

**Zeitschrift:** Bulletin de la Société botanique de Genève  
**Herausgeber:** Société botanique de Genève  
**Band:** 21 (1929-1930)  
**Heft:** 1

**Artikel:** Recherches expérimentales sur les gonidies des lichens appartenant aux genres Parmelia et Cladonia  
**Autor:** Jaag, Otto  
**Kapitel:** Première partie  
**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-1099557>

### **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>**

# Recherches expérimentales sur les gonidies des lichens appartenant aux genres *Parmelia* et *Cladonia*

par

M. Otto JAAG

---

## PREMIÈRE PARTIE

---

### § 1. INTRODUCTION ET HISTORIQUE

« Darin eben liegt die Bedeutung der Gonidien für die Systematik; die Berücksichtigung, die sie als vermeintliche Organe verdienen, verdienen sie auch als Nährpflanzen. »

*Schwendener, Die Algentypen der Flechtengonidien.*

Nombreux sont les auteurs qui se sont déjà occupés des gonidies en s'efforçant d'élucider le mystère qui entoure le problème de la symbiose lichénique. Moins nombreux sont ceux qui ont étudié le problème des gonidies de plus près, en les cultivant sur des milieux nutritifs artificiels espérant, avec ces expériences, résoudre certains problèmes. Mais très peu nombreux sont les auteurs qui ont abordé ces questions avec des méthodes précises, méthodes qui garantissent, d'une part, la provenance des cellules vertes de la couche gonidienne du thalle des lichens et, d'autre part, la pureté absolue des cultures, ainsi que leur origine à partir de cellules uniques.

A partir du moment où l'on a commencé à cultiver les gonidies en cultures pures, le problème de la spécificité est devenu un des plus captivants. Depuis les découvertes de SCHWENDENER (28, 29, 30) jusqu'à nos jours, cette notion a subi des modifications considérables. Grâce à la perfection des méthodes de travail, on s'est aperçu de plus en plus que le nombre des algues différentes les unes des autres et qui contractent une vie en commun avec les champignons, est beaucoup plus considérable qu'on ne se l'imaginait. Mais ces travaux trop peu nombreux ne permettent pas encore d'acquiescer une idée nette sur la spécificité des gonidies et, à l'heure qu'il est, les investigations sont trop incomplètes pour permettre une généralisation des faits déjà enregistrés.

La question des gonidies gagna un intérêt particulier lorsque SCHWENDENER les désigna comme étant les fournisseurs de carbone

du champignon. SCHWENDENER lui-même supposa un nombre restreint de formes d'algues fonctionnant comme gonidies. A part *Cystococcus* et *Pleurococcus*, il admettait encore un ou deux représentants de la famille des Palmellacées, par exemple *Stichococcus*. Mais il sentait lui-même l'imprécision qui existait de son temps dans ce domaine ; il s'exprime du reste ainsi (l. c. p. 225) : « Insbesondere würde eine scharfe Abgrenzung der Gattungen, bei welchen *Cystococcus* als Gonidienbildner auftritt, eine bemerkenswerte Lücke ausfüllen. »

Les méthodes dont on se servait, du temps de SCHWENDENER, ne permettaient pas une étude plus détaillée de la spécificité. Aujourd'hui pas plus qu'autrefois, l'inspection anatomique et morphologique des lichens n'est capable de nous renseigner d'une manière précise sur le genre ou même l'espèce d'algue qu'ils contiennent. Vu cette difficulté et l'insuffisance des méthodes dont on s'est servi pendant longtemps, il n'est pas étonnant qu'une grande confusion se soit établie dans la désignation des algues appelées *Cystococcus*, *Pleurococcus*, *Protococcus*, *Chlorococcum*, etc. Sans insister davantage sur ce point, je cite R. CHODAT (11), auteur qui a débrouillé le pêle-mêle de nomenclature qui s'était constitué peu à peu et dont on ne pouvait plus sortir.

BEYERINCK (5) a introduit la méthode des cultures pures pour les algues. En appliquant ainsi la méthode de PASTEUR, cet auteur a ouvert une voie nouvelle et précise pour la recherche des gonidies et des algues en général. R. CHODAT (11) a le premier attiré l'attention sur la spécificité des gonidies. En basant exclusivement ses recherches sur la culture absolument pure, c'est-à-dire dépourvue de bactéries, champignons, etc., cet auteur, seul ou en collaboration avec ses élèves, a créé une base solide pour la recherche de la spécificité et il a établi en même temps tout un programme pour de nouvelles investigations. Passons brièvement en revue les résultats auxquels sont arrivés les différents auteurs<sup>1</sup>. Il y a lieu tout d'abord de diviser les travaux en deux groupes :

1. Recherches faites à l'aide de cultures non pures.
2. Recherches faites à l'aide de cultures absolument pures.

<sup>1</sup> L'historique des problèmes généraux concernant les gonidies des lichens ainsi qu'un index bibliographique détaillé sont donnés dans les ouvrages de A. L. SMITH (1921) (31), TOBLER (1925) (33), ZAHLBRUCKNER (1926) (38), MOREAU (1927) (22) ; cela me permet de ne citer que les travaux qui se rapportent directement aux problèmes traités dans mon travail.

SPEERSCHNEIDER (32) a le premier étudié les gonidies «en culture». Sa méthode est cependant si primitive qu'on ne saurait attribuer à ses essais qu'un intérêt historique. Mais à la suite de ces recherches, il a été néanmoins le premier à envisager la possibilité de la vie indépendante et de la naissance de nouveaux thalles de lichens à partir des gonidies. Il défendit cette idée contre l'opinion de son temps et en particulier contre KÖRBER (20) qui était de cet avis (l. c. ,p. 55) :

« Sunt igitur sola gonidia statum secundarium ingressa (quorum plura ad glomerulos confluenta soredia exhibent) ad lichenum propagationem apta... »

FAMINTZIN et BARANETZKI (13, 14) cultivèrent sur des morceaux stérilisés d'écorce de sapin et de tilleul les gonidies de *Evernia furfuracea* et de *Physcia (Xanthoria) parietina*. Quelques-unes des cellules vertes que ces auteurs ont étudiées et décrites, portaient encore sur leur surface de petits morceaux d'hyphes du champignon. Ce fait leur permettait, malgré l'insuffisance de la méthode, de démontrer la multiplication de ces gonidies par zoospores. En comparant leurs gonidies avec l'algue libre décrite par NAEGELI, FAMINTZIN et BARANETZKI sont arrivés à cette conclusion : « In diesem Zustande (cellules isolées) waren die Gonidien der von NAEGELI beschriebenen und in III. Fig. E, e, abgebildeten Cystococcusform vollkommen ähnlich. Später gelang es uns, an ihnen alle entsprechenden Entwicklungsstufen des *Cystococcus* zu beobachten und so die Identität dieser von NAEGELI aufgestellten Algengattung mit freien Gonidienzellen der Flechten festzustellen. »

Il n'est pas étonnant qu'avec la méthode que ces auteurs ont employée, ces premiers travaux n'ont pas pu avancer le problème de la spécificité. Au contraire, ces auteurs ont cru à une uniformité entre les gonidies des différentes espèces et genres de Lichens. Les auteurs s'expriment en effet ainsi : « Die Gonidien dieser Flechten *Evernia furfuracea* und *Cladonia* sp. wie auch die Zoosporen sind denen der *Physcia* so ausserordentlich ähnlich, dass sie durch keine gewichtigen Merkmale unterschieden werden können. »

WORONIN (37) arriva au même résultat par ses cultures des gonidies de *Parmelia pulverulenta* qu'il identifia avec le *Cystococcus humicola* de NAEGELI; il aboutit de plus à cette conclusion : « Les gonidies et les sorédies de ces deux lichens (*Xanthoria parietina* et *Parmelia pulverulenta*) sont absolument identiques. »

Les tentatives faites pour réaliser la synthèse des lichens à partir d'algues et de champignons libres, n'ont pas non plus avancé notre problème. Sur les travaux de BONNIER (6, 7, 8, 9), qui prétend avoir réalisé cette synthèse jusqu'au lichen complet, règne une incertitude telle qu'on n'oserait pas dégager de conclusions. Je cite R. CHODAT (11) : « On ne voit pas que l'auteur (Gaston BONNIER) se soit assuré de la pureté des gonidies au sens moderne de ce mot, ni quelles sortes de gonidies ont été employées, ni comment l'auteur a procédé pour isoler à l'état de pureté les spores des lichens. »

Les expériences de BONNIER (6, 7), qui montrent en plus que les filaments de champignons se fixent sur les protonémas de Mousses, etc., ne prouvent rien. Un lichen complet ne s'étant pas formé dans ces cas, nous ne savons rien sur la sélection que le champignon fait en s'associant à des algues. Le fait que ces essais n'ont pas réussi, pourrait précisément confirmer l'opinion contraire, à savoir, que le champignon est très délicat dans son choix, c'est-à-dire qu'il ne s'associe qu'avec des algues spécialement adaptées à cette vie en commun.

BEYERINCK (5) identifie encore la gonidie de *Physcia parietina* avec celle décrite par FAMINTZIN et BARANETZKI (13). Il constate, par contre, une différence physiologique entre cette algue gonidie et l'algue vivant à l'état libre dans la nature et appelée par NÆGELI, *Cystococcus humicola*.

ARTARI (1) a suivi le chemin indiqué par BEYERINCK (5) en insistant, dans une succession de travaux, sur l'existence de cette différence fondamentale entre l'algue gonidie de *Xanthoria parietina* et l'algue libre. D'après lui, les gonidies sont « ganz klar und scharf, ausgesprochene Peptonalgen », l'algue libre préférant au contraire l'azote inorganique.

TREBOUX (34), à la suite de cultures qu'il avait observées pendant de longues années, s'est opposé à cette théorie. « ARTARI glaubte, dass die Gonidie vom Flechtenpilz für die gelieferte Kohlenstoffquelle Pepton erhalte. Demgegenüber möchte ich gleich darauf hinweisen, dass die Gonidienalge *Cystococcus humicola* kein Pepton-Kohlenstofforganismus ist, und dass die freilebende Alge in ihren ernährungsphysiologischen Eigenschaften sich von der Gonidienalge durch nichts unterscheidet ». TREBOUX ramena l'algue gonidie de *Xanthoria* (appelée jusqu'à lui *Chlorococcum*) au genre *Cystococcus* Naegeli, quoique la description de cet auteur ne coïncide

pas exactement avec la gonidie en question. Il résulte donc, d'après cet auteur, que l'algue gonidie est identique à l'algue vivant à l'état libre. Quant à la spécificité, TREBOUX admet de façon tacite l'identité des gonidies de *Cystococcus* dans les différents lichens.

HEDLUND (16, 17) parle en faveur d'une multiplicité des gonidies appartenant au genre *Cystococcus*; mais ses cultures n'étant pas pures, personne ne saurait dire s'il s'agissait dans les différentes formes mentionnées par HEDLUND, de fluctuations ou de réelles différences spécifiques. D'après cet auteur, l'algue gonidie de *Xanthoria* est identique à la gonidie des genres *Usnea*, *Alectoria*, *Ramalina*, *Cetraria*, *Lecidea* et d'autres lichens crustacés. Il la croit, en plus, communément répandue dans la nature sur les troncs de *Sorbus*, *Tilia*, *Ulmus*, etc. Il s'agit là certainement d'une erreur. Ces résultats n'ont plus qu'un intérêt historique. Ce qui est plus intéressant, c'est que l'auteur déclare la gonidie de *Xanthoria* différente de celle de *Cladonia*. Il prétend même avoir isolé d'une même espèce des formes différentes, à savoir deux de *Peltigera aphyta* et quatre de *Lecidea lucida*. Les cultures n'ayant pas été pures et ses méthodes ne garantissant point la provenance des algues de la couche gonidienne, on ne saurait admettre comme concluants les résultats obtenus par cet auteur.

R. CHODAT (11) en publiant ses « Monographies d'Algues en culture pure », a créé une base solide pour l'étude des gonidies. Ce travail fondamental a, depuis lors, servi de modèle à plusieurs auteurs. R. CHODAT a démontré d'une manière irréfutable dans ses recherches, d'une part, que les gonidies provenant de différentes espèces de lichens et développées en culture pure, ne sont pas identiques entre elles et, d'autre part, qu'elles ne peuvent pas être entièrement identifiées avec les algues vivant à l'état libre dans la nature. Il démontre, en outre, combien les théories traitant de la physiologie des lichens reposent sur une base expérimentale faible.

En collaboration avec Mlle KORNILOFF (19), R. CHODAT (11) a montré que les gonidies des lichens ne sont pas des « Peptonalgen » dans le sens sous lequel ARTARI (1,2) a compris ce terme. Contrairement à ce que TREBOUX (34) trouvait, R. CHODAT (11) conclut en outre, à la suite de ses expériences, que les acides organiques ne peuvent jouer qu'un rôle insignifiant dans la nutrition des gonidies. Cet auteur considère les gonidies retirées des deux espèces *Cladonia furcata* et *Cladonia pyxidata* comme étant des races physiologiques différentes.

Selon ces travaux, la spécificité des gonidies atteint non seulement le genre, mais aussi l'espèce de lichen. R. CHODAT, en triant les gonidies des *Cladonia pyxidata* et *Solorina saccata*, obtint même d'une seule espèce deux algues différentes selon qu'il avait récolté les échantillons en des localités différentes.

Sur cette base, LETELLIER (21) étendit ses recherches aux gonidies provenant des genres *Peltigera*, *Xanthoria* et *Coniocybe*. Les expériences faites par cet auteur aboutissent à confirmer les résultats obtenus par R. CHODAT et KORNILOFF pour les gonidies d'autre provenance.

HARRY WARÉN (36) contribue par un excellent travail au problème de la spécificité. En triant en culture pure les gonidies d'une ou plusieurs espèces des genres *Cetraria*, *Cladonia*, *Dermatocarpon*, *Lecanora*, *Lecidea*, *Ramalina*, *Peltigera*, *Physcia*, *Parmelia* et *Xanthoria*, cet auteur obtient onze nouvelles espèces de gonidies.

WARÉN considère les gonidies de *Cladonia* comme étant un type spécial qu'il oppose à toutes les autres espèces de *Cystococcus* connus jusqu'à lui. En triant les gonidies de différents thalles appartenant à l'espèce *Xanthoria parietina* L. et récoltés dans une même région, WARÉN n'a pas trouvé des formes différentes. En comparant, par contre, les gonidies de la même espèce récoltée soit en Finlande soit en Hollande, il obtient des gonidies différentes.

Les gonidies provenant d'un même thalle de lichen se montraient toutes identiques. Cette étude a serré de plus près encore le problème de la spécificité.

## § 2. BUT DU TRAVAIL

Je me suis proposé d'étudier les gonidies provenant de quelques espèces du genre *Parmelia*. Ce genre est représenté dans les environs de Genève par une vingtaine d'espèces qui comprennent les lichens les plus communs de cette région. Il m'était dès lors facile de me procurer à chaque instant du matériel frais pour le triage des gonidies.

Il était intéressant avant tout d'étudier la spécificité des gonidies appartenant à de différentes espèces du même genre. Mais il était aussi intéressant de les comparer aux gonidies d'autres genres, en particulier à celles appartenant au genre *Cladonia*. Un troisième problème était celui de la spécificité des gonidies provenant de

plusieurs thalles d'une même espèce, mais récoltés en des localités différentes.

J'ai essayé d'élucider les problèmes concernant la spécificité tout en portant mon attention sur la biologie des gonidies.

### § 3. ETUDE DES GONIDIES « IN SITU »

L'étude des gonidies *in situ* doit précéder toute recherche expérimentale concernant ces organismes. Elle peut nous indiquer à quel groupe d'algues les gonidies appartiennent. Dans la plupart des cas, elle peut également conduire à la détermination du genre. Mais cet examen n'est pas susceptible de fournir des renseignements plus précis au sujet du problème de la spécificité, problème qui nous a intéressé en tout premier lieu dans ce travail. Cette question ne peut pas être abordée autrement que par la méthode des cultures pures. Cette expression « culture pure » a été conçue par les divers auteurs avec une signification très variée. L'un a admis, en effet, que dans la culture se trouvait une seule espèce d'algue ou de champignon, etc., l'autre a parlé de cultures pures si les microbes (bactéries, champignons, etc.) n'étaient pas trop abondants pour empêcher le développement des plantes en question. Les auteurs modernes, par contre, n'admettent cette désignation que si la culture est absolument pure, autrement dit, s'il n'y a point d'organismes étrangers à celui qu'on veut étudier. On demande en outre, d'une culture pure, qu'elle soit issue d'une cellule unique. Les recherches dont il est question dans le présent travail ont été faites exclusivement en culture pure. Je suis toujours parti de germes uniques. Les cultures sont par conséquent des clones et non pas des populations.

Quelle est la valeur des résultats obtenus en culture pure, d'une part, et de ceux obtenus par l'inspection des gonidies *in situ*, d'autre part ?

En culture pure, on connaît exactement les conditions qu'on offre aux gonidies. On peut standardiser les milieux de façon à avoir des formes différentes dans les mêmes conditions de nutrition de concentration des sels, de réaction, d'humidité, etc. On peut les exposer à une même intensité lumineuse et à une température constante. Ce n'est que dans ces conditions que les différentes formes peuvent être comparées les unes aux autres. Mais on a en

outre, par cette méthode, un champ d'expériences très vaste qui permet l'étude des manifestations biologiques et de multiplication, etc. Tous ces avantages que présentent les cultures pures échappent à la seule inspection des gonidies *in situ*. Dans le thalle du lichen, ces dernières se trouvent dans des conditions indéterminables à l'heure qu'il est. Elles sont combinées à des champignons différents, sont soumises à des degrés d'humidité et d'insolation variés d'un échantillon à l'autre et même d'une partie du thalle à l'autre. Elles se trouvent aussi en présence d'acides lichéniques et d'autres substances chimiques multiples.

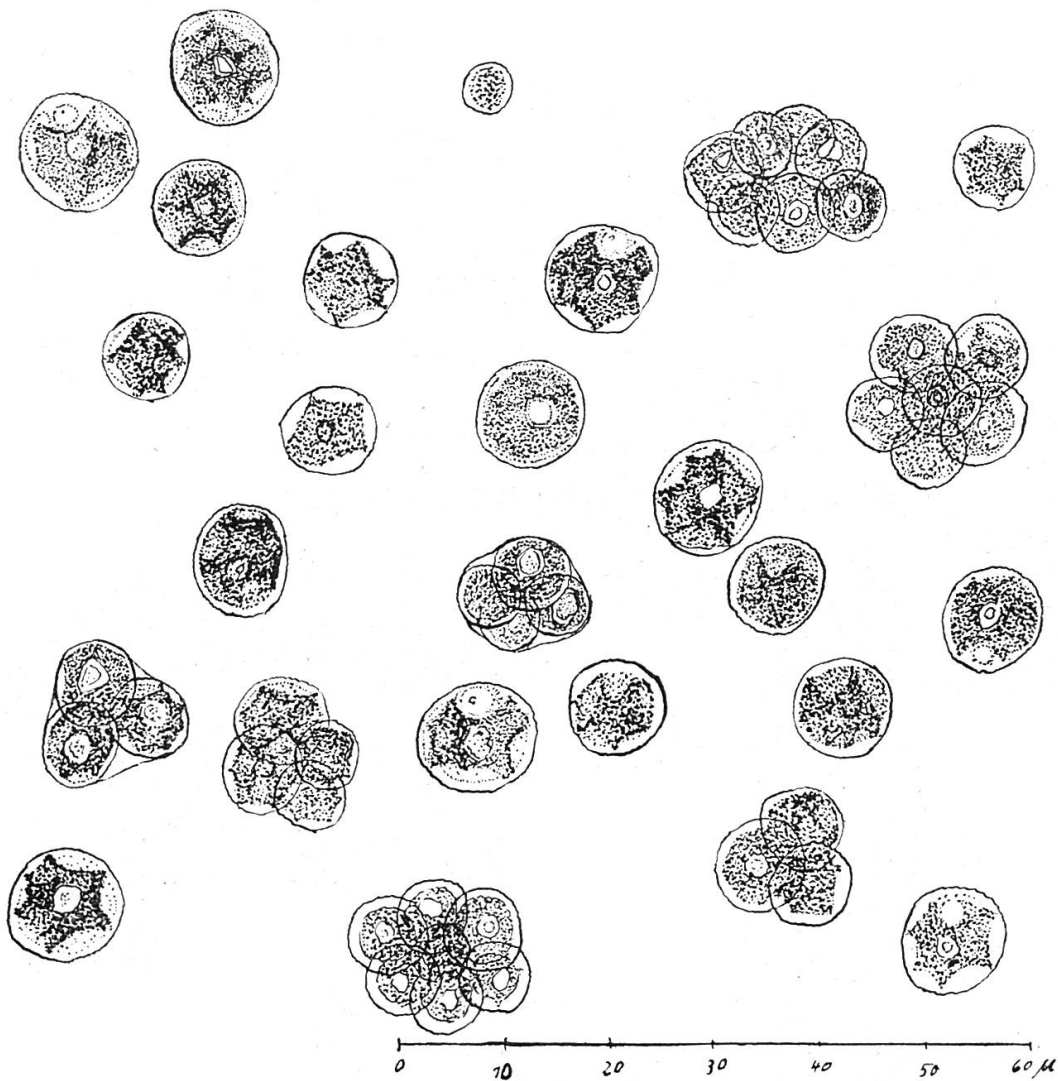


Fig. 1. — Gonidies extraites du *Parmelia encausta* Sm. (Bourg-St-Pierre). Dessin fait à la chambre claire. Grossi 680 fois.

Malgré ces désavantages que l'inspection des gonidies *in situ* présente par rapport à la méthode des cultures pures, elle a certainement sa raison d'être. Elle doit même suivre pas à pas l'autre méthode et pourra ainsi donner des renseignements précieux, surtout d'ordre comparatif.

J'ai étudié les gonidies *in situ* de tous les thalles qui m'avaient fourni des cellules vertes pour les cultures. Je les ai examinées, afin de pouvoir les comparer avec celles étudiées en culture pure. Mais j'ai en plus examiné un grand nombre d'autres lichens possédant des gonidies du genre *Cystococcus*. J'ai porté mon attention surtout sur les points suivants <sup>1</sup> :

Y a-t-il des différences de forme, de dimensions, d'aspect, etc., entre les gonidies *Cystococcus* appartenant :

1. à différents genres de lichens.
2. à plusieurs espèces d'un même genre.
3. à plusieurs échantillons d'une même espèce récoltés en des endroits différents.
4. à différentes régions d'un même thalle ?

Ce sont les mêmes problèmes que je me suis proposé de résoudre par la méthode des cultures pures.

Le résultat de cette étude des gonidies *in situ* fut le suivant :

En comparant les gonidies d'un grand nombre de thalles du genre *Parmelia* avec ceux du genre *Cladonia*, j'ai constaté chez le premier genre une tendance nette à former des cellules parfaitement ou presque arrondies ; il y a cependant quelquefois des gonidies légèrement allongées ; mais c'est l'exception. Dans le genre *Cladonia* au contraire, il y a une tendance à former des cellules ovoïdes, légèrement allongées. A côté de ces formes il y a cependant de nombreuses cellules arrondies. Ce fait s'est vérifié dans toutes les espèces que j'ai examinées. Toutes les cellules ne sont pas sphériques dans l'une ou ovoïdes dans l'autre genre ; c'est plutôt le nombre et le rapport numérique entre les deux formes qui varie. C'est d'ailleurs, comme on le verra plus bas, ce qui ressort avec la plus grande netteté en culture pure. Mais c'est tout ce qui distingue la gonidie d'un genre de celle de l'autre. Quant aux différentes espèces,

<sup>1</sup> J'ai fait une partie de cette étude dans le Laboratoire Alpin «La Linnaea» (Directeur M. le Prof. R. Chodat) à Bourg-St-Pierre, Valais, à l'exemple de M. le Prof. GARSIDE (London) qui faisait des recherches analogues. Je me borne à ne publier dans ce travail que ce qui touche de plus près les recherches que j'ai faites à l'aide des cultures pures, c'est-à-dire à ce qui se rapporte uniquement aux genres *Parmelia* et *Cladonia* envisagés dans cette étude.

j'ai trouvé des différences plus ou moins constantes, concernant les dimensions des cellules. En examinant les thalles du *Parmelia encausta* Sm. récoltés dans différents endroits du val d'Entremont (Valais), j'ai trouvé que les gonidies sont particulièrement petites. Les plus grandes que j'ai mesurées n'ont pas dépassé 12  $\mu$ . C'est par conséquent une espèce de lichen contenant des gonidies très petites. Les plus grandes gonidies, par contre, ont été trouvées dans les espèces *Parmelia laevigata* Sm. et *Cladonia uncialis* L. Ces cellules sont souvent plusieurs fois plus grandes que les plus grandes de *Parmelia encausta*. Au sein d'une même espèce, mes

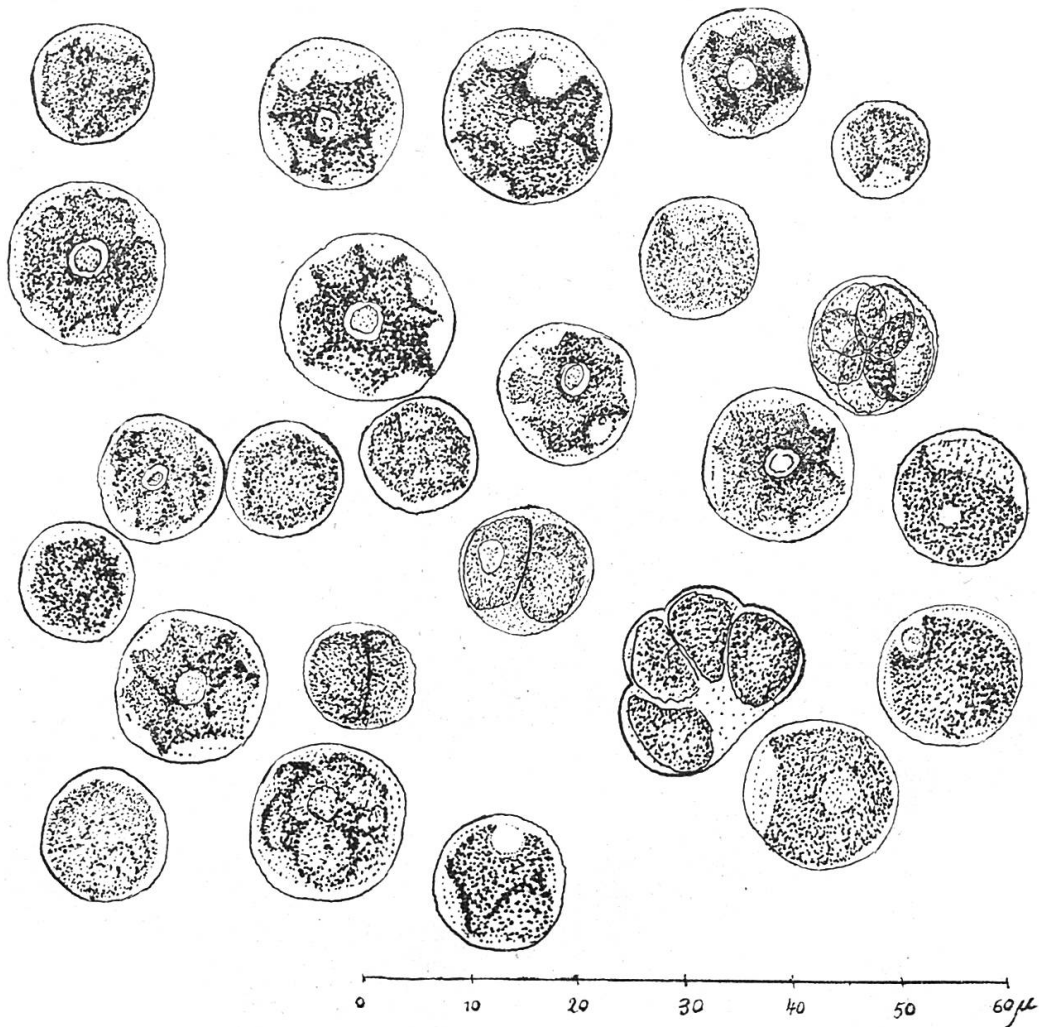


Fig. 2. — Gonidies extraites du *Parmelia laevigata* Sm. (Bourg-St-Pierre). Dessin fait à la chambre claire. Grossi 680 fois.

observations ont montré que les dimensions des cellules sont plus ou moins constantes. Elles le sont le plus chez *Parmelia encausta* récolté dans des stations différentes. Les dimensions varient par contre légèrement d'un thalle à l'autre chez *Parmelia laevigata*. J'y ai trouvé des dimensions moyennes de 16  $\mu$  pour les 200 gonidies les plus grandes. Quant aux gonidies, prises en des régions différentes d'un même thalle, j'ai trouvé des différences de grandeur pour *Cladonia furcata*. Les cellules contenues dans les folioles du protothalle ont été en moyenne sensiblement plus petites que celles retirées du sommet des Podetium. Presque toutes les cellules du Podetium étaient en outre pleines de globules d'huile, ce qui ne s'est rencontré qu'exceptionnellement dans les gonidies des folioles du protothalle portant les Podetium.

Dans ce dernier cas tout particulièrement, se pose le problème suivant : cette différence est-elle accidentelle ou s'agit-il réellement de formes différentes ?

Il résulte de cette étude qu'on peut bien constater des différences dans les dimensions des gonidies appartenant à des espèces lichéniques différentes. Mais on n'a aucun moyen, dans cette méthode, de savoir lesquelles de ces différences sont accidentelles, et lesquelles, au contraire, sont l'expression d'une spécificité réelle.

Les figures n° 1 et 2 montrent les gonidies représentant les dimensions extrêmes que je rencontrais en étudiant les gonidies *in situ*. Les dessins sont faits à la chambre claire, avec un grossissement de 680  $\times$ . La figure n° 1 représente les gonidies d'un thalle de *Parmelia encausta* Sm., récolté sur un rocher siliceux à Bourg-Saint-Pierre (Valais), altitude 1700 m. La figure n° 2 représente les gonidies d'un thalle de *Parmelia laevigata* Sp. récolté au même endroit que le précédent.

#### § 4. LA METHODE DE TRIAGE

##### §§ 1. Considérations générales

La recherche des gonidies des lichens exige, plus qu'une autre branche de l'algologie, des méthodes de sélection inéquivoques. L'algologue peut en général se contenter d'avoir des cultures pures, issues de germes uniques ; le gonidiologue, par contre, doit assurer

en plus d'une manière irréfutable que ses cultures sont réellement des cultures *de gonidies* et qu'elles ne sont pas issues d'algues vivant en épiphytes à la surface du thalle lichénique. Tout botaniste, ayant travaillé dans ce domaine, sait combien il est difficile de réaliser ces deux exigences. Partout, et tout particulièrement en des endroits humides, sur des troncs d'arbres, etc., on trouve sur les thalles lichéniques les algues les plus variées en grande abondance, algues qu'il est très souvent impossible, même au plus habile des observateurs, de distinguer des gonidies vivant à l'intérieur du thalle. R. CHODAT (11) a, en effet, trouvé les algues les plus différentes dans les matériaux qu'il aensemencés dans l'intention d'obtenir des cultures de gonidies. Il écrit lui-même (pages 193-194) :

« Il faut bien insister sur cette cause d'erreur que le plus souvent on obtient de toutes autres algues que les gonidies qu'on désire obtenir. N'oublions pas, en effet, que la nature rugueuse et hygroskopique d'un lichen est une condition propice au développement des algues épiphytes. Chacun sait, pour avoir herborisé dans les taillis, avec quelle facilité beaucoup d'algues unicellulaires s'installent sur les écorces humides, sur les polypores subéreux et subligneux, sur le bois pourri, sur l'argile humide. On voit moins directement les algues épiphytes des lichens et cependant chaque triage fournit bon nombre d'espèces qui ne sont pas les gonidies cherchées (*Stichococcus*, *Rhaphidonema*, *Palmellococcus*, *Chlorella*, *Pleuras-trum*, *Heterococcus*, etc.). D'une manière générale, ces algues épiphytes dans les triages, se développent plus rapidement que les gonidies. Et comme souvent elles ont aussi la forme arrondie de ces dernières, on pourrait les confondre avec elles. »

J'ai maintes fois essayé moi-même de trouver sur les écorces d'arbres couvertes d'algues vertes des *Cystococcus* vivant à l'état libre, espérant pouvoir résoudre ainsi le problème, non résolu jusqu'à présent : les gonidies sont-elles identiques à des algues vivant à l'état libre dans la nature ou sont-elles, au contraire, des algues sélectionnées ou même modifiées par une longue vie en symbiose avec le champignon ? Que de fois ai-je cru avoir des *Cystococcus* supposés identiques à mes gonidies à la suite de la comparaison des formes sous le microscope. Mais une fois mises en culture pure ces algues se sont révélées comme des représentants tout différents de *Cystococcus*.

## §§ 2. Traitement préliminaire des thalles lichéniques

J'ai préparé le matériel pour mes inoculations d'après la méthode suivante. J'ai coupé un thalle de lichen en morceaux d'un centimètre carré, que j'ai fixés par des épingles sur une feuille de papier ; je les ai soumis pendant une demi-heure à l'eau courante du robinet. Les deux côtés ont été traités de cette façon. J'ai pensé que l'eau enlèverait ainsi la plupart des organismes. (Algues, champignons, etc.) vivant en épiphyte sur le thalle du lichen. Puis ces morceaux furent secoués dans un flacon contenant de l'eau stérilisée. Ayant été extraits du flacon, ils furent encore une fois lavés par un courant d'eau stérilisée. Lorsque les thalles furent relativement séchés, j'ai enlevé entièrement l'écorce inférieure du thalle à l'aide d'un scalpel flambé et j'ai gratté l'écorce supérieure de façon à enlever les germes qui auraient pu avoir résisté à l'eau courante. J'ai effectué ces manipulations sur une plaque de verre stérilisée. Ensuite j'ai fait des sections aussi minces que possible. Le thalle étant pincé entre les deux moitiés d'un bâton de moëlle de sureau, finalement j'ai dilacéré une de ces sections dans une goutte d'eau stérilisée entre deux lamelles de verre préalablement stérilisées. J'obtenais ainsi une suspension de filaments de champignon, d'algues isolées de ces derniers et de petits morceaux du thalle contenant les gonidies dans un enchevêtrement de fragments d'hyphes.

## §§ 3. La sélection des gonidies

La sélection des gonidies et le transport sur les milieux artificiels ont été effectués par la méthode du *Micromanipulateur* (JANSE et PETERFI). Cet instrument se compose d'une plaque basale surmontée de deux supports latéraux ; chacun de ces derniers porte sur son sommet une sorte de chariot, formant pince qui sert à la fixation des instruments de travail. Les chariots sont mobiles et obéissent aux mouvements de deux systèmes de vis. L'un de ces systèmes permet des mouvements grossiers dans tous les sens, l'autre des mouvements micrométriques. Comme instruments de travail on se sert de micropipettes construites en verre. Ces instruments sont fixés dans les pinces précitées et peuvent être placés et déplacés dans toutes les directions possibles de l'espace.

Entre les deux supports du micromanipulateur se place le microscope muni d'une platine à chariot. Une chambre humide est placée

entre les deux pinces de cette dernière et peut être déplacée par conséquent sur la platine du microscope. La chambre humide se compose essentiellement d'un cadre métallique fixé sur une plaque de verre et possède, dans chacune des parois latérales, une ouverture destinée à l'introduction d'instruments pour la sélection. Durant le travail, cette chambre est couverte d'une lamelle de verre très mince. Dans chacune des parois antéro-postérieures du cadre métallique se trouve une rainure, destinée à recevoir du coton humecté, celui-ci maintient une atmosphère saturée. La sélection des gonidies a été effectuée de la manière suivante :

La suspension des gonidies, filaments de champignon et petits fragments du thalle obtenus par dilacération de ce dernier selon la méthode indiquée plus haut, a été recueillie par aspiration dans une pipette stérilisée. Une petite goutte de ce matériel fut transportée à la face inférieure d'une lamelle de verre très mince, destinée à couvrir la chambre humide. Cette dernière fut placée sur la platine du microscope de façon à ce que le matériel puisse être examiné en goutte pendante. Puis je fabriquai une micropipette stérilisée.

Je m'abstiens de donner ici une description détaillée de cette technique: PETERFI (26) en a donné les principes. En étirant des tubes de verre de 4 mm. de diamètre on obtient à volonté des capillaires ayant une largeur de 2 mm., 1 mm. 0,5 mm. Un deuxième étirement de l'extrémité de ces capillaires amène à un diamètre de 40 à 80  $\mu$ . C'est ce qui convient le mieux pour le tirage des gonidies. La partie la plus fine de la micropipette est courbée à une distance de 3mm. de l'extrémité, de sorte que le dernier bout du capillaire fait un angle de 90° avec le corps de la pipette. Ceci permet d'introduire l'ouverture d'en bas dans la goutte qui contient les gonidies à trier. En employant dès le début des tubes de verre stérilisés et bouchés des deux côtés par un coton et en étirant successivement les différentes parties en empêchant toute infection ultérieure, on arrive facilement à avoir une pipette stérile dès le début. On n'a maintenant qu'à stériliser le tube de caoutchouc et à filtrer par du coton l'air qui circule dans ce tube pour pouvoir travailler d'une manière absolument aseptique.

Une micropipette étant prête à l'usage, elle est mise en liaison avec le tube de caoutchouc. On aspire une petite quantité d'eau stérilisée dans la partie la plus mince ; puis on introduit la pipette dans la chambre humide à travers l'ouverture droite du cadre métal-

lique. On l'oriente maintenant de façon à reconnaître dans le champ microscopique le contour circulaire de la pipette à travers la suspension des gonidies. On choisit alors une gonidie attachée à un complexe de filaments du champignon. Puis par l'intermédiaire des nombreuses vis micro- et macrométriques du micromanipulateur on introduit soigneusement l'ouverture de la pipette dans la goutte pendante ; une légère pression suffit pour libérer la gonidie des hyphes ; enfin en aspirant faiblement on attire la cellule dans la pipette, et en tournant la vis micrométrique appropriée, on la retire de la goutte pendante.

J'ai isolé de cette façon des milliers de gonidies et je n'ai pas eu la moindre peine à capter des cellules uniques. Mais je n'en ai pas transporté une seule dans le milieu nutritif, sans avoir vérifié si la cellule était réellement unique. J'ai procédé de la façon suivante : J'ai sorti de la goutte pendante l'ouverture de la pipette, simplement en abaissant cette dernière par un mouvement de la vis correspondante. Puis j'ai déplacé la chambre humide de façon à ce que la goutte contenant les gonidies fut hors du champ microscopique ; en élevant alors la pipette et en soufflant légèrement dans le tube de caoutchouc, j'ai déposé de nouveau la cellule à un endroit libre de la face inférieure de la lamelle. J'ai poursuivi toutes ces manipulations dans le champ microscopique ; je n'avais alors qu'à rincer ma pipette ou à utiliser une autre pour reprendre en aspirant la goutte avec la gonidie et transporter cette dernière dans le milieu nutritif stérilisé. J'avais ainsi toutes garanties de travailler avec des gonidies triées uniques. Mais la pureté de la culture n'était pas encore assurée de cette façon. En effet, dans la suspension il y avait, à côté des gonidies, des bactéries et des spores de champignons qui devaient être séparés de la gonidie unique.

On « lave » dans ce but le germe au moyen d'une sorte de microdilution qu'on opère sur la face inférieure de la lamelle en procédant de la manière suivante : On enlève autant que possible, par aspiration, l'eau dans laquelle baigne le germe sélectionné unique ; puis on la dépose en l'expulsant à un endroit libre de la lamelle. Le germe se trouve alors directement collé à cette dernière. On a ainsi enlevé la majeure partie des microbes supposés présents dans la gouttelette. On porte une nouvelle goutte d'eau stérile sur le germe et c'est alors lui-même qui est aspiré avec la moindre quantité possible d'eau et transporté à un autre endroit de la lamelle.

L'eau dans laquelle il se trouve déposé ayant été enlevée et remplacée quatre à cinq fois par de l'eau stérilisée le germe est suffisamment lavé. Il est alors transporté dans le milieu nutritif où il donnera une culture parfaitement pure ; c'est-à-dire une colonie dépourvue de tout organisme étranger. Ce lavage est complété ou simplifié selon l'abondance des microbes contenus dans le matériel initial.

A l'exception des tout premiers triages, effectués avec une méthode encore insuffisante, les cultures que j'ai obtenues à partir de ces cellules étaient d'une parfaite pureté. J'insiste particulièrement sur ce fait, que *dans aucun cas* je n'ai obtenu en culture une algue étrangère à celles contenues comme gonidies dans le thalle du lichen. C'est la meilleure preuve de la supériorité de cette méthode. Je me hâte cependant d'indiquer que sur le nombre des cellules que j'ai triées, une très petite partie seulement s'est développée. Celles que j'avais isolées durant les mois d'été se sont même refusées à toute multiplication. Les sélections effectuées en hiver et au printemps au contraire ont abouti à un résultat tout à fait satisfaisant.

---