longueur. Après quatre jours la fermentation est terminée, le liquide est devenu limpide et le dépôt, qui n'est pas collant, s'est très nettement sédimenté. Un anneau de levure très fin n'apparaît à la surface du liquide qu'après une huitaine de jours.

Colonie géante: Sur du moût de bière gélatiné se développent après trois semaines des colonies en rosette du type *cerevisiæ*, c'est-à-dire à rayons très prononcés et à bord externe fortement ondulé. Au centre se trouve une concavité entourée d'un anneau et on observe de fines stries circulaires (Fig. 2). La couleur est grisâtre.

Culture en plaque: Les jeunes colonies ont déjà une concavité au centre et les bords sont fortement ondulés; la structure intérieure est uniformément épaisse.

Culture en strie: Après trois jours à la température de 20° , les bords sont fortement ondulés.

Culture en piqure: Après le même laps de temps, on observe un développement tout le long de la piqure ainsi que beaucoup de bulles gazeuses dans le cylindre de gélatine. Après trois semaines la gélatine est fortement troublée, mais une liquéfaction ne se produit que tardivement.

Sporulation: Cette levure sporule très facilement sur blocs de plâtre. Dans chaque asque se forment deux ascospores rondes qui ont un diamètre d'environ 3μ . L'action de la température sur la sporulation est la suivante.

Les premiers rudiments apparaissent:

à la température de 38° au bout de 60 heures

»	33°	»	48	»
»	28°	»	20	»
»	25°	»	12	»
»	22°	»	32	»
»	20°	»	32	»
»	15°	»	60	»
»	6° point au bout d'un mois.			

La germination des ascospores se fait par gonflement et le bourgeonnement des cellules végétatives a lieu de préférence aux pôles.

Fermentation: Avec le moût de bière à 10° Balling on obtient au bout de quatre jours 2,4 % en volume d'alcool, tandis que ce chiffre est de 8,2 % avec un moût de cerises non dilué. Un centimètre-cube de moût de bière contient après la fermentation $13,5 \text{ mm}^3$ et le moût de cerises 12 mm^3 de volume de levure, après une centrifugation à 2000 tours pendant 5 minutes. L'acidité volatile produite dans le moût de cerises est de 3,5 g par litre.

Saccharomyces cerasi II nov. spec.

Une espèce voisine de la précédente a été isolée d'un échantillon prélevé, par le Dr H. Fischlin, d'un tonneau de 600 litres de macération de cerises venant d'arriver à l'usine.

Culture dans du moût de bière à 10° Balling: Après 24 heures la fermentation commence à peine; on observe de l'écume à la surface et des bulles gazeuses montent dans le liquide peu troublé. Il s'est formé un fort dépôt. Après deux jours la surface est couverte d'une forte écume. Ici aussi, les cellules ovales prédominent et leurs dimensions sont les suivantes:

Longueur: 5,5 — 7 — 8 μ

Largeur: 3,0 — 4 — 5,5 μ

Après quatre jours la fermentation est terminée, le liquide se clarifie tout-à-fait et le dépôt un peu collant se sédimente nettement. Un anneau très fin et une peau mince apparaissent à la surface du liquide après une huitaine de jours.

Colonie géante: Sur moût de bière gélatiné on obtient également des colonies en forme de rosette du type *cerevisiæ*. Une concavité, au centre, est entourée d'un anneau peu élevé. Les rayons de la rosette sont un peu moins prononcés que chez le *Saccharomyces cerevisiæ*; le bord externe est également fortement ondulé et on distingue aussi de fines stries circulaires (Fig. 3).

Culture en plaque: Les jeunes colonies ont une concavité au centre; les bords sont également fortement ondulés et la structure intérieure est uniformément épaisse.

Culture en strie: Les stries ont après trois jours un bord fortement ondulé et une rainure longitudinale au milieu. Après trois semaines le bord est plus finement plissé et la strie offre un aspect brillant.

Culture en piqure: Après trois jours à la température de 20° on constate un développement tout le long de la piqure et beaucoup de bulles gazeuses dans le cylindre de gélatine. Après trois semaines la gélatine est uniformément troublée; une liquéfaction n'a lieu qu'après quelques mois.

Sporulation: La sporulation se fait moins facilement que chez le *Saccharomyces cerasi* I. En ce qui concerne le nombre de spores formées par asque, celui de deux prédomine. Elles ont une forme ronde et également un diamètre de 3 μ . L'apparition des premiers rudiments de sporulation se fait

à la température de 38° au bout de 25 jours

»	33°	»	17	»
»	28°	»	4	»
»	25°	»	3	»
»	22°	»	6	»
»	20°	»	6	»
»	15°	»	15	»
»	6°	»	30	»

L'émission des spores a lieu par dissolution de la membrane. Le bourgeonnement des cellules végétatives se fait de préférence aux pôles de ces cellules.

Fermentation: Dans le moût de bière à 10° Balling, la fermentation est terminée au bout de quatre jours et il s'est formé 3 % d'alcool en volume, tandis qu'on en obtient avec un suc de cerises 8,4 %. Les deux liquides contiennent après la fermentation 9,75 mm³ de levure par centimètre-cube. L'acidité volatile du moût de cerises fermenté est de 2,5 g par litre.

Type Carlsbergensis.

Le *Saccharomyces Carlsbergensis* de la collection du Service Suisse de l'Hygiène Publique, provenant du laboratoire de Carlsberg, est un type bien différent du *Saccharomyces cerevisiæ*. La sporulation ne se fait que très difficilement et que dans les cultures âgées; d'autre part les colonies géantes forment des rosettes à bord très peu ondulé (Fig. 4). Je n'ai retrouvé qu'un seul représentant de ce type et qui se rapproche assez du *Saccharomyces Carlsbergensis*. Le *Saccharomyces cerasi* II décrit précédemment pourrait être considéré comme intermédiaire entre le *Saccharomyces cerasi* I et la levure que je vais décrire ci-après.

Saccharomyces Carlsbergensis var. *cerasi*.

Cette levure a été isolée d'un échantillon d'écume d'une macération de cerises de la maison X. Fischlin fils S. A., à Arth, tandis que le *Saccharomyces Carlsbergensis* de Hansen provient des brasseries du vieux Carlsberg à Copenhague.

Culture dans moût de bière à 10° Balling: Après 24 heures on observe de l'écume à la surface et des bulles gazeuses montent dans le liquide peu troublé; mais, la fermentation est encore peu intense. Un dépôt très nettement sédimenté s'est formé. Le deuxième jour, la surface est entièrement couverte d'écume. Le microscope nous montre à ce moment des cellules ellipsoïdes ou en forme d'œuf ou de poire et quelques rares cellules pointues. Les dimensions sont les suivantes:

Longueur: 5,5 — 7,0 — 8,0 μ

Largeur: 4,0 — 5,5 — 6,5 μ

tandis que le *Saccharomyces Carlsbergensis* Hansen mesure:

Longueur: 4,5 — 6,0 — 8,0 μ

Largeur: 4,0 — 5,5 — 7,0 μ

Après quatre jours la fermentation est terminée et le liquide s'est complètement clarifié. Le dépôt, assez fort, est un peu pâteux. Un anneau très fin ne se forme qu'après huit jours.

Colonie géante: Sur du moût de bière gélatiné on obtient des colonies en forme de rosette. Elles ont au centre une concavité qui se trouve au milieu d'un anneau saillant. Celui-ci est entouré lui-même d'anneaux con-

centriques, qui sont cependant moins prononcés que chez le type *cerevisiæ*. Le bord externe de la colonie est très peu ondulé (Fig. 5).

Culture en plaque: Les jeunes colonies montrent une concavité au milieu et un bord irrégulièrement ondulé.

Culture en strie: Sur de la gélatine à moût de bière on obtient des stries à bords ondulés avec une rainure longitudinale au centre. Elles offrent un aspect brillant. On constate un ramolissement de la gélatine après trois semaines, mais pas de liquéfaction même après six mois.

Culture en piqûre: On obtient un développement tout le long de la piqûre et dans le cylindre de gélatine on observe beaucoup de bulles gazeuses. Après trois semaines, la gélatine est uniformément troublée; la liquéfaction complète ne se produit qu'au bout de trois mois.

Sporulation: La sporulation se fait aussi difficilement que chez le *Saccharomyces Carlsbergensis* Hansen; les ascospores ne se forment que rarement et en petit nombre.

Fermentation: La fermentation est assez intense et dans le moût de bière à 10° Balling elle se termine en quatre jours avec 3,0 % d'alcool en volume. Avec le moût de cerises non dilué on en obtient 7,8 %. Le volume de levure mesuré par centrifugation à 2000 tours pendant 5 minutes dans des précipitomètres gradués, est, dans les deux milieux, de 12 mm³ par centimètre-cube. Un litre de moût de cerises fermenté contient 3,0 g d'acide volatil.

Autres levures du premier sous-groupe.

J'ai enfin pu isolé une levure qui ne se rapproche ni du type *cerevisiæ*, ni de celui du *Saccharomyces Carlsbergensis*, et cela surtout en ce qui concerne la forme de la colonie géante. Elle fermente également la dextrose, la saccharose et la maltose, mais non la lactose.

Saccharomyces Chodati nov. spec.

Je dédie cette espèce à mon maître, Monsieur R. Chodat à Genève, en témoignage de mes vifs sentiments d'affection. Elle a été isolée de l'écume d'une macération de cerises de la distillerie X. Fischlin fils S. A. à Arth. Elle se rapproche sous certains points de vue un peu du *Saccharomyces Willianus*, mais n'est pas identique avec cette levure.

Culture dans du moût de bière à 10° Balling: Après 24 heures, la fermentation est déjà bien partie; le liquide est peu troublé, et il s'est formé un dépôt assez épais qui n'est pas très nettement sédimenté. Au bout de 48 heures on constate au microscope une prédominance de cellules ovales, dont les dimensions, mesurées sur une centaine de cellules, sont:

Longueur: 5,5 — 7,0 — 8,0 μ

Largeur: 4,0 — 5,5 — 6,0 μ

Après quatre jours déjà, une peau et un anneau assez épais se sont formés. Ils se détachent facilement en flocons pour tomber au fond du flacon.

Colonie géante: Sur du moût de bière à 10° Balling, rendu solide par une adjonction de 12 % de gélatine, se développent des colonies fortement plissées et à contour très irrégulier (Fig. 6). Elles sont enfoncées au centre et ce centre est entouré d'un rempart également très irrégulier; le bord est fortement ondulé. La couleur est d'un blanc grisâtre.

Culture en plaque: Les jeunes colonies sur du moût gélatiné ont une concavité au milieu et un bord fortement ondulé.

Culture en strie: Après une culture de trois jours sur de la gélatine inclinée, la strie est fortement plissée et ses bords sont finement ondulés. Le même aspect s'observe encore au bout de trois semaines. Cette levure ne donne aucune liquéfaction, même après six mois.

Culture en piqûre: A la température de 20°, cette levure se développe tout le long de la piqûre et une bulle gazeuse se forme près de la surface. Après trois semaines, de petites colonies se sont développées dans toute la gélatine, qui offre une surface très déchirée. La gélatine n'est pas non plus liquéfiée.

Sporulation: La sporulation se fait très facilement sur blocs de plâtre et les ascques contenant les spores au nombre de deux prédominent. Ces ascospores rondes ont un diamètre variant de 1,5 à 3 μ , mais celui de 3 μ prédomine. Les premiers rudiments d'une sporulation apparaissent:

	à la température de 38°	au bout de 84 heures	
»	33°	»	60 »
»	28°	»	20 »
»	25°	»	12 »
»	22°	»	60 »
»	20°	»	5 jours
»	15°	»	6 »
»	6°	point au bout d'un mois	

La germination des ascospores se fait par gonflement et le bourgeonnement des cellules végétatives formées se produit de préférence aux pôles de ces cellules.

Fermentation: Dans du moût de bière à 10° Balling, la fermentation est terminée au bout de quatre jours. Dans ce milieu, il se forme 2,0 % d'alcool en volume, tandis que le moût de cerises en forme 8,5 %. Le premier milieu contient après la fermentation un volume de 16,5 mm³ de levure dans 1 cm³; cette quantité n'est que de 7,5 mm³ dans le suc de cerises. Dans ce même liquide j'ai également déterminé l'acidité volatile, qui est de 3,4 g par litre.

Deuxième sous-groupe.

Le deuxième sous-groupe de Hansen renferme les levures fermentant la dextrose et la saccharose, mais non la maltose et la lactose. J'ai réussi à isoler trois espèces qui se rangent ici et dont deux semblent être nouvelles.

Saccharomyces Guilliermondii nov. spec.

Je me permets de dédier cette espèce à Monsieur A. Guilliermond à Lyon, l'auteur bien connu du livre « Les levures »; elle a été obtenue à partir d'une macération de cerises que j'avais préparée moi-même au laboratoire.

Culture dans du moût de bière à 10° Balling: Au bout de 24 heures il y a formation d'un dépôt un peu collant, sans que l'on observe de fermentation. Après deux jours apparaissent quelques îlots d'écume. En ce moment les cellules ovales prédominent, mais on en trouve aussi des allongées et des rondes. Les dimensions, mesurées sur une centaine de cellules, varient dans les chiffres suivants:

Longueur: 4,5 — 7,0 — 8,5 μ

Largeur: 3,0 — 4,5 — 7,0 μ

On trouve également des formes en boudin jusqu'à 14 μ de longueur. Sans que la fermentation ne devienne jamais très intense, on observera après un mois la formation d'un anneau très faible, tandis que le liquide est parfaitement limpide.

Colonie géante: Sur du moût de bière gélatiné on obtient des colonies ressemblant un peu à celles du *Saccharomyces cerevisiæ*. Le centre est pourtant peu enfoncé et on ne constate guère de stries circulaires. Le bord est fortement ondulé et les colonies ont une couleur grisâtre (Fig. 7).

Culture en plaque: Les jeunes colonies sur moût de bière sont plates et ont un bord un peu ondulé.

Culture en strie: Le bord de la strie est un peu ondulé et au milieu on observe une rainure longitudinale. La liquéfaction de la gélatine ne se fait qu'au bout de quelques mois.

Culture en piqure: Un développement de levure se constate sur toute la longueur de la piqure et près de la surface on observe une bulle gazeuse. Il y a une fermentation très intense; la gélatine se déchire fortement. La liquéfaction se fait également après quelques mois.

Sporulation: La sporulation se fait assez bien sur blocs de plâtre. Les asques contiennent quatre spores rondes, d'un diamètre de 2 μ environ, disposées en tétrades. La formation des premiers rudiments se fait:

à la température de 38° point au bout d'un mois

»	33°	»	24	»
»	28°	»	12	»
»	25°	»	24	»
»	22°	»	32	»
»	20°	»	60	»
»	15°	»	15 jours	

La germination des ascospores a lieu par gonflement. Le bourgeonnement se fait en un point quelconque de la surface des cellules végétatives.

Fermentation: La fermentation n'est pas très intense et dans le moût de bière à 10° Balling il se forme 1,5% d'alcool en volume, tandis qu'on atteint dans du suc de cerises 7%. Le volume de levure formé par centimètre-cube est de 13,5 mm³ dans le premier milieu et de 10,2 mm³ dans le second. Un litre de moût de cerises fermenté possède une acidité volatile de 1,25 g par litre.

Saccharomyces Zopfi Artari.

Cette levure avait été isolée par Artari d'un jus sucré d'une fabrique de sucre de Saxe et plus tard elle a été retrouvée par Guyot¹⁾ dans la fermentation de gentiane. J'ai également pu constater sa présence dans un échantillon, prélevé par le Dr H. Fischlin à l'arrivée à son usine, d'un fût de 600 litres de cerises du Fricktal fermentées.

Culture dans du moût de bière à 10° Balling: Après 24 heures le liquide est troublé sans que la fermentation ait bien commencé et un dépôt assez fort et pas collant s'est formé. La fermentation ne devient jamais très intense et un anneau se forme après quatre jours. D'après Guyot, il n'y a jamais formation de voile. Pour les cellules âgées de deux jours, Artari avait trouvé un diamètre de 3 à 6 μ , exceptionnellement 8 μ . A côté des cellules rondes on trouve également des formes ovales, mais jamais de bou-dins. Une mesure des dimensions sur une centaine de cellules m'a donné les chiffres suivants:

Longueur: 4,0 — 7,0 — 8,0 μ
 Largeur: 3,5 — 5,5 — 7,0 μ

Colonie géante: Les colonies, en forme de rosettes, se rapprochent du type cerevisiæ. La concavité du centre est entourée d'un anneau peu élevé; le bord externe est fortement ondulé et on observe de fines stries circulaires (Fig 8).

Culture en plaque: Les jeunes colonies sur du moût de bière gélatiné ont une forme convexe et un bord irrégulièrement ondulé; elles ont un aspect grisâtre et brillant.

Culture en strie: Le bord de la strie est un peu ondulé et devient plus tard finement plissé. On observe un ramollissement de la gélatine, puis liquéfaction complète. Guyot avait obtenu cette liquéfaction au bout d'un mois et demi.

Culture en piqûre: Cette levure se développe également tout le long de la piqûre et beaucoup de bulles gazeuses se forment dans la couche de gélatine. Après trois semaines, celle-ci est uniformément troublée et on constate également une liquéfaction tardive.

Sporulation: La sporulation de la levure d'Artari s'effectue facilement aussi bien sur les milieux liquides que sur les milieux solides. Sur blocs de plâtre je n'ai pas obtenu une sporulation très riche. Le nombre des spores peut varier de 1 à 4, mais celui de 2 prédomine. Elles ont une forme sphérique et un diamètre de 1,5—3 μ . D'après Artari la sporulation se fait à

¹⁾ Le *Gentiana lutea* L. et sa fermentation. Thèse Genève 1917.

la température de 29—30° au bout de 21 heures. D'après Guyot, l'émission des spores se fait par gélification de la membrane.

Fermentation: Quoique la formation d'écume ne fût pas très intense, il se produisit 8,2 % d'alcool en volume dans le suc de cerises et 2,4 % dans le moût de bière à 10° Balling. Le volume de levure formé par centimètre-cube était de 11 mm³ dans le premier cas et de 12 mm³ dans le second. Le moût de cerises fermenté atteignit une acidité volatile de 4,5 g par litre. Dans le moût de vin, Guyot avait obtenu 8,18 % d'alcool, c'est-à-dire un chiffre assez voisin de celui obtenu avec le suc de cerises. Guyot à de même constaté une forte production d'éthers.

Saccharomyces Fischlinii nov. spec.

Je dédie cette levure à Monsieur H. Fischlin pour lui témoigner ma reconnaissance pour sa précieuse collaboration. Cette espèce se trouva après deux mois dans une fermentation de cerises de la Gerbiweid près Hertenstein.

Culture dans du moût de bière à 10° Balling: La fermentation commence lentement, mais après 24 heures le liquide est déjà un peu troublé. Le dépôt est assez fort et collant; un anneau fin apparaît au bout de huit jours. Le lendemain plusieurs îlots d'écume se sont formés et sous le microscope on observe surtout des cellules ovales, mais aussi des formes en boudin et rondes. La mesure sur une centaine de cellules a donné les dimensions suivantes:

Longueur: 4,5 — 7,0 — 8,5 μ

Largeur: 3,0 — 4,5 — 3,5 μ

Colonie géante: Sur du moût de bière à 10° Balling, solidifié par une adjonction de 12 % de gélatine, on obtient des colonies du type Carlsbergensis; le bord est peu ondulé et finement plissé, mais la concavité du centre est plus large que chez la levure de Carlsberg (Fig. 9).

Culture en plaque: Les jeunes colonies ont une forme convexe et un bord finement strié.

Culture en strie: Les bords de la strie sont un peu ondulés et finement plissés. Cette levure liquéfie la gélatine au bout de quelques mois.

Culture en piqure: Il y a développement tout le long de la piqure et on observe une bulle gazeuse près de la surface. Dans toute la gélatine il se forme de petites colonies et plus tard la gélatine se liquéfie, mais seulement après quelques mois.

Sporulation: La sporulation se fait très facilement et extrêmement abondamment sur blocs de plâtre. Les asques contiennent de préférence un nombre de quatre spores, d'une forme sphérique et d'un diamètre variant entre 2 et 3 μ , disposées en tétrades. Les premiers rudiments apparaissent:

à la température de 38° point au bout d'un mois

» 33° au bout de 48 heures

» 28° » 32 »

» 25° » 12 »

à la température de 22°	au bout de 36 heures
»	20° » 32 »
»	15° » 60 »
»	6° » 15 jours

La germination des ascospores se fait par gonflement.

Fermentation: La fermentation est assez lente. Dans un moût de bière à 10° Balling il se forme 2,0% d'alcool en volume et 17,6 mm³ de levure par centimètre-cube. Dans du suc de cerises on a obtenu 8,0% d'alcool et 7,5 mm³ de levure par centimètre-cube; l'acidité volatile produite dans ce milieu a été de 1,25 g.

Cette levure se rapproche sous certains points de vue du *Saccharomyces coreanus* Saito, mais en est pourtant bien distincte.

* * *

Nous avons donc réussi à isoler de macérations de cerises sept espèces de levures appartenant au genre *Saccharomyces*. Dans un prochain mémoire nous espérons pouvoir donner quelques résultats sur l'application de ces levures pures à la fermentation des cerises dans le but de les employer à la fabrication du kirsch. Outre ces saccharomycètes nous avons également pu isoler un certain nombre d'autres levures et de bactéries; nous avons l'intention d'y revenir plus tard. La mycologie de la fermentation spontanée des cerises semble donc être assez variée.

Kurze Mitteilungen.

Zur Mikroskopie des Kakaopulvers.

Von Th. von FELLEBERG.

(Aus dem Laboratorium des Schweiz. Gesundheitsamtes. Vorstand: F. Schaffer.)

Von Herrn Dr. *Schuppli* wurde uns vor kurzem ein Kakaopulver aus dem zürcherischen kantonalen Laboratorium zugestellt, in welchem der Absender Steinzellen gefunden hatte, welche nicht von Kakaoschalen herrühren konnten. Sie sind im Durchmesser ca. 3—6 mal grösser, als die bekannten hufeisenförmigen verdickten Zellen, welche für Kakaoschalen charakteristisch sind. Sie weisen meist eine dicke Wandung und im Innern langgestreckte Tüpfel auf. Gelegentlich gewahrt man keine verdickte Wand; dann erstrecken sich die Tüpfel bis an die Peripherie. (Vergl. die Abbildungen.) In ihrer ganzen Form erinnern diese Steinzellen, wie Herr Prof. *Eder* Herrn *Schuppli* auf sein Befragen mitteilte, ganz an die Steinzellen der Walnusschalen. Eine Verfälschung mit Walnusschalen glaubte *Schuppli* aber von der Hand weisen zu müssen, da er die fraglichen Zellen in vielen Kakaopulvern in grösserer oder geringerer Menge fand, besonders in schalenreichen Sorten.