

Sur les lignes verticales dessinées par le *Chlorella vulgaris* contre les parois des flacons de culture

M. Raoul Combes

To cite this article: M. Raoul Combes (1912) Sur les lignes verticales dessinées par le *Chlorella vulgaris* contre les parois des flacons de culture, Bulletin de la Société Botanique de France, 59:5, 395-403, DOI: [10.1080/00378941.1912.10832440](https://doi.org/10.1080/00378941.1912.10832440)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/00378941.1912.10832440>



Published online: 08 Jul 2014.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 8



View related articles [↗](#)

Adolphe Pellat était aimé de tous ceux qui l'ont connu. On peut dire qu'il était la bonté et la bienveillance personnifiées. Il représentait par excellence ce botaniste aimable et confraternel que décrivait Germain de Saint-Pierre, et que nous souhaitons trouver chez tout adepte de notre chère Science.

PUBLICATIONS DE M. ADOLPHE PELLAT.

Sur quelques variations que présentent les végétaux avec l'altitude. (Bull. Soc. bot. France, t. XXV, 1878, p. 307).

Sur l'Uropetalum Bourgavi Nym. (Bull. Soc. bot. France, t. XL, 1893. Sess. extr. à Montpellier, p. CLXXXIX).

Une série de Notes sur des plantes distribuées par la Société Dauphinoise pour l'Échange des Plantes, dans le Bulletin de cette Société.

Sur le Lathyrus stans Vis. (3^e Bull., 1876, p. 68).

Sur l'Inula hirta L. (5^e Bull., 1878, p. 181).

Sur le Viscaria Cœli-Rosa Lindl. (7^e Bull., 1880, p. 263).

Sur le Gentiana ciliata L. (7^e Bull., 1880, p. 272).

Sur les Saxifraga planifolia Lap., Primula inflata Lehm., Odontites chrysantha Bor. (8^e Bull., 1881, p. 319).

Sur le Carex polyrrhiza Waltr. (9^e Bull., 1882, p. 365).

Sur l'Apargia Taraxaci Willd. (10^e Bull., 1883, p. 414).

Sur le Lathyrus palustris L. (10^e Bull., 1883, p. 415).

Sur l'Œnanthe Lachenalii Gm. (10^e Bull., 1883, p. 420).

Sur le Viola multicaulis Jord. (11^e Bull., 1884, p. 463).

Sur l'Anthyllis Jacquini Kerner. (16^e Bull., 1889, p. 629).

Sur le Galium hypnoides Vill. (2^e série, 2^e Bull., 1891, p. 49).

Note sur le Gentiana ciliata L. (Le monde des Plantes, 4^{er} novembre 1902, n^o 48, p. 51).

M. Gaston Bonnier fait hommage à la Société des huit premiers fascicules de la Flore complète, illustrée en couleurs, de France, Suisse et Belgique, dont il est l'auteur.

M. le Président remercie le donateur.

M. R. Combes fait la communication suivante :

Sur les lignes verticales dessinées par le *Chlorella vulgaris* contre les parois des flacons de culture;

PAR M. RAOUL COMBES.

Mes recherches relatives à l'influence de l'éclairement sur le développement des Algues¹ m'ont amené à m'occuper d'une

1. COMBES (R.), *Influence de l'éclairement sur le développement des Algues.* (Bulletin de la Société botanique de France. Séance du 10 mai 1912).

question qui a été l'objet de plusieurs communications faites pendant ces dernières années à la Société botanique de France; je veux parler de la fixation des Algues unicellulaires sur les parois des récipients dans lesquels on les cultive, et du rôle que jouent, dans cette fixation, différents agents tels que la lumière, la pesanteur, etc. Cette question ne présente en soi qu'un très faible intérêt scientifique; cependant, une méthode de recherche basée sur cette fixation des Algues sur les parois des récipients de culture ayant été proposée par M. Dangeard¹, pour servir dans les études relatives à l'influence de la lumière sur l'assimilation chlorophyllienne, sur la répartition et sur la croissance des Algues, il m'a paru intéressant d'entreprendre plusieurs expériences en vue d'essayer de réunir quelques renseignements sur cette méthode.

Je vais exposer brièvement en quoi ont consisté ces expériences.

Une série de trente tubes à essais ordinaires ont été soigneusement lavés aux acides, puis plusieurs fois avec de l'eau distillée de manière que leurs parois fussent parfaitement propres. Ces tubes ont ensuite été bouchés au coton et stérilisés au four à 150° pendant une demi-heure. Les trente tubes à essais ainsi préparés furent divisés en trois lots comprenant chacun dix tubes.

Ceux du premier lot furent remplis aseptiquement jusqu'aux deux tiers environ de leur hauteur, avec un milieu de culture préparé selon la formule de Knop :

Azotate de calcium.....	1 gr.
Sulfate de magnésium.....	0 gr. 25
Phosphate de potassium.....	0 gr. 25
Azotate de potassium.....	0 gr. 25
Sulfate de fer.....	traces
Eau. Q. S. pour.....	1000 cc.

L'eau employée pour la préparation de cette solution a été de l'eau distillée redistillée dans un appareil en verre.

L'emploi, dans des recherches antérieures, de ce milieu de culture préparé avec de l'eau distillée redistillée dans le verre,

1. DANGEARD (A.), C. R. de l'Ac. des Sciences. Novembre 1909, décembre 1910, janvier 1911. Bulletin de la Société botanique de France. Juin et octobre 1909, février et juin 1910.

puis stérilisé par filtration à la bougie, m'avait permis de constater qu'un tel milieu ne donne lieu dans la suite à aucun précipité et reste limpide indéfiniment. La solution nutritive préparée d'après la formule que je viens de rappeler fut donc stérilisée par filtration à la bougie et fut répartie aseptiquement dans les dix tubes constituant le premier lot.

D'autre part, du liquide de Knop fut préparé suivant la même formule indiquée ci-dessus, en employant cette fois, non plus de l'eau distillée redistillée dans le verre, mais de l'eau de source (eau de la Vanne). J'avais eu l'occasion de constater antérieurement que dans le milieu de Knop préparé dans ces conditions, puis stérilisé par filtration à la bougie aussitôt après sa préparation, il apparaît dans la suite, et assez lentement, un très fin précipité dû probablement à la formation de sels de calcium insolubles. Le second liquide de Knop, préparé avec de l'eau de source, fut donc stérilisé par filtration à la bougie aussitôt après sa préparation, puis réparti aseptiquement dans les dix tubes à essais constituant le deuxième lot.

Enfin les tubes du troisième lot reçurent du liquide de Knop préparé avec de l'eau distillée redistillée dans le verre, puis filtré à la bougie, identique par conséquent à celui qui avait servi à remplir les tubes du premier lot : mais la répartition du milieu nutritif dans les tubes fut faite sans aucune précaution d'asepsie, et de plus, afin d'être assuré de l'existence de Bactéries dans le liquide nutritif contenu dans ces tubes du troisième lot, chacun d'eux fut contaminé à l'aide d'un fil de platine ayant été mis en contact avec une culture de Bactéries provenant d'une analyse bactériologique de l'air.

Chacun des trente tubes constituant les trois lots dont il vient d'être question, futensemencé avec du *Chlorella vulgaris* provenant d'une culture pure faite sur carotte; puis, le tampon de coton flambé qui fermait l'ouverture de chacun d'eux fut protégé au moyen d'un capuchon de verre. Enfin, dans chaque lot de dix tubes, cinq tubes furent recouverts sur une partie de leur surface d'un écran en toile. Pour cela, de petits rectangles ayant une longueur égale aux deux tiers de la hauteur des tubes et une largeur égale à la moitié de la circonférence de ces mêmes tubes, furent découpés dans un tissu dont les mailles carrées,

relativement larges, avaient 1,5 mm. de côté et étaient séparées les unes des autres par un ou deux fils seulement. Les longs côtés de chacun de ces petits rectangles furent collés sur de fines bandelettes de papier et les écrans rectangulaires ainsi préparés furent fixés chacun à la surface d'un tube à essais. Dans chaque lot de dix tubes, cinq reçurent ainsi un petit écran, et cinq en restèrent dépourvus.

L'ensemble des trente tubes fut ensuite divisé en 5 groupes de six tubes, chacun de ces groupes comprenant :

1 tube	{ dont la paroi n'était pas recouverte d'un écran de toile }	et	{ contenant du milieu de Knop stérilisé }	et ne précipitant pas.
1 tube	{ dont la paroi était recouverte d'un écran de toile }	et	{ contenant du milieu de Knop stérilisé }	et ne précipitant pas.
1 tube	{ dont la paroi n'était pas recouverte d'un écran de toile }	et	{ contenant du milieu de Knop stérilisé }	et précipitant.
1 tube	{ dont la paroi était recouverte d'un écran de toile }	et	{ contenant du milieu de Knop stérilisé }	et précipitant.
1 tube	{ dont la paroi n'était pas recouverte d'un écran de toile }	et	{ contenant du milieu de Knop contaminé par des Bactéries }	et ne précipitant pas.
1 tube	{ dont la paroi était recouverte d'un écran de toile }	et	{ contenant du milieu de Knop contaminé par des Bactéries }	et ne précipitant pas.

Chacun de ces cinq lots de tubes fut exposé à l'un des cinq éclairagements que j'ai utilisés pour faire les expériences dont j'ai exposé les résultats dans la dernière réunion de la Société botanique¹; je ne reviendrai donc pas ici sur la manière dont ces éclairagements ont été obtenus. Sous chaque éclairagement, le groupe formé par les six tubes fut disposé de la manière suivante : les tubes furent placés dans un support qui les maintenait à leur base et à leur sommet. Ce porte-tube était fixé dans un abri constitué par une caisse en bois dont une paroi

1. COMBES (R.), *loc. cit.*

latérale manquait (c'est par cette face que pénétrait la lumière); la paroi supérieure était légèrement inclinée vers la paroi de l'abri opposée à la face par laquelle pénétrait la lumière, de façon à permettre l'écoulement des eaux de pluie. Le porte-tube était fixé sur la paroi inférieure de la caisse, près de la face opposée à celle par laquelle la lumière pénétrait. L'abri était lui-même assujéti sur une traverse horizontale, à une distance du sol égale environ à 1 m. 50; il était orienté de manière que la face par laquelle la lumière pénétrait fût dirigée vers le Nord.

Les tubes étaient placés dans le porte-tube, de façon que ceux dont la paroi était recouverte en partie d'un écran présentassent à la lumière la portion de leur paroi qui portait cet écran.

Les intensités lumineuses auxquelles se trouvaient exposés les tubes contenus dans les différents abris étaient respectivement plus faibles que celles auxquelles se trouvaient exposées les diverses séries de ballons dont j'ai parlé dans ma précédente Note; la lumière solaire, ou la lumière solaire tamisée par les toiles, éclairait en effet directement ces ballons, tandis qu'elle ne parvenait aux tubes qu'en pénétrant dans l'abri par la face ouverte au Nord.

Les divers groupes de tubes furent exposés à l'action des différents éclairéments à partir du 22 juin 1911 jusqu'au 3 novembre 1911; les expériences ont donc duré pendant 4 mois et demi.

Les résultats obtenus dans ces expériences sont les suivants :

1° Le développement du *Chlorella* s'est produit sous tous les éclairéments, et dans tous les tubesensemencés. A la fin des expériences, chaque tube contenait une quantité appréciable d'Algues.

2° Dans tous les tubes renfermant du liquide de Knop contaminé par des Bactéries, et quel que soit l'éclairément auquel ces tubes aient été soumis, le *Chlorella* s'est développé non seulement à la surface des liquides de culture et au fond des tubes, mais aussi contre les parois des tubes et en plus grande abondance sur la partie de la paroi recevant directement la lumière, que dans les autres régions.

Dans les tubes recouverts d'un écran en toile (Pl. X, fig. 1),

on distinguait très nettement, après avoir enlevé l'écran, que le dépôt d'Algues était beaucoup plus faible dans toutes les régions qui se trouvaient recouvertes par les fils, que dans celles qui étaient en face des mailles; les différents détails de l'écran se trouvaient ainsi très distinctement dessinés dans le dépôt d'Algues.

Le résultat de cette culture de *Chlorella* en présence de Bactéries, faite dans des tubes recouverts d'un écran de toile, est donc identique à celui que M. Dangeard¹ a obtenu en recouvrant d'un écran de dentelle un tube de culture renfermant du liquide de Knop dans lequel se développait du *Chlorella vulgaris*. Mais, en outre des lignes claires correspondant aux fils de l'écran et des plages foncées correspondant aux mailles, on distinguait dans le dépôt d'Algues, de longues et fines lignes verticales très foncées dont la formation avait été tout à fait indépendante de la présence de l'écran, car elles ne correspondaient à rien dans les détails de ce dernier.

Pour me rendre compte de la marche suivie par cette fixation du *Chlorella* sur les parois des tubes, et de la manière dont apparaissent les différentes lignes dont je viens de parler, j'ai fait l'expérience suivante: l'Algue a été semée sans aucune précaution d'asepsie dans un grand flacon de deux litres rempli d'un milieu de culture non stérilisé et très faiblement concentré en sels; une partie de la paroi du flacon a été recouverte de quelques larges bandes de papier noir, placées les unes verticalement et les autres horizontalement. Le flacon a été exposé dans un laboratoire, la partie recouverte de l'écran formé par les bandes de papier noir étant tournée du côté d'une fenêtre. On vit bientôt apparaître sur les parois du flacon, et, dans les conditions où je me suis placé, plus rapidement sur la paroi opposée à celle qui recevait directement la lumière que dans les autres régions, de fines lignes verticales constituées par l'Algue. A l'extrémité supérieure de chacune de ces lignes on distinguait une petite tache grise qui n'était autre chose qu'une colonie de Bactéries. Ces colonies s'étaient formées en des points quelconques de la paroi, aussi les sommets des lignes verticales des-

1. DANGEARD (P.-A.), *Sur les propriétés photographiques du Chlorella vulgaris*. (C. R. A. S., T. CXLIX, p. 797. Nov. 1909).

sinées par les Algues se trouvaient-ils placés à des hauteurs quelconques sur cette paroi. On pourra se rendre compte, par l'examen du flacon que je présente à la Société, que la direction de ces lignes verticales est tout à fait indépendante de l'éclairement de la région où elles se sont formées; c'est ainsi qu'elles existent aussi bien en une région dépourvue d'écran que derrière une des bandes de papier noir verticales. Lorsqu'une ligne a commencé à se former au-dessus d'une des bandes de papier placées horizontalement, elle se continue derrière cette bande de papier sans que la forte diminution de l'éclairement en cette région influe sur sa direction. La formation, contre les parois du flacon, des lignes verticales dont je viens de parler, aussi bien que celle des lignes très foncées dont j'ai signalé tout à l'heure l'existence dans les tubes à essais, est par conséquent nettement indépendante de l'éclairement. La présence d'une colonie de Bactéries à l'extrémité supérieure de chacune de ces lignes ainsi qu'un autre fait, sur lequel j'aurai à m'arrêter tout à l'heure, savoir : l'absence complète de toute fixation d'Algues sur les parois des tubes renfermant l'Algue en culture pure dans un milieu limpide, permettent de penser que le *Chlorella* ne peut se développer sur les parois verticales que lorsque des impuretés quelconques, déjà fixées sur ces parois, arrêtent les cellules d'Algues qui tombent constamment de la surface du liquide au fond des tubes, et leur servent de substratum. Lorsque ces impuretés sont de nature bactérienne, l'Algue se multiplie et se développe ensuite contre la paroi, suivant de fines lignes verticales dont on ne peut, je crois, attribuer la direction qu'à l'influence de la pesanteur.

Lorsque les colonies de Bactéries, continuant leur développement, arrivent à confluer et à former un voile uniforme, ce voile se couvre alors d'Algues; on a, dans ces conditions, contre la paroi des flacons de culture, une couche verte recouvrant toute cette paroi, mais non homogène, les lignes d'Algues formées les premières constituant des bandes plus foncées que le reste de la culture. Enfin, si le flacon est recouvert d'un écran qui détermine des inégalités de l'éclairement dans les diverses régions de ses parois, on peut observer des différences d'un

autre ordre dans la répartition des Algues, les régions les moins éclairées présentant un développement moins intense du *Chlorella* que les régions les plus éclairées.

Dans le cas de culture de *Chlorella vulgaris* en milieux impurs, il y a donc à considérer : d'une part, de fines lignes verticales dont la formation doit être rapportée à la fixation de cellules d'Algues sur des impuretés de nature bactérienne adhérant aux parois des récipients de culture, et au développement de l'Algue dans le sens vertical grâce à l'action de la pesanteur ; d'autre part, lorsqu'un voile continu de Bactéries a permis une fixation de l'Algue sur toute la paroi des récipients, des différences dans la rapidité du développement de l'Algue, suivant que la paroi sur laquelle ce développement a lieu reçoit une plus ou moins grande quantité de lumière.

3° Dans tous les tubes renfermant du liquide de Knop limpide et dépourvu de tout microorganisme autre que le *Chlorella vulgaris*, cette Algue s'est développée uniquement à la surface des liquides de culture et au fond des tubes ; jamais, en cultures pures et en milieu nutritif parfaitement limpide, le *Chlorella vulgaris* ne s'est fixé sur les parois des tubes de culture, quel que soit l'éclairement auquel les cultures aient été faites. Aucun des dix tubes, pourvus ou non pourvus d'écran, qui constituaient le lot des tubes contenant du milieu de Knop limpide ensemencé de *Chlorella* en culture pure, n'a présenté de développement de l'Algue sur les parois verticales (fig. 2).

A côté de ces faits, je tiens à mentionner une série de résultats que je dois à l'obligeance de M. Ravin, pharmacien major, et qui sont du même ordre que ceux dont je viens de parler. M. Ravin a été amené à entreprendre un grand nombre de cultures de *Chlorella vulgaris* et d'autres Algues, en vue d'étudier une question relative à la nutrition de ces végétaux. Toutes ces expériences ont été faites en cultures pures. Or, lorsque les milieux nutritifs employés étaient parfaitement limpides et n'avaient pas été accidentellement contaminés par des microorganismes étrangers, le *Chlorella* qui croissait dans ces milieux se développait sur le fond horizontal des ballons et ne se fixait pas sur les parois latérales de ces derniers. Je présente à la Société une photographie sur laquelle figurent

cinq de ces ballons (fig. 3). On voit que l'Algue se trouve exclusivement sur leur fond, et plus particulièrement dans la région périphérique où elle forme une bande verte figurée en noir sur la photographie. Quant aux parois latérales, elles ne présentent aucune trace de développement d'Algue. Par contre, lorsqu'une culture avait été accidentellement contaminée, il était facile de la reconnaître au milieu des autres, parce que précisément le *Chlorella* se fixait sur les parois latérales des ballons.

Ces faits viennent à l'appui de ceux que j'ai constatés dans les expériences dont j'indique ici les résultats : non-fixation du *Chlorella* sur les parois verticales des tubes quand les cultures sont pures, et, au contraire, fixation de cette Algue sur les parois verticales lorsque les cultures sont contaminées. (*A suivre.*)

Plantes nouvelles, rares ou critiques

(Suite)¹;

PAR MM. LES ABBÉS COSTE ET SOULIÉ.

Geranium bohemicum L. — A propos de cette plante, nouvelle pour la France, nous avons dit l'année dernière dans le Bulletin (Voir t. LVIII, p. 534), qu'elle avait été rencontrée dans les Alpes-Maritimes par notre zélé confrère M. le commandant Saint-Yves, de Nice. La vérité est qu'elle n'a pas été trouvée *personnellement* par M. Saint-Yves, mais au cours d'un voyage botanique dirigé en 1909 par M. E. Burnat et dont faisaient partie MM. Burnat, Briquet, Cavillier et Saint-Yves.

Pour distinguer cette espèce de sa voisine le *Geranium lanuginosum* Lamk, nous n'avons mentionné que les caractères morphologiques les plus apparents. C'est intentionnellement que nous avons passé sous silence les cotylédons, que nous ne connaissons pas. Comme ils ont, dans le cas présent, une grande importance, nous espérons que ce caractère sera, sans tarder, mis en évidence par les savants confrères qui continuent d'explorer avec tant de succès la circonscription des Alpes-Maritimes.

1. Voir plus haut, p. 373.