

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: Ilme 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>

II^{me} PARTIE

§ 1. LA PREMIÈRE SÉRIE D'INOCULATIONS

Ayant acquis une certaine habileté à utiliser le micromanipulateur, j'ai commencé la sélection des gonidies au mois de janvier 1927. Les espèces *Parmelia caperata* L., *P. saxatilis* L., *P. sulcata* TAYL., *P. glabra* SCHAEER., *P. subaurifera* NYL., *P. physodes* L. firent l'objet de mes triages.

Aucune de ces gonidies n'avait été cultivée auparavant en milieu artificiel.

Je ne pouvais donc pas savoir, au début de mon travail, quel milieu nutritif leur conviendrait. J'ai par conséquent inoculé les gonidies sur des milieux variés. Ceux-ci étaient tous préparés à base de la solution de DETMER :

H ₂ O	1000 g.
Ca (NO ₃) ₂	1.00 g.
Mg SO ₄	0.25 g.
KH ₂ PO ₄	0.25 g.
KCl	0.25 g.
F Cl ₃ (1%)	1 goutte

Ce liquide était solidifié par l'agar-agar à raison de 1.5% et réparti dans des flacons ERLLENMEYER, contenant 100 cm³. J'ai en outre utilisé la même solution diluée au tiers et au dixième.

Dans une autre série j'ai en plus ajouté 2% de glucose. J'ai exposé ces cultures dans le Laboratoire de physiologie de l'Institut de botanique à la lumière diffuse, en attendant l'apparition des colonies vertes des gonidies. Mais au bout de deux semaines j'ai constaté à la surface de la plupart de mes milieux des colonies blanches, rouges et jaunes de bactéries et des cultures de champignons. Ce ne fut qu'un mois plus tard qu'au milieu des colonies bactériennes, de petits points verts (= cultures de gonidies) apparurent. Ma méthode n'était donc pas encore suffisante ; c'est à la suite de cette expérience que j'ai pris des précautions plus effica-

ces pour séparer les microbes des gonidies triées uniques. Cela ne me présenta pas de difficultés et la grande majorité des cultures ultérieures n'étaient pas infectées.

Parmi une cinquantaine de flacons ensemencés de cette première série, huit ne furent toutefois pas infectés par des bactéries et au bout de six à huit semaines les gonidies avaient donné de petites colonies vertes, visibles à l'œil nu. Celles-ci s'étaient formées à partir de gonidies uniques, que j'avais triées de deux thalles de *Parmelia caperata* L. dont l'un avait été récolté sur le tronc d'un chêne, au-dessus de Bonneville (Haute-Savoie) altitude 480 m., l'autre sur un pommier dans la même région à une distance de 20 m.

Sûr de bientôt réussir des triages « en grand », j'ai par contre jeté toutes les autres cultures originales, infectées par des bactéries. Ce triage en grand s'est cependant montré moins facile à réaliser que je n'avais pensé.

Les huit gonidies, souches des colonies pures, avaient été inoculées le 17 janvier 1927 sur un milieu de DETMER $\frac{1}{3}$ agarisé et additionné de 2% de glucose. Des petits points verts avaient été constatés la première fois le 28 février donc au bout de six semaines.

§ 2. ÉTUDE DE LA SPÉCIFICITÉ

Le problème suivant se posa tout d'abord : les huit gonidies ayant donné ces colonies et provenant de deux thalles lichéniques, sont-elles identiques entre elles, ou y-a-t-il au contraire des différences, soit d'une gonidie à l'autre, soit d'une thalle à l'autre. Les recherches faites par R. CHODAT (4) et H. WARÉN (36) ont révélé dans deux cas des gonidies différentes pour une même espèce de lichen récolté en des localités différentes. Ces travaux laissent donc entrevoir une possibilité de ce genre.

J'ai repiqué le 9 mars le matériel de chacune des huit colonies simultanément dans trois flacons stérilisés contenant le même milieu nutritif, à savoir la solution de DETMER dilué au tiers, agarisée et, additionnée de 2% de glucose. J'ai pris cette précaution d'ensemencer plusieurs flacons des mêmes gonidies, d'une part, pour ne pas être la victime d'erreurs systématiques dues à la nature du verre etc., et d'autre part pour obtenir ainsi suffisamment de matériel d'inoculation pour les expériences ultérieures.

Sur les nouveaux milieux, le développement de toutes les cultures fut vigoureux et relativement rapide, de sorte qu'après six semaines elles atteignaient des dimensions considérables et possédaient une morphologie culturelle nette. L'aspect macroscopique de ces cultures permit de les diviser du premier coup d'œil en deux groupes. L'un d'eux comprenait les neuf cultures que j'avais obtenues à partir de trois gonidies du thalle récolté sur le chêne, l'autre comprenait quinze cultures provenant de cinq gonidies du thalle récolté sur le pommier. La couleur des colonies et leur structure les distinguaient l'une de l'autre. Les différentes colonies appartenant à l'un ou à l'autre des deux groupes ne différaient en aucun point entre elles ni par l'aspect macroscopique ni par l'aspect microscopique des cellules. Cette constatation me sembla suffisante comme preuve, qu'à l'intérieur d'un thalle les gonidies sont identiques les unes aux autres. J'ai par conséquent continué mes expériences seulement avec la descendance d'une seule cellule pour chacun des thalles. J'ai cependant hâte d'ajouter, que j'ai repris plus tard le problème de l'identité des gonidies comprises dans un seul et même thalle pour plusieurs autres espèces. J'y reviendrai par conséquent dans un chapitre spécial (voir p. 77)

J'ai donné toutes les gonidies tirées par moi à la collection d'algues en culture pure de M. le Prof. R. CHODAT. La gonidie provenant du thalle de *Parmelia caperata* L., récolté sur le chêne à Bonneville y a reçu le numéro d'ordre 349, l'autre gonidie provenant de la même espèce lichénique, mais récoltée sur le pommier du même endroit le numéro 350. Pour simplifier la description je désignerai dorénavant les gonidies sous le numéro qu'elles portent dans l'Algothèque précitée.

En poursuivant le développement et la morphologie de ces cultures pendant huit mois je me suis aperçu que la forme, la couleur et la morphologie de ces colonies deviennent de plus en plus caractéristiques ; les différences s'accroissent progressivement entre les deux groupes.

Voici leur caractéristique que j'ai notée le 10 septembre (six mois après l'ensemencement) : toutes les colonies provenant du thalle récolté sur le pommier étaient d'une taille 2-3 fois plus grande que celle appartenant aux gonidies de l'autre thalle, récoltée sur le chêne (planche I, fig. 1). Les premières (n° 350) s'étaient donc développées plus rapidement que les dernières (n° 349). Mais la

teinte des colonies du premier groupe (pommier) étaient aussi toutes d'un vert légèrement plus clair que les autres.

Les colonies des deux gonidies avaient la forme de massifs de montagnes en miniature. Celles du n° 349 émettaient, à partir d'un point central, des lobes à pourtour arrondi et à surface plus ou moins concave, soulevant légèrement le bord du substratum. Dans les deux gonidies la surface était rugueuse, brillante et humide. Mais les petites verrucosités étaient d'un grain moins fin chez les colonies du n° 349 que chez celles du n° 350. Les colonies de cette dernière gonidie étaient moins aplaties: c'étaient plutôt des massifs émettant d'un centre élevé des chaînons flexueux, à surface convexe et de forme vermiculaire, n'élevant point leur bord sur le substratum. Le « grain » visible à la surface était très fin chez cette gonidie. Les recherches ultérieures m'ont permis de compléter ces caractères; je les ai donnés dans un chapitre spécial (v. p. 113).

§ 3. DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS DU MILIEU NUTRITIF

« Je ne connais aucune espèce qui ne soit caractérisée que par un seul caractère. »
R. CHODAT. (*Scenedesmus*).

D'après le résultat que je viens d'énoncer, il n'y avait pas de doute que je possédais deux gonidies différentes en culture.

Poursuivre leur spécificité dans les conditions les plus variées possibles, et élucider en outre la biologie de ces gonidies, afin de pouvoir comparer les résultats à ceux obtenus par d'autres auteurs pour d'autres espèces, c'est le but que je me suis proposé dans les expériences que j'ai faites et dont j'ai résumé les résultats dans les chapitres suivants.

J'ai commencé ces expériences par une série destinée à fixer quelle était la concentration de la solution minérale qui convenait le mieux à ces gonidies. Je désirais en outre savoir comment elles se comportaient vis-à-vis du glucose offert à différentes concentrations. Il s'agissait, en somme, d'entreprendre une série d'expériences parallèles à celles que R. CHODAT (11), KORNILOFF (19), LETELLIER (21) et WARÉN (36) avaient faites sur les gonidies d'autres genres de lichens.

J'ai préparé les milieux nutritifs suivants :

Detmer 1/1	Detmer 1/1+1% de glucose	Detmer 1/1+2% de glucose
Detmer 1/3	Detmer 1/3+1% de glucose	Detmer 1/3+2% de glucose
Detmer 1/10	Detmer 1/10+1% de glucose	Detmer 1/10+2% de glucose
Detmer 1/50	Detmer 1/50+1% de glucose	Detmer 1/50+2% de glucose
Detmer 1/100	Detmer 1/100+1% de glucose	Detmer 1/100+2% de glucose

Une deuxième série comprenant les mêmes solutions fut solidifiée par l'agar. J'ai versé ces milieux en raison de 40 cm³ dans des flacons Erlenmeyer contenant 100 cm³.

Ces milieux ont été stérilisés dans l'autoclave, où ils étaient soumis à une température constante de 115° C. pendant 20 minutes. Pour chaque variété de milieu et pour chaque gonidie de provenance différente, j'aiensemencé 5 flacons. Cela permettait de vérifier dans chaque cas si un résultat était accidentel ou si l'on pouvait réellement lui attribuer une valeur générale. L'expérience a montré que dans la grande majorité des cas, les cinq flacons témoins donnaient exactement les mêmes résultats. Par la suite, lorsque le nombre des flacons servant à mes expériences atteignit plusieurs milliers, j'ai abaissé à trois le nombre des flacons témoins. Je ne publie dans ce travail que les résultats obtenus d'une façon égale dans les trois flacons.

Les matériaux servant àensemencer les milieux solides provenaient d'une culture obtenue dans un milieu de Detmer dilué au tiers, additionné de glucose et agarisé. Les cellules furent transportées par un fil de platine ; je me suis par contre servi de pipettes préalablement stérilisées pourensemencer les milieux liquides. Je laissais tomber dans chacun une goutte contenant les gonidies, en ayant soin de ne pas infecter les milieux par ces manipulations.

Quant aux milieux solides, j'ai fait trois piqûres par flacon. Plus tard, j'ai abandonné ce système et je n'en ai fait plus qu'une, ayant observé qu'une seule piqûre donne une colonie mieux développée, possédant une morphologie plus caractéristique.

Lorsque le 25 octobre (deux mois après l'ensemencement), je notai le résultat obtenu dans cette série, une partie des milieux ensemencés avait donné des cultures plus ou moins vigoureuses, d'autres n'en avaient point. D'une manière générale, ce résultat était à prévoir. Car le milieu nutritif était tellement varié qu'il fallait s'attendre à un manque de développement, soit du côté des fortes concentrations, soit du côté des milieux dilués.

Parmi les flacons appartenant à un groupe de cinq (même milieu) où un développement avait eu lieu, celui-ci était du même degré. Dans les autres flacons, la culture avait péri. Ce fait me permet de présenter chaque groupe formé par les cinq témoins par une seule surface noire. J'ai évalué l'intensité du développement d'après l'intensité de la couleur d'une culture.

On pourrait me reprocher que la méthode d'évaluation que j'ai employée pour mesurer l'intensité du développement est imprécise. En effet, elle n'a pas la prétention d'être absolument précise. Toutefois, tout expérimentateur ayant fait un grand nombre de fois des évaluations de ce genre, sait que l'intensité de la teinte verte dans un flacon peut servir avantageusement d'échelle pour l'intensité du développement.

D'autres méthodes servant à des mesures de ce genre ont été employées par d'autres auteurs. WARÉN (22), par exemple, laisse par centrifugation, les algues se déposer au fond de tubes gradués. Le volume qu'elles occupent exprime directement l'intensité du développement. Cette méthode, sans doute, donne des résultats plus exacts que l'évaluation faite à l'œil. J'ai cependant contrôlé un grand nombre de fois mes résultats, en les évaluant encore par la méthode de WARÉN. Les différences qui résultaient de cette comparaison étaient si minimes, que j'ai suivi cette méthode dans toutes mes recherches. Mes observations avaient avant tout une valeur comparative ; et rien n'est, en effet, plus facile que de voir si dans un flacon il y a un développement plus fort ou moins fort que dans l'autre.

TREBOUX fit des évaluations analogues en déterminant le poids sec des algues, méthode qui certainement est précieuse dans certains cas.

Mais, soit la méthode de TREBOUX, soit celle de WARÉN (36), auraient été malcommodes pour être utilisées dans mon travail. Dans celui-ci, il s'agissait d'étendre les expériences à un vaste champ

d'investigation. Aussi était-il intéressant de noter les résultats à des intervalles réguliers et non pas une seule fois, ce que les deux méthodes précitées n'auraient pas permis. Elles auraient en outre causé des inexactitudes considérables dans les évaluations. Car très fréquemment — j'y reviendrai dans un chapitre spécial (v. p. 59) — il se formait dans les cultures liquides un dépôt de matière blanche-grisâtre soit sur le fond, soit sur la paroi interne du flacon, soit à la surface du liquide. Et le plus souvent cette matière ne pouvait pas être entièrement séparée des cellules vertes. C'est aussi la raison qui a rendu très difficile l'étude de cette matière elle-même.

L'évaluation de l'intensité de la teinte verte par l'œil nu, par contre, a pu tenir compte de tous ces faits. Elle a permis, en outre, de faire d'autres observations en grand nombre (étude de la multiplication, etc.)

J'ai représenté le résultat de cette série de cultures dans le tableau n° 1. La surface noire dans chaque carré exprime l'intensité du développement, c'est-à-dire la masse d'algues qui s'est formée dans chacun des milieux employés. Le résultat aurait certainement pu être représenté autrement.

J'aurais pu exprimer, par exemple, les différents degrés de développement par des chiffres allant de 1 à 10. Mais la méthode que j'ai employée me semble exprimer mieux les rapports qui existent entre les différentes séries.

Qu'est-ce que ce tableau nous apprend ?

Quant à la concentration des sels minéraux, on voit que la solution de Detmer, diluée au dixième, est la concentration la plus faible dans laquelle les gonidies puissent se développer. Même la présence de sucre n'y peut rien changer, mais on voit de plus que la solution minérale seule, si concentrée soit-elle, ne suffit pas pour déterminer un développement appréciable. Autrement dit : les gonidies n'ont pas été capables, dans les limites de cette expérience, de se développer en se procurant la nourriture par photosynthèse.

Quant au sucre, la concentration semble être d'une importance moins grande pour les gonidies. Le développement fut cependant légèrement plus intense dans les milieux contenant 2% de glucose que dans ceux qui n'en contenaient que 1%. Mais l'expérience ne laissait aucun doute qu'une forte concentration du milieu minéral combiné à une forte teneur en sucre donnait le meilleur résultat.

Quant à la spécificité des deux catégories de gonidies de prove-

	349		350	
	milieu liquide	solidifié	milieu liquide	solidifié
$\frac{1}{4}$ Detm. + 2 % Gl.	●		●	
$\frac{1}{4}$ Det. + 1 % Gl.	●		●	
$\frac{1}{4}$ Detm.				
$\frac{1}{3}$ Det. + 2 % Gl.	●	●	●	●
$\frac{1}{3}$ Det. + 1 % Gl.	●	●	●	●
$\frac{1}{3}$ Detm.				
$\frac{1}{10}$ Det. + 2 % Gl.	●		●	
$\frac{1}{10}$ Det. + 1 % Gl.	●		●	
$\frac{1}{10}$ Detm.				
$\frac{1}{50}$ Det. + 2 % gl.				
$\frac{1}{50}$ Det. + 1 % gl.				
$\frac{1}{50}$ Detm.				
$\frac{1}{100}$ Det. + 2 % gl.				
$\frac{1}{100}$ Det. + 1 % gl.				
$\frac{1}{100}$ Detm.				

Tableau 1. — Développement des *Cystococcus Parmeliae* ssp. *major* (350) et *C. Parmeliae* ssp. *minor* (349) sur milieux nutritifs solides et liquides, contenant les sels minéraux ainsi que le glucose, en des concentrations différentes.

nance différente, ces cultures obtenues en des milieux liquides ne fournissent pas de conclusion. Il y avait cependant (voir le schéma) bien des différences à noter entre les deux groupes des cultures ; mais celles-ci étaient sans régularité, de sorte que cette expérience à elle seule ne donne pas des résultats concluants. Par contre, l'autre partie des cultures, à savoir celles que j'avais exposées en milieux solidifiés par l'agar, se prêtaient particulièrement bien à cette étude. Cette seconde série comprenait toutes les sortes de milieux de la première ; elle n'en différait que par le fait qu'ils étaient tous solidifiés par l'agar-agar.

Parmi les flacons contenant ces milieux, il y en avait qui portaient de belles colonies vertes, et d'autres qui n'en avaient pas. Les gonidies n'étaient développées que dans les milieux sucrés ; dans les autres, il n'y en avait que des traces. Quant à la concentration des sels minéraux, les gonidies se comportaient différemment qu'en milieu liquide ; elles donnaient la préférence aux concentrations plus faibles.

La solution de Detmer diluée au tiers et additionnée de glucose semble leur convenir le mieux.

Quant à la teneur du sucre, les milieux à 2% donnaient des colonies légèrement plus grandes que ceux à 1% seulement. Parmi les cultures on pouvait, du premier coup d'œil, distinguer deux groupes. Les unes étaient d'un vert foncé et d'une taille considérable. Les autres, au contraire, étaient d'une teinte plus pâle et de taille plus petite. Ces dernières colonies appartenaient toutes au n° 350, toutes les autres au n° 349. Il n'y avait point de doute que mes deux gonidies n'étaient pas identiques. L'examen morphologique approfondi des deux groupes de colonies m'amenait au même résultat.

Cette série de cultures confirmait par conséquent entièrement le résultat que j'avais obtenu dans la série précédente, en ce qui concerne la spécificité des deux catégories de gonidies en culture. En effet, la forme des colonies, la structure de la surface, le grain plus fin de la gonidie n° 350, moins fin de l'autre gonidie, tous ces caractères se retrouvaient dans ces cultures. La différence de la couleur était, par contre, beaucoup plus accentuée dans cette série : celle du n° 350 était toute pâle, tandis que les colonies du n° 349 étaient d'un vert foncé. Mais le phénomène le plus étonnant de cette expérience, c'était que la gonidie n° 349 avait donné des

colonies 2-3 fois plus vigoureuses que la gonidie n° 350. C'était en contradiction avec le résultat de la première série. Ce n'est qu'au cours des expériences ultérieures que j'ai compris ce phénomène. Ces cultures avaient été exposées le 30 juin, le résultat a été noté le 25 octobre. Elles avaient donc passé l'été, tandis que les cultures de la série précédente étaient des cultures d'hiver. Les milieux — au moins en partie — les gonidies, l'endroit d'exposition, la méthode, bref, toutes les conditions pouvant influencer le développement des cultures — étaient restées les mêmes.

Seules la température et l'intensité lumineuse avaient changé. Or, toutes les cultures que j'ai faites m'ont montré qu'en été les conditions du développement sont extrêmement défavorables, tandis que l'hiver se prête bien mieux à la culture de ces gonidies. Ces cultures d'été m'ont montré par conséquent que la gonidie n° 350 supporte moins bien l'été (chaleur, lumière, etc.) que l'autre. Ces facteurs avaient, en effet, empêché un développement ordinaire du n° 350, tandis que le n° 349 s'est montré moins gêné dans son développement.

§ 4. CULTURES EN MILIEU LIQUIDE

Dans les expériences précédentes, les milieux aux concentrations les plus fortes, m'avaient donné le développement le plus intense des gonidies. J'y avais vu, en outre, que ces dernières sont très sensibles à l'intensité lumineuse. J'entrepris le 25 octobre une nouvelle série d'expériences du même genre, en choisissant des milieux encore plus riches en sels minéraux et en glucose.

Je préparais deux solutions minérales contenant les mêmes sels et ne différant l'une de l'autre que par la concentration de ces derniers. La composition et la proportion entre les sels minéraux correspondaient exactement à la solution de Detmer ; la quantité d'eau que j'ajoutais était seule différente. Au lieu de dissoudre les sels dans 1000 gr. d'eau, je n'ai ajouté respectivement que 750 et 500 gr. Les solutions correspondaient, par conséquent, à celle de Detmer 3/2 et 2/1. Chacune de ces solutions fut répartie dans 90 petits flacons d'Erlenmeyer, dont chacun contenait 30 cm³ du liquide, puis chacun de ces groupes fut encore une fois divisé en dix séries. Deux de ces dernières restaient telles quelles, les autres furent additionnées de glucose en des proportions montantes depuis

1% à 4%. Je possédais ainsi les milieux suivants, dont chacun occupait 18 flacons.

Detmer 3/2	Detmer 3/2+1% g.	Detmer 3/2+2% g.
Detmer 2/1	Detmer 2/1+1% g.	Detmer 2/1+2% g.

Detmer 3/2+3% g.	Detmer 3/2+4% g.
Detmer 2/1+3% g.	Detmer 2/1+4% g.

Ces milieux stérilisés furent ensemencés le 25 octobre 1927 par les deux gonidies n° 349 et n° 350 (groupe de *Parmelia*). Il y avait maintenant neuf cultures pour chaque gonidie et pour chaque sorte de milieu. Je les divisai encore une fois en trois lots et j'en exposai le premier à l'obscurité, le second à la lumière diffuse, et le troisième directement sous une fenêtre exposée au sud où le soleil donne avec intensité.

Cette série comprend donc tout un groupe d'expériences destinées à fournir des indications concernant : 1° le comportement des gonidies dans des milieux si variés ; 2° la spécificité et 3° l'influence de la lumière sur le développement. Cet arrangement permettait de suivre séparément le développement dans chacune de ces séries de milieux, mais puisque ces cultures étaient faites simultanément cela permettait en plus de les comparer les unes aux autres.

J'ai noté le résultat à trois époques successives. La première fois le 8 novembre (soit après deux semaines), la deuxième fois le 23 novembre (après quatre semaines) et une dernière fois le 14 décembre (après sept semaines). J'ai exprimé le résultat dans le schéma n° 2.

Qu'est-ce que ce tableau nous apprend et quelles conclusions faut-il en tirer ?

Considérons tout d'abord le résultat obtenu en quinze jours.

Obscurité. — Dans les milieux dépourvus de sucre, les gonidies ne s'étaient pas développées ; ni dans les milieux 3/2 Det., ni dans 2/1 Det., il y avait la moindre trace de cultures.

Dans les milieux sucrés, par contre, il y avait de belles cultures d'une teinte vert-foncé. Il y a lieu de traiter dès maintenant chacune

	N°1	$\frac{3}{2}$ D	$\frac{3}{2}$ D	$\frac{3}{2}$ D	$\frac{3}{2}$ D	$\frac{3}{2}$ D	$\frac{2}{4}$ D	$\frac{2}{4}$ D	$\frac{2}{4}$ D	$\frac{2}{4}$ D	$\frac{2}{4}$ D
			1%G	2%G	3%G	4%G		1%G	2%G	3%G	4%G
349	Obscurité		●	●	●	●		●	●	●	●
	Lumière diffuse		●	●	●	●		●	●	●	●
	Lumière directe		●	●	
350	Obscurité		●	●	●	●		●	●	●	●
	Lumière diffuse		●	●	●	●		●	●	●	●
	Lumière directe		.	.	●	●	.	.	●	●	●

N°2

349	Obscurité		●	●	●	●		●	●	●	●
	Lumière diffuse		●	●	●	●	.	●	●	●	●
	Lumière directe		.	.	●	●	.	●	●	●	●
350	Obscurité		●	●	●	●		●	●	●	●
	Lumière diffuse		●	●	●	●	.	●	●	●	●
	Lumière directe		.	●	●	●	.	●	●	●	●

N°3

349	Obscurité		●	●	●	●		●	●	●	●
	Lumière diffuse		●	●	●	●	.	●	●	●	●
	Lumière directe		.	.	●	●	.	●	●	●	●
350	Obscurité		●	●	●	●		●	●	●	●
	Lumière diffuse		●	●	●	●	.	●	●	●	●
	Lumière directe		●	●	●	●	.	●	●	●	●

Tableau 2. — Cultures en milieu liquide. Le résultat a été noté 15 jours (No 1), 24 jours (No 2) et 30 jours (No 3) après l'ensemencement. — *Cystococcus Parmeliae* ssp. *minor* — No 349 ; *Cystococcus Parmeliae* ssp. *major* — No 350.

des deux catégories de gonidies séparément. Le n° 349 avait donné des cultures qui se ressemblaient beaucoup les unes aux autres. La croissance était cependant légèrement plus dense dans les concentrations les plus fortes en sucre. Cette influence du glucose était plus évidente dans les milieux Detmer 2/1 que dans les milieux Detmer 3/2. Le n° 350 se comportait différemment. L'influence favorable sur le développement, qui doit être attribuée au sucre, se voit particulièrement bien dans les milieux Detmer 3/2 + 3% g. et Detmer 3/2 + 4% g. La vigueur des cultures augmente réellement dans cette série avec la teneur en glucose. La série analogue concernant les milieux Detmer 2/1 avec du sucre ne présente pas ce phénomène et même les meilleures cultures de cette série n'atteignent pas la vigueur de celles obtenues dans Detmer 3/2 + 4% resp. 3% g.

Lumière diffuse. — Dans les milieux dépourvus de sucre, les gonidies ne s'étaient pas développées; elles avaient, par contre, donné de belles cultures dans les milieux sucrés. Celles-ci ressemblaient beaucoup aux cultures obtenues à l'obscurité; elles mettent encore mieux en évidence l'action du sucre, qui est d'autant plus favorable pour le développement que sa concentration augmente. Un seul milieu (Detmer 3/2 + 4%) a provoqué un développement aussi fort que les cultures qu'on obtient à l'obscurité; mais d'une manière générale, les résultats obtenus en lumière diffuse sont moins bons que ceux obtenus à l'obscurité.

Lumière intense. — Milieux sans sucre: même résultat que dans les deux séries précédentes. Milieux sucrés: il y a une différence énorme en comparaison avec les cultures de l'obscurité et celles de la lumière diffuse. Quant au n° 349 dans les milieux Det. 3/2, un développement si faible n'a eu lieu qu'en présence de la plus forte teneur en sucre. Dans l'autre série 2/1 Det., les cultures sont plus denses; l'intensité du développement augmente avec la concentration du glucose. Le n° 350 a donné des cultures plus denses, tout en n'ayant rien donné dans les milieux relativement pauvres en sucre; ces cultures obtenues dans 2/1 Det. + 3% resp. 2/1 Det. + 4%, l'emportent de beaucoup sur toutes les autres de toute la série.

Résumé. — 1. Les deux gonidies, n° 349 et n° 350, se comportent différemment. Le n° 350 pour se développer, exige une concentra-

tion plus forte du sucre. Cette gonidie semble mieux supporter le soleil (en milieu liquide).

2. La lumière intense joue un rôle important dans la vie des gonidies. Elle empêche un développement dans les concentrations faibles soit en sels minéraux, soit en sucre. Mais si ces deux sources nutritives sont abondantes à la fois, alors la lumière vive provoque une croissance plus intense qu'on ne peut l'obtenir à l'obscurité et à la lumière diffuse ; autrement dit, une lumière intense est nécessaire pour que ces sources de carbone et de sels minéraux puissent être utilisées.

3. L'obscurité et la lumière diffuse ont eu sensiblement le même effet sur la croissance.

4. Dans les milieux dépourvus de sucre, les gonidies n'ont pas donné des cultures appréciables. Le développement a été nul ou si faible qu'il n'a pas pu être décelé.

L'examen des mêmes cultures, que j'ai fait deux semaines plus tard, a donné un résultat tout à fait analogue au premier. D'une manière générale, les différences entre les cultures s'étaient encore accentuées. En effet, la bonne influence de la concentration du glucose et des sels minéraux ressort avec plus de netteté. Ce n'est qu'après quatre semaines que j'ai pu constater un faible développement dans les flacons sans sucre exposés à la lumière. La gonidie n° 349 s'est encore ici montrée plus exigeante que la gonidie n° 350, quant aux sels minéraux. Tandis que cette dernière donne des cultures aussi vigoureuses en milieu Det. 3/2 sucré, qu'en milieu Det. 2/1 sucré, la première n'atteint la même vigueur que dans le second milieu. Le n° 350 s'est montré ici aussi plus sensible à la concentration du sucre que l'autre, ce qui ressort surtout de l'examen du groupe des milieux à concentration plus forte en sels minéraux. Les cultures, exposées au soleil, se sont, en grande partie, rattrapées en comparaison avec les cultures de l'obscurité et de la lumière diffuse. Elles ont, en effet, donné les cultures les plus fortes.

Soit à la lumière, soit à l'obscurité, toutes les cultures ont conservé une couleur vert-foncé. L'examen macroscopique et microscopique n'ont révélé ni l'un ni l'autre la moindre tendance à la décoloration des cellules.

Un troisième examen a été fait encore un mois plus tard (c'est-à-dire deux mois après l'ensemencement). Les résultats concernant l'influence du sucre et la richesse en sels minéraux, ainsi que la

spécificité des deux gonidies, n'avait pas changé. Les cultures exposées à l'obscurité et à la lumière diffuse avaient entièrement arrêté le développement. Les cultures de la gonidie n° 350, en milieux Det. 3/2 + 4% g. et Det. 2/1 + 4% seules semblaient être plus denses qu'un mois auparavant. La densité des cultures correspondantes de l'autre gonidie avaient, au contraire, diminué. La couleur était plus pâle. La plupart des cultures avaient déjà dépassé à ce moment le maximum du développement.

En examinant ces cultures, j'ai constaté, pour la première fois, une matière blanche divisée en petits morceaux de forme irrégulière, suspendue sur le liquide nutritif ou disposée sur la paroi interne du flacon. Cette substance était particulièrement abondante dans les flacons ayant donné des cultures vigoureuses ; elle manquait, par contre, dans les cultures faibles. J'ai essayé à plusieurs reprises de déterminer la nature chimique de cette substance sans aboutir à une certitude.

§ 5. DIFFÉRENTES GONIDIES ENSEMENCÉES DANS UN MÊME FLACON

Les différences que les expériences précédentes avaient révélées entre les deux gonidies en question n'auraient pas suffi pour en faire avec certitude deux espèces, sous-espèces ou variétés différentes. Leur culture simultanée dans un même flacon à milieu solidifié seule pouvait en fournir la preuve. Les cultures obtenues en milieux liquides sont précieuses pour mettre en évidence les différences physiologiques qui existent entre les différentes algues, mais j'ai hâte d'ajouter que ce ne sont pas ces caractères physiologiques seuls sur lesquels je baserai la spécificité des gonidies que je suis en train de décrire. M. R. CHODAT (10, 11) a insisté à plusieurs reprises sur le fait que les cultures développées en milieux solidifiés, peuvent mettre en évidence des caractères morphologiques tout à fait constants pour une algue donnée ; ces caractères sont de première importance pour une classification des algues inférieures.

J'aiensemencé, le 24 décembre 1927, les deux gonidies n° 349 et n° 350 simultanément dans six flacons contenant le milieu de Detmer au tiers additionné de 2% de glucose et solidifié. Dans chacun d'eux, je faisais 3 piqûres pour chacune des gonidies. Deux

de ces cultures furent exposées à l'obscurité, deux à la lumière diffuse, et deux à la lumière solaire intense. Les six flacons donnaient exactement le même résultat. On pouvait distinguer dans chacun et dès le début deux groupes de colonies, l'un représenté par les colonies de la gonidie n° 350, l'autre par la gonidie n° 349. La première différait de la dernière par la plus grande vitesse de croissance et par une teinte moins foncée. Après trois mois, ces colonies étaient 3-5 fois plus vigoureuses que les autres. Quant à la couleur, j'ai examiné les colonies de plus près. La différence de couleur entre les deux groupes de colonies s'accroissait de plus en plus. Tandis que le n° 349 conservait entièrement sa teinte aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière, les cultures n° 350, exposées à la lumière, pâlissaient de plus en plus et au bout de 7 mois elles étaient presque entièrement décolorées (v. Planche I, fig. 2). J'ai avant tout porté mon attention sur le mode de multiplication. Je suis ainsi arrivé à cette conclusion que cette différence de teinte n'est pas liée au mode de multiplication. Il ne peut, par conséquent, s'agir du même phénomène que WAREN (22) a décrit en disant : « Die Kolonien, die sich über drei Monate hellgrün erhielten, begannen von da an schwarzgrün zu werden und in zwei Wochen waren fast die ganzen Kolonien schwarzgrün geworden. Gleichzeitig mit dem Dunkelwerden wurde ein reichliches Auftreten von vegetativen Teilungsstadien beobachtet, während die Gonidien in dem hellgrünen Stadium sich vorwiegend mit gerundeten oft sogar freien Autosporen vermehrten. Die Farbe scheint demnach in irgend einer Beziehung zu der Vermehrung der Gonidienalge zu stehen. » Je n'ai pas rencontré ce phénomène dans mes cultures. Cette différence de teinte est par conséquent un caractère spécifique constant entre les deux gonidies.

La morphologie culturale était différente et correspondait entièrement à ce que j'avais trouvé dans les expériences précédentes.

L'ensemble des résultats ainsi obtenus dans plusieurs séries d'expériences ne laissait plus de doute en ce qui concerne la spécificité des deux gonidies. Celles-ci n'étaient pas identiques. J'ai donné le nom de :

Cystococcus Parmeliae ssp. *minor* à la gonidie du thalle de *Parmelia caperata* L., que j'avais récolté sur le tronc d'un chêne, à Bonneville (Haute-Savoie), alt. 470 m.

Cystococcus Parmeliae ssp. *major* à la gonidie du thalle de *Parmelia caperata* L., récolté sur le tronc d'un pommier dans la même région, à 20 mètres de distance.

Les autres observations, faites plus tard, et concernant la spécificité de ces gonidies, seront traitées dans le chapitre suivant.

§ 6. CULTURES COMPARATIVES ENTRE LES GONIDIES PROVENANT DES GENRES « PARMELIA » ET « CLADONIA »

Il devenait intéressant de comparer les gonidies du genre *Parmelia* avec celles du genre *Cladonia*. M. le Prof. CHODAT voulut bien mettre à ma disposition une série de cultures pures faisant partie de son algorithme. Quatre de ces cultures étaient des gonidies retirées de différentes espèces du genre *Cladonia*; une seule culture renfermait une algue isolée à l'état libre dans la nature.

C'étaient les algues suivantes :

1. *Cystococcus Cladoniae furcatae*, n° 60.
2. » *Cladoniae*, n° 63.
3. » *Cladoniae* ex. *Cl. endiviaefolia*, n° 104.
4. » *Cladonia* ex. *Cl. fimbriata*, n° 105.
5. » *cohaerens*, algue libre, n° 103.

Ces algues avaient déjà fait l'objet de recherches antérieures de R. CHODAT (11), KORNILOFF (19) et LETELLIER (21).

J'ai commencé la série de ces cultures comparatives en ensemençant six flacons contenant du Detmer agarisé avec 2% de glucose, simultanément des quatre gonidies du genre *Cladonia*, des deux gonidies du genre *Parmelia* et de l'algue libre *Cystococcus cohaerens*. J'ensemenciai les milieux à l'aide d'un fil de platine ; et j'arrangeai les piqûres en cercle de sorte que les colonies étaient éloignées de la même distance de la paroi du flacon. De cette façon elles étaient soumises aux mêmes conditions. Le 1^{er} octobre j'exposai deux de ces flacons à l'obscurité, deux à la lumière diffuse et deux à la lumière directe.

Voici les résultats que j'ai notés le 16 février 1928.

1. *Obscurité* : Toutes les espèces donnaient des colonies vigoureuses, dont la morphologie culturale était différente d'une colonie à l'autre. Cette morphologie correspondait entièrement à celle que j'avais constatée dans les flacons ne contenant qu'une seule espèce.

Quant à leur couleur, celle-ci variait également ; mais du premier coup d'œil on remarquait deux groupes, ou même trois. Deux colonies dans chaque flacon étaient vertes foncées. Ce sont les deux gonidies provenant de l'espèce *Parmelia caperata* L. Un deuxième groupe était formé par 4 colonies, dont la couleur, tout en variant d'une espèce à l'autre, était d'un vert plus clair, virant plutôt vers le jaune. C'étaient différentes espèces provenant du genre *Cladonia*. La colonie unique qui nous reste encore à décrire était celle de l'algue libre *Cystococcus cohaerens*. Elle était étalée formant une sorte de membrane épaisse. Elle était d'une teinte vert jaunâtre, beaucoup plus claire que les colonies du groupe précédent. Tous ces caractères étaient absolument identiques dans les deux flacons.

Je conservai ces cultures pendant presque une année à l'obscurité ; le résultat est demeuré le même. Les cultures des deux gonidies de *Parmelia* conservèrent leur teinte vert foncé et ne donnèrent jusqu'à la fin le moindre indice de décoloration. Les gonidies de *Cladonia* par contre perdirent de plus en plus leur teinte verte. Ces colonies ne se décoloraient cependant point, mais la teinte virait plutôt vers le jaune.

Lumière diffuse. — Ces cultures ressemblaient aux précédentes à tous les points de vue. La croissance fut cependant un peu moins rapide qu'à l'obscurité et surtout les gonidies de *Parmelia* donnèrent des colonies moins vigoureuses que celles de *Cladonia*. Les différences entre les deux gonidies de *Parmelia*, si caractéristiques dans d'autres cultures, étaient presque effacées. La différence de couleur entre les trois groupes de colonies était, par contre, plus évidente que dans les cultures exposées à l'obscurité.

Lumière intense. — Les cultures exposées derrière une fenêtre et recevant le soleil à midi donnèrent un résultat analogue à celui des séries précédentes. Elles permirent, en plus, d'y ajouter une observation importante. D'une manière générale, les colonies se développèrent moins rapidement que dans les cultures exposées à l'obscurité et à la *lumière diffuse*. Ce développement était particulièrement ralenti pour les gonidies de *Parmelia*. Celles-ci n'avaient une teinte vert foncé qu'aux tout premiers stades du développement. Déjà après trois semaines, une décoloration commençait à apparaître sur les bords de ces colonies, et à la fin d'un mois, ces deux cultures (d'une manière identique dans les deux flacons) étaient entièrement

décolorées. Ces colonies étaient alors d'un blanc pur, tandis que, toutes les gonidies du genre *Cladonia* avaient conservé leur teinte vert pomme caractéristique. Un mois plus tard, les colonies du *Cystococcus cohaerens* commençaient également à se décolorer ; mais, même après onze mois, elles avaient encore une couleur jaune verdâtre.

J'aurai encore plusieurs fois, au cours de ce travail, l'occasion de revenir sur l'une ou l'autre de ces observations. Pour l'instant, je n'insiste que sur le phénomène de la spécificité. Cette série d'expériences a montré avec une netteté remarquable que les gonidies provenant de plusieurs espèces du genre *Cladonia* forment entre elles un groupe ; celui-ci s'oppose nettement aux deux gonidies provenant d'une espèce du genre *Parmelia* qui, entre elles, forment également un groupe.

Les différences qui existent entre les gonidies appartenant à un même genre de lichen sont moins grandes que celles qui existent entre deux espèces appartenant à des genres différents.

J'ai présenté les cultures dont je viens de parler, en séance : 1^o le 16 février 1928, à la Société de Physique et d'Histoire naturelle de Genève ; 2^o le 1^{er} septembre 1928 à la Société suisse de Botanique réunie lors de l'assemblée annuelle de la Société Helvétique des Sciences naturelles à Lausanne ; 3^o le 18 mars 1929 à la Société botanique de Genève.

Aucun des savants présents à ces séances m'a exprimé le moindre doute concernant l'exactitude de mes observations ainsi que la justesse de leur interprétation.

J'ai donné une photographie de ces cultures, tout en me rendant compte que cette illustration ne peut donner qu'une idée incomplète de l'aspect naturel de ces cultures (planche I, n^{os} 3, 4).

§ 7. DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS DU GLUCOSE

Ayant constaté à plusieurs reprises l'influence que la teneur en sucre d'une part et la concentration des sels minéraux d'autre part exercent sur la vitesse de croissance, il s'agissait maintenant de déterminer leur rôle sur les cultures développées dans des milieux de concentration bien différente. J'espérais, en outre, obtenir par les mêmes expériences, de nouvelles indications concernant la spécificité des différentes gonidies. La première expérience était destinée

à mettre en évidence l'importance de la teneur en glucose ajouté à une solution de Detmer diluée au tiers. J'ai préparé dans ce but les milieux suivants :

1. La solution de Detmer diluée au tiers additionnée de 2% de glucose.

2. La même solution additionnée de 10% de glucose.

J'aiensemencé le 10 décembre 1927 six flacons par sorte de milieu et par espèce de gonidie, et j'en ai exposé la moitié à l'obscurité et l'autre moitié à la lumière diffuse. J'ai représenté dans le tableau n° 3 (les deux dernières colonnes) le résultat, noté le 10 janvier 1928. Il en résulte que le groupe des gonidies de *Cladonia* ainsi que le *Cystococcus cohaerens* s'opposent au groupe des deux gonidies du genre *Parmelia*. La différence entre les deux se manifeste tout d'abord par une différente vitesse de croissance. Toutes les gonidies de *Cladonia* croissent plus vite que celles de *Parmelia*. Il ressort en plus de ces expériences que les gonidies de *Cladonia* peuvent supporter 10% de glucose; cependant, la solution qui n'en contient que 2% leur convient aussi bien que l'autre. On ne voit, en effet, aucune différence entre les cultures correspondantes dans les deux séries de milieux. Il n'en est pas de même pour les gonidies de *Parmelia*. Celles-ci ont donné des cultures plus vigoureuses dans le milieu le plus riche en sucre, qu'en milieu moins riche. Ces algues sont donc plus exigeantes quant à la source organique du carbone.

§ 8. CULTURES EN MILIEU RICHE EN GLUCOSE

J'ai été surpris de voir que les gonidies non seulement supportaient une solution nutritive extraordinairement forte en sels minéraux ainsi qu'en glucose, mais qu'elles exigeaient même un tel milieu. Elles se distinguent par ce caractère de la plupart des algues libres, étudiées jusqu'à présent à ce point de vue.

Dans les expériences précédentes, les milieux contenant la plus forte dose de glucose (4%) m'avaient donné le développement le plus intense. Il était donc intéressant de continuer l'étude du développement en fonction de la concentration du milieu et de voir quelles sont les concentrations optima et maxima. Les résultats éventuels étaient en même temps susceptibles de me renseigner sur la spécificité des gonidies soumises à l'expérience, ainsi que sur leur manière de réagir vis-à-vis de la lumière.

		pH 4,2 2D + 10%	pH 4,2 1D + 10%	pH 4,2 1/3D + 10%	pH 4,9 1/3D + 10%	pH 4,9 1/3D + 2%
350	Obscurité	●			●	●
	Lum. diffuse	●	●	●	●	●
349	Obscurité	●			●	●
	Lum. diffuse	●	●	●	●	●
104	Obscurité	●			●	●
	Lum. diffuse	●	●	●	●	●
105	Obscurité	●			●	●
	Lum. diffuse	●	●	●	●	●
103	Obscurité	●			●	●
	Lum. diffuse	●	●	●	●	●
63	Obscurité	●			●	●
	Lum. diffuse	●	●	●	●	●
60	Obscurité	●			●	●
	Lum. diffuse	●	●	●	●	●

Tableau 3. — Développement des *Cystococcus Parmeliae* ssp. *minor* (No 349) et *C. Parmeliae* ssp. *major* (No 350) dans des milieux différents, soit par la concentration des sels minéraux (colonnes 1-3), soit par la concentration du sucre (colonnes 4-5).

J'ai préparé une série de milieux (neuf flacons par espèce de gonidie) contenant la solution de Detmer diluée au tiers, additionnée de 10% de glucose. J'aiensemencé le même jour toutes les gonidies qui étaient à ma disposition, ainsi que le *Cystococcus cohaerens* et j'ai exposé un tiers de ces cultures à l'obscurité, un tiers à la lumière diffuse et le reste à la lumière électrique continue.

Au bout d'un mois, j'ai noté le résultat suivant :

Obscurité. — Toutes les cultures s'étaient développées d'une manière uniforme. La densité des algues était sensiblement la même dans tous les flacons. Quant à la teinte, on pouvait, par contre, nettement distinguer deux groupes : 6 flacons accusaient une couleur vert foncé ; la teinte des autres, plus ou moins uniforme, était d'un vert plus clair. Les cultures du premier groupe appartenaient toutes aux deux gonidies du genre *Parmelia*, les autres aux gonidies du genre *Cladonia*. Dans ce groupe, le *Cystococcus cohaerens* avait donné une teinte légèrement plus claire, virant vers le jaune de sorte que ces cultures se distinguaient des autres.

L'examen ultérieur de ces cultures n'a pas ajouté de nouveaux résultats. Les gonidies de *Parmelia* ont conservé pendant huit mois leur teinte vert foncé ; les autres ont légèrement pâli. La couleur des cellules était même conservée lorsque, après une année, tout le liquide s'était évaporé.

Lumière diffuse. — Le résultat n'était que très peu différent de celui obtenu dans l'obscurité. Les cultures des gonidies de *Parmelia* seules étaient moins vigoureuses que les autres au cours du premier mois. Mais, plus tard, cette différence s'effaçait. Comme les cultures exposées à l'obscurité, celles en lumière diffuse ont gardé leur teinte durant plus de huit mois.

Lumière électrique continue. — Pendant les trois premières semaines, ces cultures ne différaient de celles que je viens de décrire que par le développement beaucoup plus intense. Les teintes correspondaient entièrement à celles obtenues à l'obscurité et à la lumière diffuse. Mais déjà une semaine plus tard, j'ai constaté un changement de couleur dans les cultures des gonidies de *Parmelia*. Dans ces flacons, la teinte verte disparaissait peu à peu et une couleur brun pâle apparaissait. Ce changement s'annonçait d'abord dans les flacons contenant la gonidie n° 350 (*Cystococcus Parmeliae* ssp. *major*), l'autre sous-espèce n° 349 (*Cystococcus Parmeliae* ssp. *minor*) présentait le même phénomène avec un retard d'une semaine

environ. Dans les trois flacons, contenant la même gonidie, le résultat était qualitativement et quantitativement le même. Au bout de deux mois, la couleur des cultures de *Parmelia* était d'un jaune d'or, le n° 350 d'un jaune plus clair ; le n° 349, par contre, était jaune-brun. A la même époque, les autres cultures, appartenant aux quatre espèces de gonidies du genre *Cladonia*, continuaient à se présenter avec la même teinte qu'au début. Cette teinte pâlit légèrement dans la suite mais, même après plus de six mois, ces cultures étaient encore vertes, d'une façon plus ou moins uniforme. Elles se montraient nettement opposées aux cultures analogues du genre *Parmelia*.

A la suite de cette expérience, j'en mentionnerai encore une autre qui s'en rapproche par le résultat qu'elle a donné. J'avais exposé, simultanément avec les cultures que je viens de décrire, à la lumière électrique continue, six autres flacons, dont le milieu nutritif différait des précédents par sa teneur en sels minéraux. Au lieu de diluer la solution de Detmer au tiers, je l'ai employée telle quelle, en ajoutant également du glucose à raison de 10%. J'ai inoculé dans la moitié de ces flacons la gonidie n° 350, dans l'autre moitié la gonidie n° 349.

J'ai noté, en même temps que le précédent, le résultat que voici :

Le développement de ces cultures se faisait plus rapidement que celui des cultures analogues en milieu dilué. La couleur verte se maintenait deux semaines plus longtemps. Ce n'est qu'à partir de la sixième semaine que j'apercevais, dans les cultures n° 350, un changement de couleur. La teinte jaune apparaissait peu à peu d'une manière tout à fait analogue à ce que j'avais vu dans les cultures correspondantes de l'autre série. Le même phénomène se produisit une semaine plus tard dans les cultures n° 349. Cette expérience me montrait avec netteté qu'une teneur plus forte en sels minéraux retarde le changement de couleur des cultures des gonidies du genre *Parmelia*.

Je reviendrai sur ces phénomènes dans un chapitre spécial. Ces cultures m'avaient appris, d'une part, que les gonidies prospèrent dans une solution contenant 10% de glucose et, d'autre part, que la teneur en sels minéraux a une certaine influence sur les phénomènes que ces cultures présentent. Mais, ce qui est le résultat le plus intéressant, c'est qu'un nouveau phénomène est venu confirmer la spécificité qui existe entre les deux groupes de gonidies,

c'est-à-dire celles de *Cladonia* et celles de *Parmelia*. Mais on observait aussi, sur ce même milieu, une différence entre ces deux gonidies appartenant au genre *Parmelia*.

En étudiant d'une façon suivie les cultures que je viens de décrire pendant les trois premières semaines, j'ai fait des observations intéressantes touchant encore le problème de la spécificité. Dans les cultures étudiées précédemment à celles-ci, en milieux liquides et moins riches en sucre, ce n'était guère que la teinte qui avait permis de distinguer les différentes espèces des gonidies. Dans cette série, par contre, chaque espèce se présentait sous un aspect caractéristique permettant de reconnaître du premier coup d'œil les flacons correspondants appartenant à une espèce.

Voici ce que j'ai observé :

n° 105. — Cette gonidie formait des petites boules vertes dispersées sur le fond des flacons. C'étaient des véritables « colonies » en milieu liquide, produites par le fait que les cellules en voie de division étaient restées attachées les unes aux autres. Ces globules, plus ou moins sphériques, avaient des dimensions variées ; les plus grandes ont atteint un diamètre moyen de 3 mm. environ.

n° 104. — Les assemblages de cellules étaient moins fréquents et de plus petites dimensions. Le fond du verre était couvert par une couche verte et épaisse de gonidies.

n° 63. — Voile léger, ondulé et boursoufflé, tapissant le fond du flacon.

n° 103. — Ces algues formaient un tapis continu ; celui-ci était plus dense et plus cohérent que dans l'espèce précédente, de laquelle notre algue différait, en outre, par sa teinte plus claire.

n° 349. — Les cellules restaient en partie attachées les unes aux autres pour former des cordons minces, traversant la solution dans tous les sens.

n° 350. — Cette gonidie ne présente pas l'aspect caractéristique de la précédente. La matière verte couvrait, sous forme définie, le fond du flacon et restait en partie suspendue dans le liquide, de sorte que celui-ci prenait une couleur vert foncé ; la croissance fut cependant plus rapide que chez la gonidie précédente.

Ces aspects caractéristiques étaient le plus visible dans les cultures exposées à la lumière électrique. Ils étaient moins nets à la lumière diffuse et à l'obscurité ; mais encore là, on pouvait reconnaître les différentes espèces par ces caractères.

§ 9. ÉTUDE DES CULTURES EN MILIEUX RICHES EN SELS MINÉRAUX ET EN SUCRE

Il s'agit ici d'une grande série de cultures comprenant simultanément plusieurs expériences, dont le résultat de chacun pouvait être poursuivi séparément; mais les expériences étant faites exactement dans les mêmes conditions, cela me permettait de comparer les résultats partiels entre eux et d'en tirer des conclusions. J'ai préparé les solutions nutritives Detmer 2/1 + 20% de glucose et Detmer 1/3 + 20% glucose dont j'aiensemencé, le 16 janvier 1928, la moitié des flacons avec la gonidie n° 349, et l'autre moitié avec la gonidie n° 350, puis j'ai divisé chacune de ces deux séries de cultures en trois parties, dont j'ai exposé une à la lumière électrique continue, une autre à la lumière diffuse, et le reste à l'obscurité. Dans chacune des trois séries j'ai toujours inoculé 3 flacons contenant le même milieu et la même gonidie, pour être à l'abri soit des infections, soit d'erreurs systématiques provenant du vase de culture. Mais j'ai préparé cette série entière six fois et j'en ai ajusté (naturellement avant l'inoculation) chacun à un pH différent.

J'avais alors un champ d'expérience très vaste comprenant les cultures indiquées dans le schéma suivant.

J'ai noté le 3 février (c'est-à-dire 18 jours après l'ensemencement) le premier résultat que voici :

Lumière électrique continue. — Les flacons Detmer 2/1 + 20% glucose pH 4,2 avaient donné de belles cultures; de même les flacons Detmer 1/3 + 20% de glucose pH 4,8. Dans tous les autres milieux, aucun développement ne fut perceptible. Les cultures d'une gonidie ne se distinguaient point de celles de l'autre, de même qu'il n'y avait pratiquement pas des différences entre les cultures en milieu Detmer 2/1 + 20% g. pH 4,2 et Detmer 1/3 + 20% g. pH 4,8.

Lumière diffuse. — Le résultat ressembla à celui obtenu dans la série précédente, mais les cultures étaient moins avancées.

Obscurité. — Les cultures sont tout à fait semblables à celles de la lumière diffuse.

Résultats notés plus tard :

Lumière électrique continue. — Les cultures apparues les premières se développaient régulièrement en donnant à la solution une teinte verte de plus en plus dense. En examinant les cultures

le 28 février, j'ai constaté qu'entre temps un développement avait eu lieu dans les milieux Detmer 2/1 + 20% g. pH 4,8 et Detmer 2/1 + 20% g. pH 5,3. Comparées aux cultures correspondantes en pH 4,2, elles sont selon leur développement tardif moins denses. Dans la suite, dans aucun des autres flacons, une culture ne s'est annoncée. Le 14 avril, les cultures avaient atteint la même vigueur dans tous les flacons de la série exposée à la lumière électrique. Il était intéressant de noter le changement de couleur apparaissant dans ces cultures. Celui-ci commençait le 15 mars dans les cultures Detmer 1/3 + 20% g. ; deux semaines plus tard, ce phénomène se présenta en Detmer 2/1 + 20% g. pH 4,2 et bien plus tard aussi dans le reste des cultures.

A la lumière diffuse, les cultures se sont comportées d'une manière analogue à celle que je viens de décrire. Un développement s'annonça tardivement dans les milieux Detmer 2/1 + 20% g, pH 4,8. Ces cultures étaient toujours moins vigoureuses que celles de la lumière électrique et même après quatre mois, elles n'ont pas atteint une teinte verte aussi intense que ces dernières. Le changement de couleur n'a pas eu lieu, ce qui correspond au résultat obtenu. Les cultures exposées à l'obscurité ont donné un résultat tout autre. Dans cette série, de nouvelles cultures ne se sont plus développées, de sorte que celles en milieux Detmer 2/1 + 20% g. pH 4,2 et Detmer 1/3 + 20% g pH 4,8 sont restées les seules.

Il fut étonnant de voir que, dans le premier milieu, le n° 349 s'est développé plus rapidement que le n° 350 ; cette différence s'est d'ailleurs éteinte plus tard.

Quelles conclusions faut-il tirer de ces expériences ? On voit tout d'abord que dans certaines conditions, les gonidies donnent encore des cultures très vigoureuses dans ces concentrations extrêmement fortes en sels minéraux et en glucose. Dans les mêmes solutions, la grande majorité des algues refusent de se multiplier. La lumière joue également un rôle dans le développement dans ces milieux ; il était intéressant de constater une parfaite analogie entre les résultats obtenus dans cette série d'expériences et ceux obtenus dans les deux séries de milieux Detmer 3/2 + sucre et Detmer 2/1 + sucre, également exposées dans les mêmes conditions (voir page 35).

On a observé que, dans les premières semaines, le résultat était le même quelle que soit la concentration des sels minéraux, pourvu

que ces sels soient accompagnés d'une forte dose de sucre. L'influence de la richesse en sels ne s'est manifestée que plus tard. Une autre analogie entre les deux séries consiste dans le fait que dans les milieux les plus riches en sels, une lumière intense déploie le développement maximum, autrement dit qu'une lumière intense est nécessaire pour rendre accessible les matières nutritives offertes aux gonidies en si grande quantité. On ne saurait toutefois pas attribuer à la lumière électrique continue les mêmes effets qu'à la lumière solaire intense. On a vu que cette dernière ralentit considérablement au début le développement dans tous les milieux et qu'elle l'empêche entièrement dans les milieux moins riches en sels minéraux.

Tel n'est point le cas pour la lumière électrique. On voit au contraire que, quelle que soit la concentration en sels ou en sucre, les cultures sont dès les premiers stades en avance sur les cultures analogues exposées à l'obscurité et à la lumière diffuse. La lumière électrique continue a donc de réels avantages sur la lumière solaire. Elle semble, en effet, contenir ce qui est nécessaire à amener les cultures à un maximum de développement dans les milieux riches en sels et elle ne contient pas le facteur qui ralentit ou empêche même le développement en milieu pauvre en sels et exposé à la lumière naturelle intense.

Au bout de six semaines, les cultures Detmer 1/3 + 20% g. pH 4,8 ont commencé à jaunir et deux semaines plus tard ces cultures furent toutes d'une teinte jaune doré, plus ou moins uniforme. Dans les cultures analogues en milieu Detmer 2/1 + 20% g., ce changement de la couleur ne se présentait pas encore à cette époque ; ce phénomène ne s'y produisit que plus tard et plus lentement.

Ni à l'obscurité, ni en lumière diffuse, je n'ai constaté le moindre indice d'un phénomène analogue. Tout ce qui concerne dans cette série le changement de la teinte, est en parfait accord avec toutes les observations notées précédemment : le phénomène ne s'est produit qu'à la lumière électrique ; et il apparaît d'autant plus précoce, que la concentration des sels minéraux (nitrate) est faible.

Il nous reste encore à examiner l'influence que le pH a sur le développement. Un coup d'œil sur le schéma représentant la vigueur des cultures, nous montre que l'acidité actuelle joue un grand rôle dans le développement des gonidies. Ce qui nous frappe le plus,

pH:	$\frac{2}{1}$ Det. + 20% Glucose						$\frac{1}{3}$ Det. + 20% Glucose						
	Obscurité		Lum. diffuse		Lum. électrique		Obscurité		Lum. diffuse		Lum. électrique		
	349	350	349	350	349	350	349	350	349	350	349	350	
3,4
3,7
3,9
4,2	●	●	●	●	●	●
4,8	.	.	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
5,3	.	.	●	●	●	●	/	/	/	/	/	/	/

Tableau 4. — Développement des *Cystococcus Parmeliae* ssp. *minor* Jaag (No 349) et *C. Parmeliae* ssp. *major* Jaag (No 350) en milieux liquides, différents par la concentration des sels minéraux ainsi que par le pH.

c'est que le seuil et l'optimum de la concentration en ions d'hydrogène sont les mêmes pour une sorte de milieu. Considérons tout d'abord les cultures dans le milieu Detmer 2/1 + 20% g. Soit à la lumière continue électrique, soit à la lumière diffuse, soit à l'obscurité le pH 4,2 a donné les premières colonies. Les autres (pH 4,8 et pH 5,3) n'arrivèrent que tardivement, à la lumière électrique et diffuse, tandis qu'à l'obscurité les flacons correspondants ne donnèrent point de cultures. On dirait, d'après cette expérience, que le seuil du développement est autour du pH 4,2, acidité qui représente en même temps l'optimum. La lumière en différentes intensités, n'a pas modifié le résultat dans notre cas. Mais on pouvait prévoir que soit l'optimum, soit le seuil du pH peut être déplacé par certains facteurs. Les séries parallèles, à savoir Detmer 2/1 + 20% glucose, d'une part, et Detmer 1/3 + 20% d'autre part, nous ont révélé la richesse en sels minéraux comme étant un de ces facteurs. Quoique les mêmes sels nutritifs, les mêmes méthodes de travail et les mêmes gonidies avaient servis à l'expérience, des différences remarquables se sont manifestées en comparaison avec la série d'expériences précédente. Le seuil du développement est au pH 4,8 ; dans les milieux plus acides, aucun flacon a donné une culture. Je n'ai malheureusement — faute de flacons — pas eu des milieux

représentant un pH supérieur à pH 4,8. Il aurait été intéressant de comparer le résultat avec celui de la série précédente. L'intensité de la lumière a produit un phénomène juste contraire à celui que j'avais constaté dans les milieux Detmer 2/1 + 20% g. pH 4,2. Les meilleures cultures ont été obtenues à l'obscurité, les plus faibles à la lumière électrique. C'est également en parfait accord avec l'autre expérience faite dans les séries Detmer 3/2+1-4% de glucose et Detmer 2/1 + 1-4% de glucose. Là aussi, j'avais trouvé que dans les premiers stades, les cultures sont plus fortes à l'obscurité en milieu moins riche en sels minéraux mais combiné à une forte dose de glucose. La différence dans la teneur en sels, réalisée dans cette série, étant beaucoup plus accentuée que dans l'autre série, il n'est point surprenant que le résultat aussi soit plus accentué.

La théorie de la spécificité entre les deux gonidies n'a pas trouvé de nouveaux appuis dans cette série.

§ 10. INFLUENCE DU pH SUR LE DÉVELOPPEMENT DES GONIDIES

§§ 1. Considérations générales

Cette étude n'a pas été faite jusqu'à présent pour les gonidies des lichens. Parmi les nombreux problèmes qui se rapportent au pH, les suivants m'ont paru d'un intérêt particulier pour la compréhension de la biologie des lichens : est-ce que le pH du milieu joue un rôle dans le développement des gonidies, ou ce facteur est-il au contraire sans importance dans leur vie ? On attribue aux gonidies la faculté de pénétrer dans la roche du substratum en sécrétant des acides. E. BACHMANN (3) en dit : « Die Pharcidiazellen sondern demnach die kalklösende Säure nur in minimaler Menge ab, im Gegensatz zu den Algen, von denen sie so reichlich erzeugt wird, dass die von ihnen gebildeten Höhlen, wie ich früher (4) nachgewiesen habe den Algenkörper selbst an Volumen um das mehrfache übertreffen ».

Le problème se posa par conséquent ainsi : Les gonidies en culture pure, isolées du champignon, sécrètent-elles des acides ; changent-elles la réaction du milieu nutritif ? Finalement, il était à examiner si la réaction du milieu peut influencer la forme des cellules.

Pour aborder ces problèmes, toute une série d'expériences préliminaires d'ordre technique étaient nécessaires. Il s'agissait tout d'abord, de vérifier si, dans les flacons de culture, on pourrait maintenir un pH constant pendant une longue durée d'expérience. M. OETTLI (24) dans son travail a constaté que des changements considérables du pH ont lieu durant la stérilisation. Cet auteur avait employé des éprouvettes pour les cultures. J'ai préféré des flacons d'Erlenmeyer. Dans les expériences préliminaires que j'ai faites, dans l'intention de trouver une méthode suffisamment précise et applicable sur un grand champ d'expériences, j'ai procédé de la manière suivante :

J'ai déterminé par colorimétrie (appareil de HELLIGE) le pH d'une solution nutritive contenue dans un grand flacon de deux litres. Je l'ai ensuite réparti dans des flacons plus petits, contenant 100 cm³ et j'ai déterminé le pH dans chacun à des intervalles de temps réguliers. J'ai ensuite stérilisé et re-stérilisé les mêmes solutions dans les mêmes flacons et déterminé de nouveau les réactions.

Voici les expériences que j'ai faites :

§§ 2. Expériences préliminaires.

1. De l'eau distillée fournie par l'Ecole de Chimie de Genève, a été répartie à raison de 70 cm³ dans quinze flacons d'Erlenmeyer contenant 100 cm³.

La répartition a eu lieu le 17 novembre à 14 heures ; une première détermination fut aussitôt faite dans tous les flacons. Puis ces derniers furent exposés dans la salle de physiologie et des déterminations furent répétées à trois intervalles de temps.

Voici les résultats que j'ai notés :

le 17 novembre à 14 h.	pH 6,5	} Chaque fois, les 15 flacons ont donné le même résultat.
à 16 h.	6,7	
le 18 novembre à 17 h.	7,4	
le 19 novembre à 17 h.	7,4	

Cette expérience montre que le liquide réparti dans les flacons s'alcalinise. C'est sans doute dû à l'attaque du verre.

2. L'eau distillée fut chauffée pendant 5 minutes à 80° C. et ensuite répartie dans les flacons de même grandeur et de même qualité de verre. J'ai noté le résultat suivant :

Le 17 novembre à 9 h.	pH 6,6
à 14 h.	» 7
Le 18 » à 14 h.	» 7,3
Le 19 » à 14 h.	» 7,4
Le 22 » à 14 h.	» 7,4

On voit qu'en chauffant l'eau distillée, on a chassé une partie de l'anhydride carbonique dissous, ce qui l'a rendu un peu moins acide. L'effet dû au verre est le même que dans l'expérience précédente ; dans les deux cas, le pH 7,4 représente un état d'équilibre, qui se maintient.

3. L'eau distillée fut bouillie pendant 15 minutes.

le 17 novembre à 15 h.	pH 6,8	} dans 10 flacons
le 18 novembre à 15 h.	pH 7,2	
le 22 novembre à 15 h.	pH 7,3	} dans 2 flacons dans 8 flacons.
	pH 7,4	

Cette expérience confirme les deux premières en ce qui concerne l'action alcalinisante du verre ; par l'ébullition du liquide, le gaz carbonique fut chassé plus complètement.

4. Au lieu d'eau distillée, j'ai déterminé le pH de la solution minérale de Detmer fraîchement préparée.

le 17 novembre à 16 h.	pH 5,8	dans 10 flacons.
le 18 novembre à 16 h.	{ 5,8	dans 3 flacons.
	{ 5,9	dans 7 flacons.
le 19 novembre à 16 h.	{ 5,8	dans 1 flacon.
	{ 5,9	dans 9 flacons.
le 20 novembre à 16 h.	{ 5,9	dans 5 flacons.
	{ 6	dans 5 flacons.

La solution de Detmer est toujours acide ; c'est dû au phosphate de potassium acide, dissous dans la solution. L'influence du verre est moins sensible que dans les expériences précédentes.

5. Cette expérience ressemble à la précédente en ce qui concerne la solution. J'ai, par contre, réparti celle-ci en des flacons de verre et de forme légèrement différents. La moitié des flacons avait une ouverture large, les autres une ouverture étroite ; ces derniers portent la marque « Cavalier 100 » ; les précédents n'avaient pas de marque. Tous les flacons (10 de chaque sorte) avaient au début de l'expérience un pH de 5,6.

24 heures plus tard, j'ai noté un pH 5,6 dans tous les flacons à

ouverture large ; parmi les autres, j'ai trouvé un pH de 5,6 dans deux flacons, 5,7 dans 7 flacons et 5,8 dans 1 flacon.

6. Ayant vu dans l'expérience précédente la différente réaction des deux sortes de verre, je l'ai répétée tout en la modifiant légèrement.

J'ai de nouveau rempli 15 flacons de chaque sorte de verre de la solution de Detmer. Le pH fut uniformément de 5,6. Puis je les ai stérilisés et j'ai déterminé la réaction que voici :

15 flacons à ouverture élargie	pH 4,8
7 » » étroite	» 4,8
6 » » »	» 4,9
2 » » »	» 5

Cette expérience ne laisse pas de doute que les flacons à ouverture élargie se prêtent mieux pour des recherches de ce genre que les autres ; j'ai par conséquent éliminé autant que possible ces derniers dans les cultures ultérieures.

7. La solution de Detmer fut répartie dans seize flacons d'Erlenmeyer, qui avaient tous un pH de 5,7. Ensuite tous ces flacons furent soumis, dans l'autoclave, à une température de 115° C., pendant 20 minutes. Ce traitement correspond à la stérilisation des milieux nutritifs. Résultat :

Avant la stérilisation	pH 5,7 dans 16 flacons
1 heure après la stérilisation	{ 5,0 dans 15 flacons 4,9 dans 1 flacon
2 jours après la stérilisation	5,0 dans 16 flacons
3 » » »	5,0 dans 16 flacons
9 » » »	{ 5,0 dans 15 flacons 5,1 dans 1 flacon

Cette expérience fut d'une grande importance pour mes recherches ultérieures. Elle montre que le milieu est rendu plus acide par la stérilisation ; l'influence alcalinisante du verre, après la stérilisation, est insignifiante. Les changements du pH sont sensiblement les mêmes dans tous les flacons, ce qui permet d'employer des séries de milieux sans risquer que le pH subisse des changements inégaux.

Toute une série d'autres expériences de ce genre, que j'ai faite, m'ont donné la certitude qu'après la stérilisation, le pH du milieu se maintient suffisamment constant pour des recherches exactes. Une deuxième et même une troisième stérilisation ne le changent

plus. Des centaines de déterminations du pH, que j'ai faites dans des milieux de contrôle, c'est-à-dire des milieux non ensemencés, huit mois après l'exposition, n'ont révélé dans la grande majorité des cas qu'une variation du pH de 0,1 à 0,2 au maximum. Le résultat fut le même, quelle que soit la composition de la solution nutritive. J'ai ajusté ces milieux au pH voulu en ajoutant de l'acide acétique glacial ou de la soude caustique normale. L'acidification ne rencontre aucune difficulté ; il fut, en effet, facile d'obtenir des séries de milieux ne différant l'un de l'autre que par une fraction de 0,1. L'alcalinisation, au contraire, fut moins facile. A partir du pH voisin de la neutralité, le liquide se troubla au fur et à mesure que j'ajoutais de la soude caustique ; un précipité blanc caséux se forma. Ce précipité était constitué par les hydrates des métaux, presque insolubles dans l'eau. Le milieu nutritif fut ainsi modifié. C'est pourquoi je n'ai fait mes expériences que dans la série acide.

Ces expériences préliminaires m'ont indiqué la méthode à suivre dans des expériences de cultures à pH différent. J'ai dû utiliser de la verrerie soigneusement nettoyée et de même qualité. Le milieu fraîchement préparé fut stérilisé dans de grands flacons. Ce ne fut qu'après cette stérilisation que le liquide fut réparti dans les flacons servant à l'expérience. Ceux-ci, remplis du milieu nutritif, furent stérilisés ensemble. J'en remplissais, dans chaque série, cinq flacons de plus qu'il était nécessaire pour les cultures, de façon à pouvoir déterminer le pH. dans ces derniers. Les expériences précédentes m'avaient assuré que le pH déterminé dans ces quelques flacons était le même que dans tous les autres et qu'il se maintenait durant plusieurs mois.

J'ai aussi ajouté à chaque série de cultures trois flacons que je laissais sans ensemencement, de façon à pouvoir distinguer des changements qui avaient pu se présenter dans le milieu des autres changements dus à la présence des gonidies en culture.

§ 11. LA DÉCOLORATION DES CULTURES

Dans les pages précédentes, j'ai eu l'occasion, à plusieurs reprises, de décrire des phénomènes de décoloration ou de changement de couleur. Il était intéressant de savoir si ces deux phénomènes étaient en rapport l'un avec l'autre et il s'agissait, en outre, d'en trouver la cause.

Considérons tout d'abord le phénomène de la décoloration en laissant de côté toute observation concernant le changement de couleur dont il a été question dans les chapitres précédents. Remarquons qu'une perte de couleur n'a été constatée que dans les cultures exposées à la lumière directe du soleil. A la lumière diffuse, le même phénomène ne s'est produit que beaucoup plus tard (après une année) et encore les cultures n'y ont jamais été entièrement décolorées. Le phénomène s'est produit aussi bien en milieu sucré qu'en milieu purement minéral et cela pour toutes les gonidies dans les milieux solidifiés par l'agar et dans les milieux liquides.

Par l'étude microscopique, je ne parvins pas à savoir si ces cellules avaient simplement perdu la couleur ou si elles étaient mortes. Dans le but de résoudre cette question, j'ai inoculé ces matières dans plusieurs sortes de milieux que j'ai exposés à la lumière diffuse. Le résultat ne laissa point de doute : aucune de ces cultures ne forma des colonies, ce qui prouvait que les cellules avaient été altérées.

Le phénomène de la décoloration des cultures consiste, par conséquent, dans une détérioration des cellules. Il en résulte que la lumière solaire intense, concurremment avec la température élevée, a détruit la couleur.

Quelles sont les matières colorantes en cause ? Une analyse a été faite par la méthode suivante : j'ai extrait les matières colorantes en laissant séjourner des masses relativement considérables de gonidies dans une solution d'alcool à 95° et d'éther que j'ai exposée pendant 24 heures à l'obscurité ; puis j'ai suspendu, sur les godets contenant les solutions, des bandes de papier à filtrer de 2 cm. de largeur ; en trempant le bout de ces bandes dans la solution alcoolique, les matières colorantes montent jusqu'à une certaine hauteur et y déposent des bandes horizontales colorées selon leur nature. C'est ainsi que j'ai constaté la présence de la chlorophylle, de la carotène et de la xanthophylle.

Puisque mes cultures en question étaient entièrement décolorées, la lumière directe du soleil a détruit à la fois ces trois couleurs et la température élevée, qui agissait en même temps sur les cultures, a empêché le développement et la multiplication des cellules.

§ 12. LE JAUNISSEMENT DES CULTURES

On pouvait opposer au phénomène précédemment décrit le changement de la couleur que j'avais noté si souvent à propos des cultures développées à la lumière électrique continue. Au début, toutes les cultures étaient d'une teinte vert foncé et celle-ci ne changea qu'après un certain temps d'exposition, précisément au moment où le développement était le plus intense. J'ai déjà montré que la couleur changea le plus rapidement dans les solutions les plus pauvres en sels minéraux.

La première idée qui me vint pour expliquer ce phénomène était la suivante : je pensais que la lumière électrique avait détruit la chlorophylle, tout en laissant intacte la carotène et la xanthophylle, et que c'étaient ces deux matières qui, en apparaissant, donnaient la couleur brun-jaune aux cultures. Si cette explication était exacte, il restait à déterminer de plus près le facteur qui cause soit la destruction de toutes les matières colorantes (phénomène observé dans les cultures exposées à la lumière intense), soit celle de la chlorophylle seulement.

Cette cause pourrait être l'intensité trop forte de la lumière, la température trop élevée ou une sorte de radiations lumineuses seulement (rayons ultraviolets, par exemple).

Mais l'explication suivante me sembla encore possible pour ce phénomène : CHODAT (11), WARÉN (36), OETTLI (24), CHODAT et MAYER (12), ont montré qu'un déséquilibre quantitatif entre l'azote d'une part et le carbone d'autre part, dans une solution nutritive, favorise la formation de la carotène. Le résultat obtenu dans les deux séries de cultures en milieu Detmer 1/1 + 10% de glucose resp. Detmer 1/3 + 10% de glucose, exposées à la lumière électrique, semblait tout à fait confirmer cette hypothèse. Dans la solution la plus pauvre en sels minéraux, l'azote était probablement en trop faible quantité pour balancer la teneur si forte en glucose. Ces cultures avaient changé de couleur les premières, conformément à ce que l'hypothèse prévoit.

Une troisième hypothèse pouvait encore être faite, en tenant compte de cette dernière observation. Ayant constaté que le développement des cultures exposées à la lumière artificielle était plus rapide qu'à la lumière diffuse et à l'obscurité, il était possible que

la nourriture fût épuisée dans ces flacons. Une substance autre que l'azote ou le carbone, mais nécessaire à la vie des gonidies, pouvait y faire défaut.

J'ai eu recours à l'expérience suivante :

Dans une pipette stérilisée, j'ai transporté 1 cm³ de la culture jaunie (milieu Detmer 1/3 + 10% de glucose) dans des milieux nutritifs fraîchement préparés, puis j'ai exposé les cultures en partie à la lumière diffuse et en partie à la lumière électrique. Le résultat fut positif ; toutes les cultures donnaient, en milieu liquide, une teinte vert foncée et, en milieu solide, de belles colonies. Ces dernières conservaient leur couleur durant une année. On aurait pu croire avoir trouvé ainsi la solution du problème, mais l'expérience suivante rendit ce résultat douteux. Je suis parti de cette idée : si l'azote en quantité est trop faible pour équilibrer le carbone et que cette disproportion cause la formation abondante de la carotène, alors la coloration peut être ramenée au vert en ajoutant du nitrate de Ca. et en rendant ainsi à la solution un équilibre favorable. J'ai choisi une série de flacons contenant des cultures devenues jaune brun et j'ai versé dans ces cultures, au moyen d'une pipette stérilisée, une solution de nitrate de calcium. J'ai choisi une solution contenant la quantité d'azote qui correspond à Detmer 1/3. En supposant que l'azote dans le milieu usé était entièrement absorbé par les gonidies, cette teneur dans le milieu renouvelé correspondait à celle d'un milieu de Detmer 1/3. En supposant, par contre, que la quantité d'azote n'avait nullement diminué, la teneur en azote correspondait alors à Detmer 2/3. Ce sont, en effet, les concentrations que les gonidies supportent le mieux.

Voici le résultat de mon expérience : aucun des flacons n'a repris la teinte verte. Il semble donc que ce ne soit ni le déséquilibre entre le C et le N, ni le manque de ce dernier, qui ait provoqué le changement de la couleur. Il faut cependant dire que je n'ai fait cette expérience que deux semaines après les précédentes.

On ne peut, par conséquent, pas bien comparer les résultats. En effet, le changement des teintes était déjà plus avancé et il est bien possible que les cellules étaient à un état moins sain que celles que j'ai transposées dans les nouveaux milieux.

Il y a d'ailleurs encore un fait auquel on peut attribuer les phénomènes en question : les produits sécrétés par les cellules. Il est même probable que les substances excrétées, produits du méta-

holisme, s'accumulent dans le milieu et arrêtent le développement des cultures.

On voit que le problème est complexe. J'ai voulu l'amener à une solution par la série suivante des cultures qui avaient comme but de provoquer la couleur jaune-brune dont il est question par un déséquilibre entre la nourriture azotée et carbonée, établi dès le début dans la composition des milieux de cultures.

J'ai préparé les milieux suivants :

1. 2/1 Detmer + 10% de glucose.
2. 1/1 Detmer + 10% de glucose.
3. 1/3 Detmer + 10% de glucose.

Je les ai ajustés au pH de 4,2, et après les avoir inoculés par toutes les espèces de gonidies à ma disposition, ainsi que par le *Cystococcus cohaerens*, j'ai exposé la moitié des cultures à l'obscurité et l'autre moitié à la lumière diffuse.

On m'objectera que j'ai répété ici une série de cultures étudiée auparavant. C'est vrai, mais on ne peut pas attendre un résultat exact en faisant des comparaisons quantitatives avec des cultures exposées un mois auparavant. L'expérience suivante et beaucoup d'autres ont prouvé cela avec netteté.

Au bout d'un mois, le résultat obtenu avec ces cultures a été le suivant : tous les flacons avaient donné un développement plus ou moins vigoureux, de couleur vert frais, mais dans aucun apparaissait une teinte brune orangée. Cette expérience me donna, par contre, de précieuses indications d'un autre genre. Elle me renseigna, par exemple, sur le mode de réaction des gonidies vis-à-vis d'un milieu nutritif contenant les sels minéraux en quantités variables et cette observation était intéressante par rapport au problème de la spécificité.

§ 13. LA MATIÈRE BLANCHE FORMÉE DANS LES CULTURES

La matière blanche que j'ai rencontrée, surtout dans les cultures qui ont donné un développement intense, a suscité ma curiosité. Cette matière se présente sous forme de petites plaquettes, de forme irrégulière, suspendues à la surface du milieu ou déposées à la face interne du flacon.

Les recherches concernant la composition chimique et la provenance de cette matière nécessitaient une série d'expériences.

Il s'agissait tout d'abord de savoir dans quelles conditions elle se formait. Cette substance pouvait être directement sécrétée par les cellules. J'avais, en effet, souvent observé que ces petites plaquettes étaient interrompues par des cellules vertes et que la matière qui ne présentait en général aucune structure cristallographique était orientée autour d'elles en des sortes d'aiguilles régulières très serrées et rayonnant tout autour. Cependant, le nombre relativement petit de ces cellules incluses dans cette substance, n'aurait probablement pas suffi pour en sécréter une telle quantité. Cette observation seule était donc insuffisante.

J'avais souvent remarqué qu'en alcalinisant les milieux de culture par la soude caustique, un précipité se formait. Il n'était pas difficile de trouver la cause de ce phénomène ; mais en appliquant cette observation à notre problème, il était nécessaire, avant tout, de vérifier si ce précipité était identique à la matière en question. Les gonidies diminuent l'acidité du milieu dans lequel elles vivent. C'est le résultat de toutes les recherches concernant le développement en fonction du pH (voir plus bas).

Le fait que l'alcalinisation du milieu provoquée par les algues elles-mêmes est d'autant plus forte que la culture est vigoureuse, et d'autre part le fait que cette matière blanche se formait le plus abondamment dans les mêmes cultures, confirment, en apparence du moins, cette origine. Or, s'il en avait été ainsi, la substance en question aurait dû être exclusivement de nature inorganique. Mais une observation rendit cette supposition invraisemblable : j'avais souvent remarqué dans les cultures, surtout lorsque cette matière commençait à se former, une couche huileuse très fine et irisée suspendue à la surface du liquide. Enfin, la substance pouvait résulter de la décomposition des membranes vides des sporanges ; ou alors elle pouvait représenter la matière de réserve accumulée dans les cellules et devenue libre par la mort de ces dernières. Il n'existe pas de doute que dans les gonidies en culture (et dans le thalle lichénique de même), des matières grasses sont accumulées en grande quantité. On en voit fréquemment des globules considérables dans les cellules en bon état. L'acide osmique les teint en gris-noirâtre et elles se colorent en bleu par la cyanine : preuves suffisantes de la présence des matières grasses.

J'ai établi les cultures suivantes en vue de cette étude : j'ai préparé 12 flacons contenant une solution de Detmer diluée au tiers.

Quatre flacons ont été laissés sans être ensemencés. Quatre autres furent ensemencés avec la gonidie n° 349 et le reste avec le n° 350. Une autre série de 12 flacons, contenant la même solution, fut additionnée de 10% de glucose. D'une manière analogue à la série précédente, j'ai laissé 4 flacons sans gonidies. Le reste fut ensemencé comme dans la série précédente. Après un mois, j'ai noté le résultat suivant :

1. Flacons sans végétation : ni dans les milieux purement minéraux, ni en milieu sucré, la moindre trace de la substance en question ne s'était formée.

2. Flacons à milieu minéral avec végétation : les gonidies ne s'étaient développées que très peu ; une coloration verdâtre du milieu était perceptible avec peine. La substance blanche ne se présentait pas.

3. Flacons à milieu sucré avec végétation : toutes les cultures étaient vigoureuses ; le liquide prit une teinte vert foncé intense. La matière en question s'y était abondamment formée. Elle recouvrait la surface et s'était déposée sur la paroi interne du verre.

Cette expérience mettait nettement en évidence que la substance qui faisait l'objet de cette étude, était liée à la présence des gonidies. Malheureusement, le développement en milieu minéral était trop faible et ne permettait pas de conclusion concernant l'influence qu'il fallait attribuer à la présence ou à l'absence du sucre. Ayant noté ce résultat, j'ai soigneusement récolté la substance dans l'intention d'en faire l'étude chimique. J'ai collecté séparément dans de petits flacons remplis d'eau distillée, les matériaux suspendus à la surface du liquide et ceux qui étaient déposés sur la paroi du flacon. L'analyse que j'ai faite, en collaboration avec mon frère,¹ a montré que la substance tapissant la paroi interne du flacon, était entièrement de composition minérale. Elle était soluble dans l'acide chlorhydrique, et il n'était pas difficile de démontrer la présence des cations Ca et Mg ainsi que de l'anion PO_4 .

La matière que j'avais récoltée à la surface du liquide, par contre, était d'une nature toute différente. Ni les acides minéraux, ni l'éther ne la dissolvaient entièrement.

¹ Je saisis l'occasion de remercier très vivement M. le Dr Edouard Jaag, ingénieur-chimiste, pour les précieux renseignements d'ordre chimique qu'il m'a donnés, ainsi que pour son aide dans ces analyses chimiques fastidieuses et difficiles.

Comme je soupçonnais la présence de la cholestérine, j'ai acidulé la substance avec de l'acide chlorhydrique et j'ai secoué la solution avec de l'éther dans l'intention de séparer ainsi la solution aqueuse de la solution étherée. De cette façon, la cholestérine aurait dû passer dans l'éther et, après l'évaporation de ce dernier, des cristaux en forme d'aiguilles fines, fondant à 148°, auraient dû se former. Mais le corps qui se forma à la fin de cette opération, ne possédait pas ces propriétés ; on obtenait une gouttelette d'huile de couleur brune. Malheureusement, la faible quantité de matériel qui était à ma disposition ne m'a pas permis de pousser cette étude plus loin. L'analyse chimique sera d'ailleurs toujours difficile par la présence du glucose et des gonidies, qui ne peuvent être complètement éliminées. En brûlant la matière, l'odeur d'une matière organique se dégage, mais précisément les gonidies emprisonnées dans la substance peuvent en être la cause.

§ 14. CULTURES EN MILIEU MINÉRAL

Après avoir constaté la facilité avec laquelle les gonidies se développent en milieux sucrés, il m'a semblé nécessaire de préciser par des expériences exactes, si cette vie en saprophyte est la seule possible ou, si, au contraire, les gonidies sont capables d'élaborer elles-mêmes, par photosynthèse leur nourriture hydrocarbonée. C'est en effet là le point essentiel d'où doivent toujours partir les théories sur la symbiose entre le champignon et l'algue. Les expériences précédentes ont montré, qu'à part la composition du milieu nutritif, la lumière joue un rôle important dans la croissance des gonidies, de même que le pH. Il fallait par conséquent tenir compte de ces facteurs. Personne ne connaît les conditions de ce genre auxquelles les gonidies sont soumises dans le thalle lichénique. J'ai, par conséquent, voulu faire varier les facteurs le plus possible, espérant réaliser ainsi des conditions correspondant au moins en partie à celles que les gonidies peuvent trouver dans les thalles. J'ai préparé les différentes sortes de milieux liquides indiqués dans le schéma suivant. J'ai alors inoculé, dans chacun d'eux, toutes mes gonidies ainsi que du *Cystococcus cohaerens* et j'en ai exposé une partie à la lumière diffuse, et une partie à l'obscurité. Plus tard, j'ai en plus exposé une série de cultures à la lumière électrique continue. On objectera que les cultures exposées à l'obscurité

étaient superflues: il était en effet à prévoir qu'un développement n'aurait pas lieu dans ce dernier, le milieu ne contenant pas de carbone et l'absence de lumière excluant toute assimilation par photosynthèse. Mais cette série me permettait, d'une part, de vérifier par l'absence de tout développement que mes matériaux étaient réellement purs. D'autre part, il était intéressant de faire des comparaisons avec les autres séries concernant le maintien ou la variation du pH durant l'expérience. J'ai exposé (à l'obscurité et à la lumière diffuse) une première série de ces cultures au début de décembre 1927 ; celles en milieux Detmer 1/1 pH 5,4 et Detmer 1/3 pH 5,4, exposées à la lumière électrique, ne furent ajoutées que le 15 janvier 1928 et les séries Detmer 1/10 pH 7,6, Detmer 1/10 pH 6,8, Detmer 1/3 pH 3,9, Detmer 1/3 pH 3,3, encore 11 jours plus tard. Le résultat que j'ai obtenu a été le suivant :

Obscurité. — Dans aucun flacon, le moindre développement n'eut lieu. Dans quelques-uns, on put voir encore pendant beaucoup de semaines la petite quantité du matériel inoculé. Ces séries en milieu très acide, n'ayant pas donné le moindre développement, démontraient en plus que la faible quantité d'acide acétique, ayant été ajoutée lors de l'acidification, n'avait pas servi de source de carbone.

Quant aux modifications que le pH a subi pendant 5 mois, je donnerai le résultat plus bas.

Lumière diffuse. — Durant 3 mois, on ne pouvait guère apercevoir une multiplication des cellules. Mais à partir du quatrième mois, dans une grande partie des cultures, la couleur verte apparut, ce qui indiquait qu'une multiplication très lente des cellules avait lieu ; c'est-à-dire que les gonidies tiraient de l'air le carbone nécessaire à leur vie.

J'ai exprimé schématiquement dans le tableau suivant le résultat que j'ai noté le 30 mars, c'est-à-dire au bout de 4 mois, après l'ensemencement.

Comment dans chaque série de milieux les diverses gonidies se comportent-elles ? Il ressort tout d'abord du schéma, que la spécificité s'est bien exprimée dans ces cultures. On voit, en effet, que chaque gonidie se comporte à sa façon vis-à-vis de la concentration des sels en solution et vis-à-vis du pH. J'ai hâte d'indiquer que, dans la grande majorité des cas, les trois flacons témoins, contenant la même gonidie dans un même milieu, ont donné des cultures de

	$\frac{1}{4}$ Det. pH 5,4	$\frac{1}{3}$ Det. pH 5,7	$\frac{1}{3}$ Det. pH 5,4	$\frac{1}{3}$ Det. pH 3,8	$\frac{1}{3}$ Det. pH 3,3	$\frac{1}{10}$ Det. pH 7,6	$\frac{1}{10}$ Det. pH 6,8	$\frac{1}{10}$ Det. pH 5,4
350	●	●	●	●	·	●	●	●
349	●	●	●	●	·	●	●	●
105	●	●	●	●	·	●	●	●
104	●	●	●	●	·	●	●	●
103	●	●	●	●	·	●	●	●
63	●	●	●	●	·	●	●	●
60	●	●	●	●	·	●	●	●

Tableau 5. — Cultures liquides en milieu dépourvu de sucre, exposées à la lumière diffuse.

la même vigueur. Il y eut cependant quelques cas où les cultures dans deux flacons étaient identiques, tandis que la croissance faisait défaut dans le troisième. Il s'agit là probablement d'accidents, dus à la nature du flacon ou à l'insuffisance et à l'état de santé du matériel inoculé. Mais ces cas étaient très rares.

La spécificité des différentes gonidies se déduit du tableau n° 5 par la comparaison des surfaces noires dans les colonnes verticales. Dans la plupart des milieux, la gonidie n° 104 a donné des cultures les plus vigoureuses. Les gonidies du genre *Parmelia* (n° 349 et n° 350) ainsi que celles de *Cladonia* (n° 60) et le *Cystococcus cohaerens* ont, par contre, manifesté une croissance moyenne ou très faible.

Ce résultat a également été obtenu dans d'autres séries d'expériences (voir page 71). Il est à remarquer que, dans tous les cas étudiés, le pH optimum pour le développement a été déplacé vers l'acidité diminuée par une dilution plus forte des sels minéraux. Nous ne voulons pas insister d'une manière générale sur la façon

dont les gonidies des lichens se comportent vis-à-vis de la concentration en ions d'hydrogène de la solution nutritive. Ce problème est complexe et il mérite une étude particulièrement approfondie. Ce qui nous intéresse le plus dans cette expérience, c'est qu'à la lumière diffuse les gonidies peuvent assimiler le carbone par photosynthèse. Cette assimilation est extrêmement faible, ce qui se déduit de la croissance très lente des cultures. De plus, il est intéressant de savoir que les différentes gonidies sont différemment sensibles vis-à-vis du pH et qu'elles donnent ainsi une nouvelle preuve de leur spécificité.

Le groupement des gonidies d'après le genre de lichen, si caractéristique dans la plupart des expériences précédentes, ne peut pas être fait dans cette série.

Les trois séries 1/1 Detmer pH 5,4, 1/3 Detmer pH 5,4, 1/10 Detmer pH 5,4, se prêtent particulièrement bien à l'étude de l'influence de la concentration des sels minéraux sur la croissance. Cette influence est très faible. Les gonidies n^{os} 350, 349, 104, 63, 60 ne montrent aucune préférence pour l'une ou l'autre des concentrations, autrement dit, dans le cas où les cellules élaborent des matières hydro-carbonées par photosynthèse, la solution 1/10 Detmer leur suffit entièrement ; cela est très compréhensible d'ailleurs, vu le développement si faible de ces cultures. Le *Cystococcus cohaerens* préfère même la dilution la plus forte du milieu.

Le résultat exprimé dans le schéma montre que les gonidies sont sensibles au pH du milieu. On y constate de nouveau une spécificité nette. La gonidie n^o 63, par exemple, semble exiger un milieu alcalin. Les meilleurs résultats ont été obtenus au pH 7,6 et 7,1. Le n^o 105, par contre, se développe mieux en présence d'une acidité moyenne de 5,4 en Detmer 1/3 ou de la neutralité dans le milieu dilué en 1/10 Detmer. Cet exemple montre que le pH optimum pour le développement, se déplace avec la concentration de la solution.

Lumière électrique continue. — Les différentes sortes de milieux nutritifs que j'ai employées se voient dans le tableau suivant. Je les aiensemencées respectivement 3 semaines et 7 semaines plus tard que les cultures correspondantes exposées à la lumière diffuse. En voici le résultat :

J'ai constaté, au bout de 3 semaines, que tous les flacons donnaient des cultures. Les milieux acquéraient une teinte vert foncé

	$\frac{1}{4}$ Det., pH. 5,4			$\frac{1}{3}$ Det., pH. 5,4			$\frac{1}{10}$ Det., pH. 7,6			$\frac{1}{10}$ Det., pH. 6,8			$\frac{1}{3}$ Det., pH. 3,9			3.3	
	28·II	17·III	14·IV	28·II	17·III	14·IV	28·II	17·III	14·IV	28·II	17·III	14·IV	28·II	17·III	14·IV		28·II
350	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
349	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
105	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
104	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
103	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
63	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
60	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Tableau 6. — Cultures liquides, en milieu dépourvu de sucre, exposées à la lumière électrique continue. — Les cultures avant conservé la couleur verte sont représentées par des surfaces noires. Les cercles en hachures indiquent un changement plus ou moins accentué de la teinte des cultures.

plus ou moins uniforme. Au moment où les cultures correspondantes de la lumière diffuse ne donnaient pas encore le moindre indice d'un développement, celles de la lumière électrique avaient déjà atteint une vigueur considérable. Je me hâte d'indiquer que les cultures sans sucre n'ont jamais atteint la même vigueur que celles en milieux sucrés, et les résultats indiqués par des cercles dans un tableau ne peuvent pas être comparés avec ceux d'un autre tableau. Ce sont des évaluations servant à comparer la vigueur des cultures appartenant à une seule série d'expériences, à savoir celles qui sont comprises dans un même schéma. En particulier dans les tableaux n° 5 et n° 6, les surfaces noires ne sont pas faites à la même échelle. Pour avoir la même échelle, les surfaces du n° 6 devraient être 3-4 fois plus grandes.

Au début du mois de février, j'ai constaté qu'une partie des cultures perdaient leur teinte verte et devenaient jaunes. Ce fut le même phénomène que j'avais déjà constaté au cours d'un grand nombre d'expériences, faites en milieux sucrés. En groupant les cultures produisant ce phénomène d'une part, et les autres qui avaient conservé leur couleur verte, j'ai vu que le premier groupe était représenté uniquement par les gonidies du genre *Parmelia*, l'autre par celles du genre *Cladonia*. Ce changement de couleur progressait de plus en plus ; les cellules ne se multipliaient que faiblement : à la date du 28 février, il n'y avait plus de doute que toutes ces cultures étaient déjà à l'état de dégénérescence. Il n'en fut pas ainsi avec les gonidies du genre *Cladonia* : aucune des cultures des gonidies de ce genre n'a jamais donné cette teinte jaune ; ces cultures continuèrent à se multiplier et la matière verte devint de plus en plus dense. Ce phénomène se voit exprimé dans le tableau ; les cercles exprimant la vigueur des cultures du 28 février au 14 avril augmentent pour les gonidies du genre *Cladonia* ; ils diminuent par contre dans le genre *Parmelia*.

Un coup d'œil sur les deux premières colonnes du schéma (Det. 1/1, pH 5,4 ; Det. 1/3 pH 5,4, cultures exposées simultanément) nous montre en plus, d'une part, que le changement de la couleur n'apparaît que tardivement dans le milieu plus riche en sels minéraux 1/1 Detmer pH 5,4 et, d'autre part, que le même phénomène se produit chez la gonidie n° 349 avec un retard sur l'autre gonidie du genre *Parmelia*. Les gonidies du genre *Cladonia*, elles aussi, accusent un affaiblissement de la teinte en milieux moins riches en

sels, mais elles maintiennent toutefois la couleur verte avec une nuance légèrement plus pâle. Toutes les cultures en milieu 1/1 Detmer pH 5,4 sont, en effet, d'une couleur plus foncée que toutes les autres. On voit que ces résultats sont absolument identiques à ce que j'avais déjà trouvé dans d'autres séries d'expériences (voir page 44). C'est donc la meilleure preuve qu'il ne peut s'agir de résultats dus à des accidents, mais au contraire, d'une réelle spécificité dans la nature de ces différents organismes.

En résumant les résultats essentiels de cette série de cultures, j'ai trouvé que les six gonidies, ainsi que le *Cystococcus cohaerens*, peuvent assimiler l'anhydride carbonique de l'air. A la lumière diffuse, la multiplication des cellules, dans ces conditions de vie, est extrêmement lente ; elle est bien plus intense à la lumière électrique continue. Cette série d'expériences a, en outre, entièrement confirmé tout ce que j'avais trouvé pour d'autres séries en ce qui concerne la spécificité des gonidies. Quant à la concentration des ions hydrogène, la troisième et la quatrième colonne (Detmer 1/10 pH 7,6 et Detmer 1/10 pH 6,8) montrent que, dans les conditions de l'expérience, une différence du pH de 0,8 n'a pas d'effet visible ; l'acidité forte de pH 3,3 empêche tout développement ; au pH 3,9, les deux gonidies n° 60 et n° 63, ainsi que l'algue n° 103, ont encore donné des colonies, celles-ci étant moins vigoureuses que celles de la même solution nutritive à pH 6,8.

§ 15. DETERMINATION DU pH A LA FIN DE L'EXPÉRIENCE

Après avoir vu comment les gonidies se comportent dans les milieux nutritifs à pH différent, il était intéressant de redéterminer le pH à la fin de l'expérience et de comparer le résultat avec le pH initial. J'ai, par conséquent, fait des déterminations du pH dans un grand nombre de flacons, ce qui m'a fourni le résultat que voici :

I. Cultures qui n'ont pas donné de développement appréciable :

1. Cultures exposées le 16 janvier 1928 à la lumière électrique continue.
Détermination du pH le 16 mars 1928.

Numéro de la Gonidie	Milieu nutritif	pH initial	pH final	Différence	Développement	Date d'inoculation
350	² / ₁ Detmer	3	3		nul	16. I. 1928
350	² / ₁ »	3	3		—	—
350	² / ₁ »	3	3		—	—
350	² / ₁ »	3,7	3,7		—	—
350	¹ / ₃ »	3,4	3,6	0,2	—	—
350	¹ / ₃ »	3,4	3,4		—	—
350	¹ / ₃ »	3,9	3,9		—	—
350	¹ / ₃ »	3,9	3,9		—	—
350	¹ / ₃ »	4,2	4,1	0,1	—	—
350	¹ / ₃ »	4,2	4,2		—	—
350	¹ / ₃ »	4,6	5	0,4	—	—
349	² / ₁ »	3	3		—	—
349	² / ₁ »	3	3		—	—
349	² / ₁ »	3,3	3,3		—	—
349	² / ₁ »	3,3	3,3		—	—
349	² / ₁ »	5,3	5,5	0,2	—	—
349	¹ / ₃ »	3,3	3,3		—	—
349	¹ / ₃ »	3,7	3,7		—	—
349	¹ / ₃ »	3,7	3,6	0,1	—	—
349	¹ / ₃ »	4,2	4,2		—	—
349	¹ / ₃ »	4,6	4,6		—	—
349	¹ / ₃ »	4,6	4,7	0,1	—	—
349	¹ / ₃ »	3,9	3,9		—	—
349	¹ / ₃ »	4,2	4	0,2	—	—
349	¹ / ₃ »	3,4	3,4		—	—
	+ 20 % Gluc.					

²/₁ Detmer = solution nutritive contenant les sels minéraux en quantité double de celle indiquée par Detmer.

¹/₃ Detmer = solution de Detmer diluée au tiers.

Numéro de la Gonidie	Milieu nutritif	pH initial	pH final	Différence	Développement	Date d'inoculation
350	$\frac{1}{3}$ Detmer	3,9	4	0,1	nul	3. XII 1927
350	$\frac{1}{3}$ »	3,9	4,1	0,2	—	—
350	$\frac{1}{3}$ »	3,9	4	—	—	—
350	$\frac{1}{3}$ »	3,9	4,2	0,1	—	—
350	$\frac{1}{3}$ »	7,1	7,1	—	—	—
350	$\frac{1}{3}$ »	7,1	6,9	0,2	—	—
349	$\frac{1}{3}$ »	3,9	4	0,1	—	—
349	$\frac{1}{3}$ »	3,3	3,2	0,1	—	—
349	$\frac{1}{3}$ »	3,3	3,3	—	—	—
349	$\frac{1}{3}$ »	3,9	4,1	0,2	—	—
349	$\frac{1}{3}$ »	3,9	4	0,1	—	—
349	$\frac{1}{3}$ »	3,9	4,1	0,2	—	—
349	$\frac{1}{3}$ »	5,4	5,8	0,4	—	—
349	$\frac{1}{10}$ »	3,9	3,9	—	—	—
349	$\frac{1}{10}$ »	3,9	3,9	—	—	—
349	$\frac{1}{10}$ »	3,8	4,2	0,4	—	—
349	$\frac{1}{10}$ »	3,9	4	0,1	—	—
349	$\frac{1}{10}$ »	3,8	4	0,2	—	—

2. Cultures exposées à l'obscurité le 28 décembre 1927.

Résultat noté le 16 mars 1928.

Numéro de la Gonidie	Milieu nutritif	ph. initial	ph. final	Différence	Développement	Date d'inoculation
contr.	$\frac{1}{1}$ Detmer	5,4	5,5	0,1	nul	28 XII. 1927
»	$\frac{1}{1}$ »	5,4	5,5	0,1	—	—
350	$\frac{1}{1}$ »	5,4	5,6	0,2	—	—
349	$\frac{1}{1}$ »	5,4	5,6	0,2	—	—
105	$\frac{1}{1}$ »	5,4	5,5	0,1	—	—
105	$\frac{1}{1}$ »	5,4	5,5	0,1	—	—
104	$\frac{1}{1}$ »	5,4	5,5	0,1	—	—
104	$\frac{1}{1}$ »	5,4	5,5	0,1	—	—
103	$\frac{1}{1}$ »	5,4	5,5	0,1	—	—
60	$\frac{1}{1}$ »	5,4	5,5	0,1	—	—
contr.	$\frac{1}{3}$ »	5,7	5,8	0,1	—	—
»	$\frac{1}{3}$ »	5,7	5,8	0,1	—	—
350	$\frac{1}{3}$ »	5,7	5,8	0,1	—	—
350	$\frac{1}{3}$ »	5,7	5,9	0,2	—	—
105	$\frac{1}{3}$ »	5,7	5,9	0,2	—	—
105	$\frac{1}{3}$ »	5,7	5,9	0,2	—	—
104	$\frac{1}{3}$ »	5,7	5,9	0,2	—	—
104	$\frac{1}{3}$ »	5,7	5,9	0,2	—	—
63	$\frac{1}{2}$ »	5,7	5,9	0,2	—	—
63	$\frac{1}{3}$ »	5,7	5,9	0,2	—	—

Contr. = contrôle (milieu non ensemené).

II. CULTURES QUI SE SONT DÉVELOPPÉES.

Le changement du pH dans les cultures en milieux sans sucre exposés le 29 XI 1927, à la lumière diffuse

Numéro de la Gonidie	Milieu nutritif	pH initial	pH final	Différence	Developpement ¹	Date d'inoculation
contr.	1/1 Detmer	5,4	5,5	0,1	1	29 XI. 1927
350	1/1 »	5,4	5,7	0,3	2	—
349	1/1 »	5,4	5,7	0,3	2	—
105	1/1 »	5,4	5,7	0,3	4	—
104	1/1 »	5,4	5,7	0,3	10	—
103	1/1 »	5,4	5,7	0,3	5	—
63	1/1 »	5,4	5,7	0,3	3	—
60	1/1 »	5,4	5,8	0,4	2	—
contr.	1/3 »	5,7	5,7	—	—	—
350	1/3 »	5,7	5,8	0,1	2	—
349	1/3 »	5,7	5,8	0,1	2	—
105	1/3 »	5,7	5,8	0,1	3	—
104	1/3 »	5,7	5,8	0,1	8	—
103	1/3 »	5,7	5,8	0,1	2	—
63	1/3 »	5,7	5,8	0,1	2	—
60	1/3 »	5,7	5,8	0,1	2	—
contr.	1/3 Detmer	5,4	5,4	—	—	30 XI.
contr.	1/3 »	5,4	5,5	0,1	—	—
350	1/3 »	5,4	5,8	0,4	2	—
350	1/3 »	5,4	5,8	0,4	2	—
349	1/3 »	5,4	5,8	0,4	2	—
105	1/3 »	5,4	5,8	0,4	8	—
104	1/3 »	5,4	5,8	0,4	9	—
104	1/3 »	5,4	5,9	0,5	9	—
103	1/3 »	5,4	5,8	0,4	3	—
63	1/3 »	5,4	5,8	0,4	3	—
60	1/3 »	5,4	5,8	0,4	1	—
contr.	1/3 »	3,8	3,8	—	—	29 XI.
contr.	1/3 »	3,8	3,9	0,1	—	—
350	1/3 »	3,8	4,9	1,1	1	—
349	1/3 »	3,8	5,9	2,1	4	—
349	1/3 »	3,8	5,8	2	4	—
105	1/3 »	3,8	4,9	1,1	8	—
104	1/3 »	3,8	5,3	1,5	7	—
104	1/3 »	3,8	5,4	1,6	7	—
103	1/3 »	3,8	5,7	1,9	6	—
103	1/3 »	3,8	5,9	2,1	6	—
63	1/3 »	3,8	5,8	2	2	—
60	1/3 »	3,8	4,9	1,1	2	—

¹ Les chiffres 1-10 indiquent l'intensité du développement.

1 = développement très faible.

10 = développement considérable.

Numéro de la Gonidie	Milieu nutritif	pH initial	pH final	Différence	Développement	Date d'inoculation
contr.	¹ / ₁₀ Detmer	7,6	7,6		—	30 XI. 1927
contr.	¹ / ₁₀ »	7,6	7,6		1	—
350	¹ / ₁₀ »	7,6	7,6		2	—
349	¹ / ₁₀ »	7,6	7,6		1	—
105	¹ / ₁₀ »	7,6	7,6		2	—
104	¹ / ₁₀ »	7,6	7,6		3	—
103	¹ / ₁₀ »	7,6	7,6		2	—
63	¹ / ₁₀ »	7,6	7,6		7	—
60	¹ / ₁₀ »	7,6	7,6		3	—
contr.	¹ / ₁₀ »	6,8	6,8		—	—
contr.	¹ / ₁₀ »	6,8	6,8		—	—
350	¹ / ₁₀ »	6,8	6,9	0,1	1	—
349	¹ / ₁₀ »	6,8	6,9	0,1	1	—
105	¹ / ₁₀ »	6,8	6,9	0,1	1	—
104	¹ / ₁₀ »	6,8	6,9	0,1	3	—
103	¹ / ₁₀ »	6,8	6,9	0,1	1	—
63	¹ / ₁₀ »	6,8	6,9	0,1	1	—
60	¹ / ₁₀ »	6,8	6,9	0,1	1	—
contr.	¹ / ₁₀ »	5,5	5,4		—	—
contr.	¹ / ₁₀ »	5,4	5,4		—	—
350	¹ / ₁₀ »	5,4	5,9	0,5	1	—
349	¹ / ₁₀ »	5,4	5,9	0,5	1	—
105	¹ / ₁₀ »	5,4	5,9	0,5	2	—
104	¹ / ₁₀ »	5,4	5,9	0,5	7	—
103	¹ / ₁₀ »	5,4	5,9	0,5	6	—
63	¹ / ₁₀ »	5,4	5,9	0,5	1	—
60	¹ / ₁₀ »	5,4	5,9	0,5	1	—

En examinant les résultats exprimés dans ces tableaux, il faut distinguer trois cas : premièrement, les flacons de contrôle, contenant la solution nutritive ajustée au pH de chaque série et exposés en même temps et dans les mêmes conditions que les autres, mais sans êtreensemencés ; deuxièmement, les milieuxensemencés n'ayant pas donné un développement appréciable et, troisièmement, les cultures ayant abouti à un développement variable des gonidies. Le premier groupe, à savoir les flacons de contrôle, montre que le pH se maintient absolument constant dans les milieux les plus acides. Dans les milieux moins acides ou même alcalins, il change dans la grande majorité des cas de la valeur de 0,1. Ce changement d'après les expériences préliminaires, est dû à l'action alcalinisante

du verre. Tous les milieux ensemencés montrent, au contraire, que les algues ont modifié le pH du milieu.

Elles l'ont rendu moins acide. Dans certains cas rares, on voit cependant que le milieu s'est trouvé plus acide à la fin de l'expérience qu'au début. Je ne saurais expliquer autrement ces quelques exceptions que par des accidents dus à une différence de la qualité du verre.

Les milieux ensemencés, mais dépourvus d'un développement appréciable, ont révélé en partie un pH final identique au pH initial, et en partie un pH modifié. Le premier cas s'étant montré le plus fréquemment dans le milieu très acide, j'en conclus que les algues furent aussitôt altérées et qu'elles n'avaient de cette façon pas le temps de modifier le pH du milieu. Dans le second cas, il y avait probablement au début un développement très faible responsable pour le faible changement du pH. Le nombre des exceptions qui s'opposent à cette explication n'est cependant pas négligeable, de sorte qu'il convient d'observer quelque prudence pour expliquer ces phénomènes.

Passons en revue les quelques résultats que les différentes cultures nous ont révélés :

Detmer 1/1 pH 5,4 (p. 71). — Tous les milieux ensemencés ont atteint le pH 5,7. Les flacons de contrôle ayant donné le pH 5,5, il est évident que la différence de 0,2 est due à l'action des algues. Le développement intense de la gonidie n° 104 a abouti au même résultat que le développement plus faible des n° 350 et 60. Il semble donc que le changement ait déjà lieu dans les premiers stades de la culture, autrement dit, qu'un nombre relativement petit de cellules peuvent arriver au même effet que les nombreuses cellules d'une culture dense.

Detmer 1/3 pH 5,7. — Cette série a donné un résultat tout à fait analogue à la précédente. Mais le pH final en diffère de la valeur 0,1.

Detmer 1/3 pH 5,4. — Le changement que le pH a subi dans ce groupe de cultures est plus considérable que dans les deux séries précédentes. On dirait, en comparant le résultat de ces trois séries, que le pH tend vers une limite voisine de 5,8.

La série suivante en milieu *Detmer 1/3 pH 3,8*, semble par contre, au premier coup d'œil, contredire cette opinion. Le pH final est très varié dans les divers flacons. Tandis qu'une partie

de ces derniers a atteint le pH de 5,8, d'autres ne l'ont pas atteint. Mais en comparant le pH final avec le degré de vigueur des cultures, on constate cette chose intéressante, que le pH est d'autant plus près de celui de 5,8, que le développement est plus intense. On peut en tirer la conclusion que pour amener la réaction du milieu nutritif du pH de 3,8 à 5,8 il faut un grand nombre de cellules. Dans les cultures moins vigoureuses, la modification de la réaction ne serait, par conséquent, pas encore achevée et la dissemblance entre le résultat de cette série avec celui des séries précédentes ne serait alors qu'apparente.

Detmer 1/3 pH 3,3 (p. 64). — Une acidité actuelle aussi forte empêche tout développement. Les cellules ont été altérées dès le début, de sorte qu'elles n'ont pas eu le temps de modifier le pH. Celui-ci n'est par conséquent ni modifié, ni altéré, dans les flacons de contrôle, ni dans les flacons ensemencés.

Detmer 1/1 pH 5,4. — Cette série confirme le résultat des premières séries dans le sens que le milieu nutritif tend vers le pH limite de 5,9.

Detmer 1/10 pH 6,8 et Detmer 1/10 pH 7,6. — Dans ces deux séries, le pH final des cultures précédentes a été dépassé dès le début. On aurait pu croire qu'une acidification aurait lieu qui aboutirait au pH de 5,9. Mais ce ne fut pas le cas. La réaction ne fut point changée, ce qui prouve que dans aucun cas — je fais exception des quelques cas contraires que j'ai notés — les algues n'acidifient le milieu nutritif.

Il eût été intéressant maintenant de chercher la cause de ces modifications. Plusieurs possibilités peuvent être envisagées : les gonidies pourraient sécréter une substance de réaction alcaline ; mais il pourrait s'agir aussi d'une modification du milieu, due à l'épuisement d'un sel, et d'autres phénomènes sont encore possibles.

Une étude spéciale sera nécessaire pour amener ce problème à sa solution.

Je me contente pour l'instant d'avoir montré : 1° que les algues en question, cultivées en un milieu d'acidité plus forte que 5,9, amènent la réaction du milieu à ce pH limite et qu'en milieu alcalin elles ne l'alcalinisent pas davantage, ni le ramènent à une réaction acide.