Chlorella Beijerinck

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz = Matériaux pour la flore cryptogamique suisse = Contributi per lo studio della flora crittogama svizzera**

Band (Jahr): **4 (1912)**

Heft 2

PDF erstellt am: **28.05.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

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

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Les cultures en liquides nutritifs (Detmer $^1/_3$) additionnées de 0,02 % de chlorure ferrique) révèlent au point de vue de la pigmentation de ces algues quelques particularités intéressantes. A la lumière diffuse toutes les cultures restent vertes; à la lumière directe le *S. obtusiusculus* rougit (4 mois), le *S. quadricauda* devient vert pâlissant, le *S. quadrispina* jaune prend une teinte rousse, le *S. costulatus* brun roux, le *S. spinosus* olive pâle rougissant, le *S. flavescens* olive pâle jaunissant et le *S. nanus* reste vert. Ainsi la tendance à former de la carotine qui est si bien marquée dans quelques espèces lorsqu'on les fait croître sur de l'agar sucré se manifeste aussi dans les milieux liquides; sur agar-glycose c'est le *S. obtusiusculus* qui rougit le premier et ceci aussi dans le liquide nutritif indiqué.

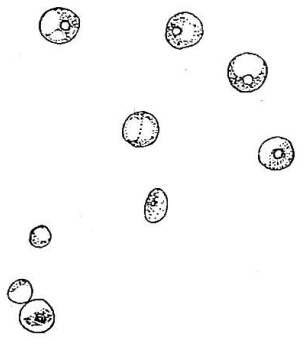

Fig. 79. *Chlorella vulgaris* Beijr. Culture sur agar-Detmer. Imm. 800 ×.

Chlorella Beijerinck.[1])

Wille[2]) réunit sous ce nom les genres *Chlorothecium* Krüger, *Palmellococcus* Chod., *Chloroidium* Nadson, *Krügera* Heering, *Acrosphaera* Gerneck, *Chlorococcum* auct. p. p., *Protococcus* auct. p. p.

Ce faisant, il concentre, en un même genre, des plantes à cellules libres, munies ou non d'un pyrénoïde, à chromatophore entier, perforé ou réticulé, à réserve amylacée ou oléagineuse. Il va sans dire que cette manière de faire peut avoir certains avantages, mais j'y trouve des inconvénients graves. Les plantes chlorelloïdes sont peu différenciées morphologiquement. On le verra dans la suite, il y a dans ce genre plus d'espèces qu'on n'en supposait. Les cultures nous ont révélé des formes bien distinctes par leur mode de vie et leurs sécrétions. Même dans le sous-genre *Euchlorella* il sera plus avantageux de séparer les espèces à pyrénoïdes de celles qui en sont dépourvues. Ce caractère a en effet, ici, une grande fixité et par conséquent une réelle valeur systématique.

Mais je ne saurais cependant aller aussi loin que Krüger et Nadson qui ont séparé du genre *Palmellococcus* Chod. les genres *Chlorothecium* Krüger et *Chloroidium* Nads. caractérisés par l'absence

[1]) Beijerinck, Kultur-Versuche mit Zoochlorellen, Lichenen-Gonidien und andern niederen Algen, Bot. Zeit. 48 (1890), 756.

[2]) Wille L. Conjugatae und Chlorophyceae, Engler und Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien, Nachträge zum 1. Teil, 2. Abteilung, Bogen 1—6, p. 56.

de pyrénoïde et la présence de matière grasse de réserve. Nous avons déjà réuni aux *Palmellococcus* les *Chlorothecium* de Krüger[1]) et nous continuerons à procéder ainsi, ce qui permet de mettre plus de clarté dans l'exposé et dans la systématique.

Les *Chlorella* proprement dits sont pourvus de pyrénoïdes, ne fournissent pas de zoospores et se multiplient exclusivement par sporulation. Ils ne se groupent pas habituellement en cénobes persistants, leurs cellules sont donc habituellement isolées; ils excrètent rarement une gelée générale, mais même alors ils sont disposés sans ordre dans ce mucus colonial. En quoi diffèrent-ils des *Protococcus* des auteurs? Disons tout de suite que ce terme de *Protococcus* a été appliqué à un si grand nombre d'algues différentes qu'il serait bien imprudent de ressusciter un terme général si ambigu. Ce nom a été employé pour la première fois par Agardh en 1824 (Syst. p. 13). Wille a montré que cet algologue entendait désigner par ce nom l'algue que j'ai plus tard nommée *Pleurococcus Naegelii* Chod. Cependant depuis longtemps on est convenu de considérer les *Protococcus* comme des Algues unicellulaires susceptibles de se multiplier par zoospores. Ainsi Kützing[2]) définit *Protococcus* comme un genre qui comprendrait des algues unicellulaires se multipliant par zoospores et par autospores (hypnospores A. Braun). Ce terme doit donc être exclu de la synonymie du genre *Chlorella* tel que nous le comprenons. Il se peut que plus d'un *Chlorella* dont nous donnerons la description ci-après ait été compris parmi les Pleurococcacées des auteurs, car le terme de *Pleurococcus*, depuis Meneghini jusqu'à Artari, a servi à désigner des plantes appartenant à des genres bien différents. Mais comme chacun le sait, ces *Pleurococcus* sont pour la plupart des espèces impossibles à identifier scientifiquement et sur lesquelles les auteurs bibliophiles pourront discuter à perte de vue. Seules les cultures pures peuvent nous permettre de distinguer les différentes espèces de *Chlorella*. Il nous a été facile de montrer dans les pages précédentes que même dans un genre dont la morphologie est beaucoup plus complexe, le genre *Scenedesmus*, la distinction spécifique, par simple examen au microscope, est chose vaine si elle n'est appuyée par des cultures pures. Combien plus ici, où manquent les particularités morphologiques qui permettent de séparer, avec plus ou moins de certitude, certains groupes de formes analogues.

---

[1]) Chodat, R. Etude critique et expérimentale sur le polymorphisme des Algues, Genève (1909), 103.

[2]) Kützing, Flora Europea Algarum, Lipsieae 1864, Sectio III (1868) 24.

Artari[1]) a eu le grand tort de n'avoir pas vu que le *Pleurococcus vulgaris* des auteurs se multiplie principalement par cloisonnement, mode de multiplication qui fait défaut aux vraies Cystosporées (Protococcacées auct.) et en particulier aux *Pleurococcus miniatus* Naeg., *Pl. conglomeratus* Artari, *Pl. regularis* Artari ou *Pl. Beijerinckii* Artari et de ne pas avoir saisi l'importance de cette distinction qui permet d'éloigner les vrais *Pleurococcus* des *Pleurococcus* à autospores auxquels fait défaut, comme à toutes les Cystosporées, le vrai cloisonnement.

Pleurococcus Beijerinckii Artari est la même chose que *Chlorella vulgaris* Beijr. débaptisé à tort par Artari; le *Pleurococcus regularis* du même auteur paraît être une espèce de *Coelastrum* tandis que *Pleurococcus conglomeratus* me semble être encore une grosse espèce de *Chlorella*. Mais dans un domaine si difficile, en l'absence de description plus détaillée, et surtout de cultures pures, toute identification est impossible.

Gerneck a plus ou moins décrit, sous ce nom trois espèces, de *Chlorella*[2]): Un *Chlorella vulgaris* var. *sulfurea* dont il dit qu'il ressemble au *Chlorella vulgaris* mais qu'il en diffère par son incapacité de vivre, comme cette espèce, sur des pots à fleurs imbibés du liquide Beijerinck! L'auteur qui n'a pas réalisé de cultures pures ne peut conclure avec sûreté, car l'empêchement de croître peut être attribué à des impuretés telles que bactéries, etc. Quoi qu'il en soit, la variété *sulfurea* Gerneck est si mal définie qu'il vaut mieux l'ignorer. La seconde espèce de cet auteur, *C. acuminata* qui est une plante sans pyrénoïde, de forme naviculaire, à cellules souvent acuminées à l'un des bouts pourrait être une espèce de *Coccomyxa* ou peut-être aussi une espèce voisine du *Monodus ovalis* Chod. Quant au *Chlorella ellipsoidea* Gerneck on pourrait au besoin la classer ici, mais ses cellules sont ellipsoïdes et pour cette raison il vaut mieux la placer dans le voisinage des *Oocystis*.

Chlorella vulgaris Beijr.

(Pl. IV, fig. 20, 22, 24.)

Ce nom a été établi par Beijerinck en 1890[3]). Les auteurs qui ont travaillé après lui ont décrit sous le même nom des cultures

---

[1]) Artari Al., Untersuchungen über die Entwicklung und Systematik einiger Protococcoïdeen, Bull. Soc. Imp. d. nat., Moscou (1892), 30.

[2]) Gerneck. Zur Kenntnis niederer Chlorophyceen, Beihefte zum Bot. C. B. XXI (1907), Abt. 2.

[3]) Beijerinck, Kulturversuche, etc. Bot. Zeit. 48 (1890), 725.

sur divers milieux, mais aucun de ces auteurs ne s'est occupé de comparer sérieusement les espèces au point de vue morphologique et au point de vue physiologique. Il n'est d'ailleurs pas certain que sous ce nom et à propos des diverses espèces qui ont été décrites, on ait toujours compris la même chose. Ainsi le pyrénoïde qui caractérise les vrais *Chlorella* au sens de Beijerinck ne semble pas avoir été bien observé par Artari[1]) puisqu'il nous dit: « Chick macht darauf aufmerksam, dass *Chorella pyrenoidosa* immer ein deutliches Pyrenoïd aufweist. Ich lege weniger Gewicht auf dieses Merkmal; denn das Pyrenoïd kommt wahrscheinlich bei allen *Chlorella*-Arten vor, nur ist es nicht immer deutlich erkennbar. *Chlorella communis* hat ein kleines, nicht immer deutliches Pyrenoïd. »

Artari met dans le genre *Chlorella: C. protothecoides* Krüger, *C. vulgaris* Beijr., *C. communis* Art., et *C. pyrenoïdosa* Chick. Malheureusement Artari n'a pas donné de son *Chlorella communis* une description différentielle qui soit suffisante. C'est donc un «Nomen nudum». D'après lui la différence physiologique serait que *Chlorella communis* se développerait faiblement sur peptone alors que d'après Beijerinck *Chlorella vulgaris* présenterait un maximum de croissance sur peptone; mais Grintzesco[2]) avait fait déjà remarquer que la peptone, à elle seule, n'est pas une nourriture de prédilection. Pour moi je pense que ces différentes indications proviennent du fait que ces auteurs n'ont pas expérimenté dans les mêmes conditions et à partir des mêmes milieux. Beijerinck utilise la gélatine comme milieu solide, tandis qu'Artari utilise des milieux liquides. Il ajoute 0,5 % de peptone. Dans ces conditions il est excessivement difficile de se faire une idée de la valeur à attribuer aux résultats d'expériences qui ne sont pas symétriques.

Nous nous sommes servis pour nos expériences différentielles d'agar-Detmer et toutes ces dernières ont été d'abord faites à la lumière diffuse.

Chlorella vulgaris var. *genevensis* Chod. (n° 19 de la collection). Cette plante a été isolée par la méthode décrite et à partir de l'eau de la tourbière de Lossy près Genève. Cette espèce est en culture depuis 1906. Cultivée sur agar sans sucre elle prospère mais ne se développe que lentement; elle reste vert foncé sur ce milieu. En six mois, à la lumière, elle y forme des disques minces, vert noir, de trois

---

[1]) Artari, A., Der Einfluss der Konzentrationen der Nährlösungen, Pringsh. Jahrb. f. w. Bot. 43 (1906), 179.

[2]) Grintzesco, Recherches expérimentales sur la morphologie et la physiologie du *Chlorella vulgaris*, Revue générale de botanique, XV (1903), 1.

millimètres de diamètre. Sur le même milieu, additionné de 2 % de glycose, et dans le même temps, les disques arrondis à contours réguliers atteignent plus d'un centimètre de diamètre. La couleur est vert pomme; la bordure est plus claire. Mais, en outre, ces disques montrent sur un fond plus clair des stries plus foncées, qui donnent à toute la colonie une apparence rayonnée. Ceci n'apparaît cependant que très tardivement (pl. IV, fig. 24).

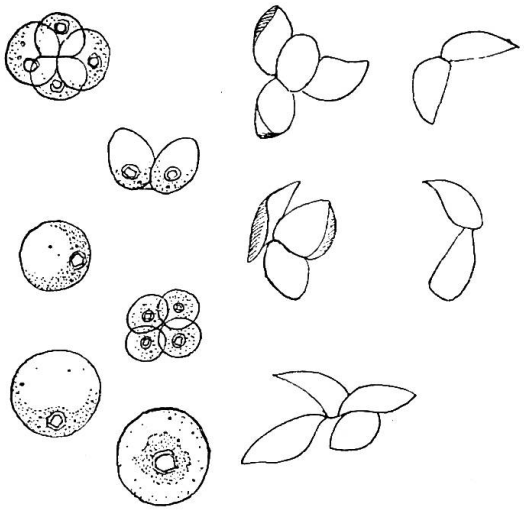

Fig. 80. *Chlorella vulgaris* Beijr. (n° 90 de la coll.) Multiplication par 4 et à droite membranes vidées. 1300 ×.

Le lactose additionné dans les mêmes proportions favorise légèrement le développement; les colonies qui restent minces et vert foncé atteignent au maximum 5 mm de diamètre. Le développement est presque deux fois plus fort que sans sucre.

Sur gélatine, la croissance est rapide et cependant il n'y a tout d'abord pas de liquéfaction; c'est tout au plus s'il y a ramollissement de la gélatine avec enfoncement de la colonie dans cette dernière, mais cette dernière ne s'enfonce que légèrement. Sur ce milieu la couleur, au bout de trois semaines, est vert foncé. Beijerinck indique un résultat négatif en ce qui concerne la liquéfaction. On a vu que, dans nos expériences, les colonies s'enfoncent un peu et ceci déjà au bout d'une semaine ce qui indique une faible peptonisation.

Nous avons d'autre part sélectionné, d'un autre milieu, un second *Chlorella* qui ressemble si fort au précédent, et dont toute la morphologie est si semblable qu'il vaut mieux ne pas le séparer spécifiquement. Nous l'appelons *Chlorella vulgaris* (n° 45 de la collection) var. *viridis* Chod. Des essais comparatifs montrent que son développement, dans les mêmes temps, est presque identique à celui du *Chlorella vulgaris* var. *genevensis;* en effet, il est aussi un peu accélérée dans sa croissance par l'addition du lactose; ses gros disques, vert pomme, sur agar-glycose sont généralement entourés d'un liseré plus clair. Mais on n'y remarque pas ces stries rayonnantes dont il a été question à propos de l'autre variété et la tendance à jaunir sur ce milieu est beaucoup moins marquée (pl. IV, fig. 20).

Enfin nous avons trié d'une autre provenance un *Chlorella vulgaris* (n° 90 de la collection) var. *intermedia* Chod. qui tient le milieu entre les deux races précédentes (pl. IV, fig. 22). Il croît plus

fortement sur gélatine, même sur agar sucré, que le *Chlorella vulgaris* var. *viridis*, même beaucoup plus vigoureusement. Au bout de trois mois il ramollit la gélatine beaucoup plus fortement que les deux races précédentes. Mais ce sont là des caractéristiques bien malaisées à définir et à cause de cela il convient de considérer ces trois formes comme constituant trois races physiologiques d'une seule et même espèce.

Pour se rendre compte du contenu cellulaire il faut cultiver ces Algues sur un milieu dépourvu de nourriture organique. Alors on voit bien que les cellules qui sont habituellement arrondies, ont un chromatophore pariétal, muni d'un seul pyrénoïde bien visible. Les trois variétés sont identiques quant à la forme et à la grandeur. Le diamètre des cellules varie entre 3 et 5 μ, mais on trouve souvent des cellules géantes qui atteignent et dépassent 10 μ. Il faut remarquer que *Chlorella vulgaris* se multiplie ordinairement par spores peu nombreuses, 2 à 4. Rarement, très rarement, la cellule mère devient un sporange à spores nombreuses. La forme de ces spores est habituellement ovale mais il en est d'ellipsoïdes. L'exuviation de ces cellules mères (fig. 80) se fait par rupture en deux valves ou en quatre valves qui, lors de l'émission des spores, divergent comme les folioles d'un trèfle, restant associées à leur base, un peu comme ce qui a lieu chez les *Dictyosphærium*. Mais à l'encontre de ce qui arrive dans ce dernier genre, les cellules filles sont immédiatement dispersées. Ce mode de sporulation est plus particulièrement visible dans une race isolée de l'eau de l'étang de l'Ariana.

Artari donne pour son *Chlorella communis* en milieu sucré 4 à 10 μ et il insiste sur le fait que dans ces solutions concentrées de sucre le diamètre des cellules est plus fort que d'ordinaire. Ceci ramène cette espèce vers le *Chlorella vulgaris* dont elle a les dimensions.

Il en est de même du *C. pyrenoidosa* Chick, lequel correspond comme dimensions et comme morphologie au *C. vulgaris* Beijr. Miss H. Chick indique 3 à 5 μ. Il n'est pas certain que les expériences de cet auteur[1]) soient valables en ce qui concerne la physiologie de cette Algue. Sa méthode est d'isoler l'algue en étalant une goutte qui contient les cellules à trier sur la surface d'un milieu gélatinisé. Cette méthode ne fournit aucune garantie de pureté et ne m'a jamais permis d'éliminer les bactéries. Chick a cultivé ce *Chlorella* dans de l'eau d'égout légèrement ammoniacale; elle en a suivi le développement et étudié les modifications subies par le milieu pendant la multiplication de l'Algue. La conclusion est que l'azote ammoniacal disparaît assez facilement tandis que l'azote des nitrates reste constant. L'algue semble

[1]) Chick, Proceed. Roy. Soc. 71 (1903), 458.

donc assimiler facilement l'azote sous la forme d'acide urique et d'urée. Cependant les analyses, sans doute difficiles à exécuter, à cause des petites quantités employées, ne sont pas très convaincantes. Nous n'avons pas non plus pu nous assurer que le milieu d'expérience fût réellement dépourvu de bactéries. Quoi qu'il en soit, la préférence que montre cette Algue vis-à-vis de l'azote organique ou ammoniacal par rapport à l'azote nitrique paraît assez générale chez les Algues dont il a été et dont il sera question. Elles sont toutes, à quelques exceptions près et qui seront signalées, des habitants des eaux putrides ou des eaux stagnantes. De là leur absence des eaux pures comme celle des grands lacs[1]) (Genève, Bourget etc.). Il y a aussi lieu de

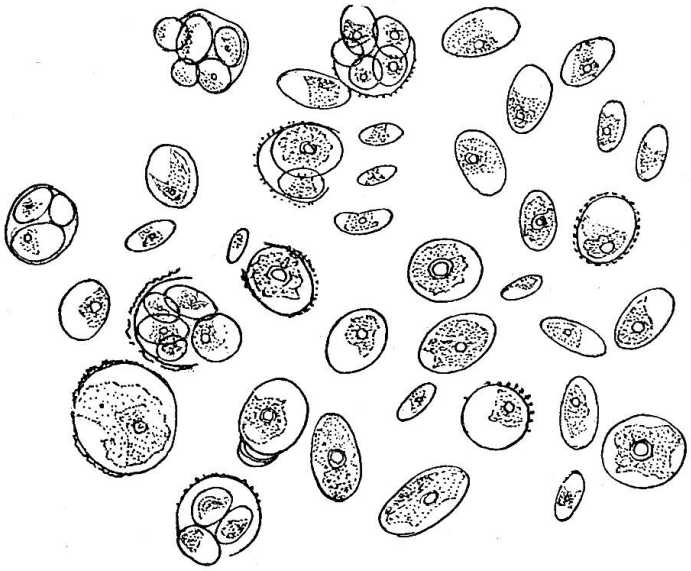

Fig. 81. *Chlorella lichina* Chod. (n° 67). Culture sur agar sans sucre. Immers. 800 ×.

penser que c'est justement à cause de cette préférence pour la nourriture toute faite que l'algologue qui trie les algues des étangs obtient ces saprophytes en premier lieu.

On a signalé plus haut l'affaiblissement de la couleur verte sur les milieux glycosés. Ce n'est pas un phénomène de dégénérescence proprement dit car il se produit dès le début et pendant que sur ce milieu l'Algue croît encore avec vigueur. Ce n'est pas non plus un effet de la multiplication rapide, une sorte d'épuisement, car sur les milieux peptone-glycose où la croissance est plus rapide que sur les milieux glycosés sans peptone, la couleur reste vert foncé. C'est aussi ce qui arrive sur la gélatine sucrée qui est un milieu riche en azote, dans laquelle le glycose est à la même concentration que dans les milieux

[1]) Chodat, R. Etudes de Biologie lacustre, Bull. Herb. Boiss. 1re Série V, (1897), 289 — Id. l. c. VI (1898), 64 etc. 160.

agarisés. Comme on le voit, l'addition de l'azote organique semble favoriser le maintien de la chlorophylle. Mais d'autre part les cultures sur agar dépourvu de sucre ou additionné de sucres peu assimilables, comme le lactose, se maintiennent presque indéfiniment vertes. La chlorose semble donc être attribuable, dans ce cas, à un mauvais équilibre entre l'assimilation simultanée des sucres et de l'azote. Cela ne peut, dans tous les cas, être dû à un effet osmotique puisque, à la même concentration, les sucres peu assimilables ne produisent pas cette décoloration. Dans les expériences à partir de milieux sans sucre, l'assimilation du carbone qui se fait au moyen de l'acide carbonique de l'atmosphère est lente, celle de l'azote nitrique contenu dans le milieu de culture peut suivre la même proportion. Au contraire sur les milieux sucrés non additionnés d'azote organique l'assimilation directe du carbone facilitée par la présence du sucre est si intense que l'incorporation de l'azote présentée sous forme de nitrate et qui doit passer par réduction à l'état d'azote organique ne peut se faire avec la même vitesse. Or, comme il paraît certain que la chlorophylle est un produit coloré, dû au métabolisme des albumines, ces dernières se produisant dans d'autres conditions, la formation de la chlorophylle se trouve entravée. Ce résultat est si général dans nos expériences, qu'il me paraît trouver son explication dans l'équilibre qui doit exister entre la vitesse de synthèse des matières protéiques (réduction des nitrates) et la nutrition hydrocarbonée.

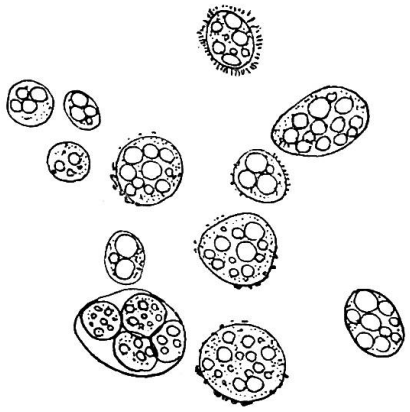

Fig. 82. *Chlorella lichina* Chod. Culture sur agar-glycose. Les cellules sont remplies d'huile; on voit bien les villosités de la membrane. 800 ×.

Ce qui amène à la décoloration, ce n'est donc pas le saprophytisme en lui-même qui rendrait inutile la présence de la chlorophylle; il ne saurait être plus complet que dans les cultures où le sucre assimilable, le glycose, accompagne la peptone. Il est bien évident que cela ne peut être attribué qu'à la présence d'un excès de matière hydrocarbonée par rapport à l'azote organique.

On voit bien ici combien il est faux de vouloir expliquer l'apparition d'un caractère ou sa disparition, par des raisons d'usage ou de désuétude. Car ici, c'est lorsqu'on rend la fonction chlorophyllienne et tout travail d'assimilation de matériaux organiques inutile, c'est-à-dire sur glycose-peptone, que le pigment qui ne servira à rien se forme avec le plus d'intensité!

Chlorella lichina Chod. (nov. spec.)
(Pl. III, fig. 16).

J'ai isolé cette espèce à partir de triages des gonidies du lichen *Cladonia rangiferina* L. Elle ne saurait être confondue avec les gonidies de ce lichen telles qu'on les observe en place. Elle doit donc être considérée comme un épiphyte. De même que sur le chapeau subéreux des champignons vivaces, par ex. *Polyporus versicolor*, *P. hirsutus*, s'établissent beaucoup d'algues vertes, comme aussi sur les écorces humides, les cellules hydrocytes des *Sphagnum*, de même des Chlorophycées variées trouvent, sur les écorces des lichens, un substra-

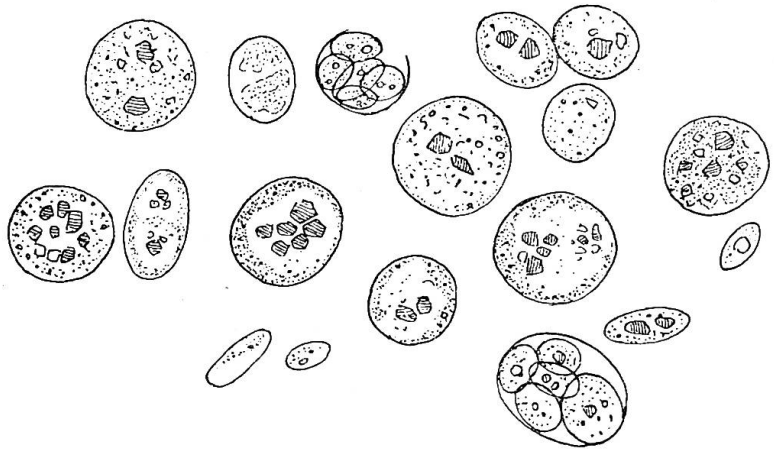

Fig. 83. *Chlorella lichina* Chod. Culture sur gélatine-glycose. Ici les pyrénoïdes sont nombreux. 800 ×.

tum humide convenable. C'est ainsi que nous avons extrait des triages de lichens plusieurs épiphytes intéressants, qui y vivent accidentellement ou peut-être habituellement.

Ce *Chlorella* (n° 67 de la collection) fournit sur agar sans sucre (Detmer 1/3) de petites colonies vert foncé; sur agar-glycose, des colonies vert pomme ou vert jaunâtre dont l'aspect est très caractéristique. Alors que celles du *C. vulgaris* Beijr. et de ses variétés sont visqueuses et brillantes comme un liquide à indice de réfraction élevé, la surface des colonies du *C. lichina* Chod. est, au bout d'un certain temps, terne, ridée et possède un liseré submarginal en relief qui augmente encore l'apparence irrégulière; l'éclat est celui de la cire et la surface n'est pas vernissée ni brillante. Cette même différence s'observe dans les cultures sur gélatine sucrée. Ici, les colonies du *C. lichina* Chod. sont irrégulièrement lobées, peu élevées, à surface irrégulière, finement chagrinée, plus tard grossièrement chagrinée comme du marroquin, jamais lisse ou vernissée, brillante, comme cela est le cas pour les colonies du *Chlorella vulgaris* sur gélatine. Sur agar

sans sucre, la croissance est lente, les colonies irrégulièrement festonnées, à surface qui est comme granulée, chagrinée. Au bout de six mois, sur agar sucré, les disques, qui atteignent 15 mm de diamètre, sont entourés par un cordon submarginal, le centre est légèrement umboné et cerclé de zones ou de rides circulaires un peu irrégulières. La surface est encore, quoique moins fortement, chagrinée. Même après un mois et demi, on n'observe aucune liquéfaction de la gélatine.

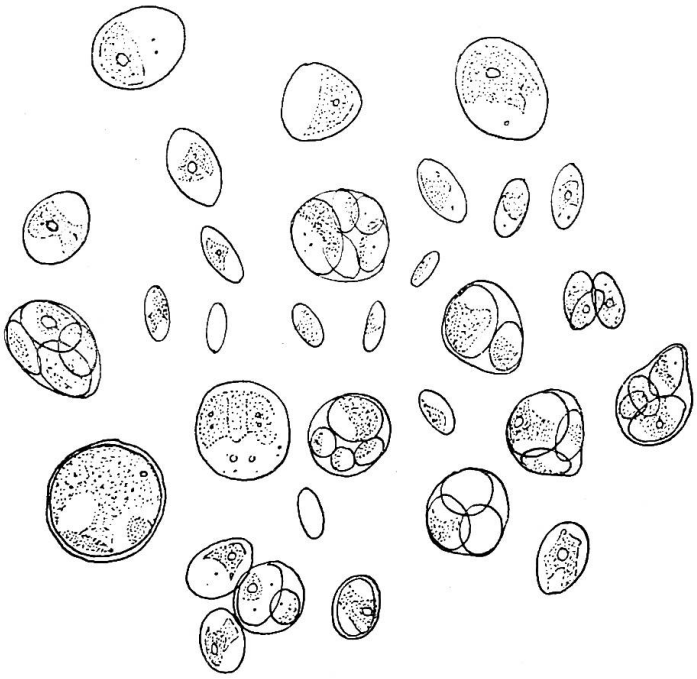

Fig. 84. *Chlorella lichina* Chod. Culture sur agar sans sucre. On voit bien le chromatophore. 800 ×.

Les cellules sont arrondies ou ellipsoïdes; en culture sur milieux agarisés sans sucre (fig. 81), la membrane des cellules se couvre de villosités ou de petites granulations; le chromatophore est unique, il est irrégulièrement lobé, faiblement coloré et muni, comme le plasma lui-même, de petites granulations; on n'y voit pas de gros globules huileux. Les autospores sont peu nombreuses ou nombreuses; beaucoup de ces dernières sont ellipsoïdes, oblongues et très inégales comme grandeur. Par ces caractères, cette espèce, extraite d'un triage du lichen *Cladonia rangiferina* L. se rapproche du *Chlorella lacustris* Chod. extrait d'un triage de l'eau du lac de Genève. Cependant, dans le même temps, c'est-à-dire au bout de deux mois, les colonies du *Chlorella lichina* atteignent 8 mm de diamètre, tandis que celles du *Chlorella lacustris* sont au moins du double plus grandes. La rapidité avec laquelle les colonies perdent leur éclat brillant est moins grande chez *Chlorella lichina* que chez l'autre. Chez l'autre espèce, à ce mo-

ment, le centre de la colonie est finement ridé tandis que chez celle du lac, ce centre est simplement umboné.

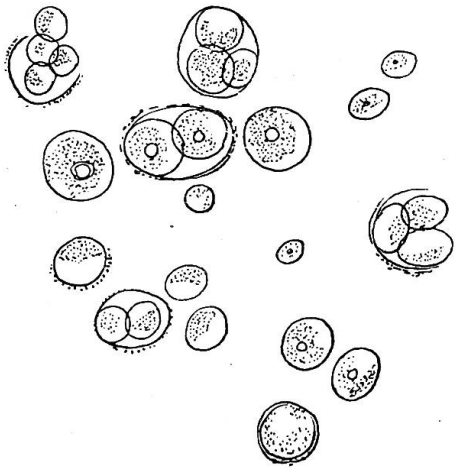

Fig. 85. *Chlorella lacustris* Chod. Culture sur agar-Detmer 1/3. (3 mois). Imm. 800.

Dans ces cultures, ainsi qu'il était probable, se développent des cellules dont la grandeur et le contenu varient selon le milieu nutritif. Pour étudier le contenu cellulaire, non masqué par des globules huileux, il faut s'adresser aux cultures sur agar sans sucre; mais déjà sur ce milieu la membrane se couvre en partie de villosités. Les cellules sont beaucoup plus grosses sur gélatine (fig. 83) et la membrane y est rarement couverte de villosités; ici, le chromatophore, plus pâle, montre ordinairement plusieurs pyrénoïdes parfois distribués dans le chromatophore, parfois comme accumulés autour du pyrénoïde primitif. Sur agar-glycose (fig. 82), la membrane est fortement granulée et couverte de villosités, les cellules finalement bourrées de gros globules huileux incolores. Alors la chlorophylle diminue et la structure du chromatophore devient indistincte.

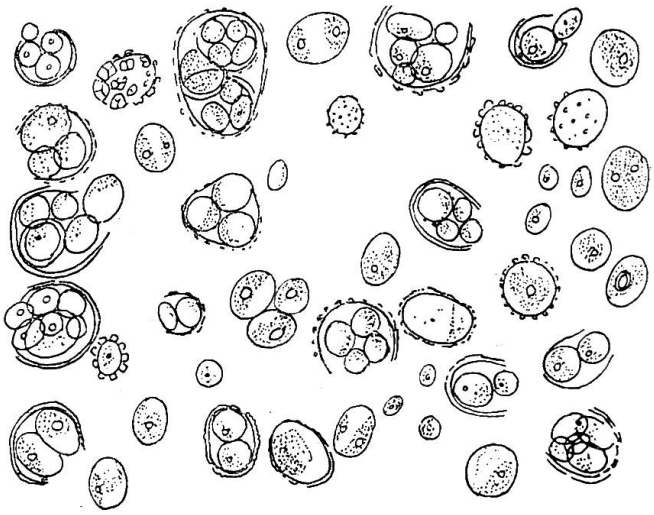

Fig. 86. *Chlorella lacustris* Chod. Agar-Detmer. 650 ×.

Dimensions: sur agar simple, cellules arrondies 12 μ; spores ellipsoïdes 12/6, 8/4, 5/6,5 μ; agar sucré, cellules arrondies 12/12, 10/10, 10/5 μ et plus petites; — gélatine sucrée, 15/15 μ, spores 7/7, 7/4, 10/4 μ et plus petites.

Chlorella lacustris Chod.[1])

(Pl. IV, fig. 19, 21, 23.)

J'ai déjà mentionné cette espèce dans le Polymorphisme, p. 105, et, sous le nom de *Chlorella villosa*, je l'ai figurée en culture pure sur agar-

[1]) Chodat, Etude critique et expérimentale sur le polymorphisme des Algues, Genève (1909), 105, table B, 5 (sub *C. villosa*).

glycose (l. c., pl. B., fig. 5). Elle a été isolée de l'eau du lac de Genève en 1906 (n° 44 de la collection). Sur agar sucré, elle forme au bout de trois mois, des disques peu brillants vert pomme, d'un aspect cireux, légèrement zonés, de 16 à 19 mm de diamètre, puis jaune vert, puis, après plusieurs mois, jaune canari (pl. IV, fig. 19). En 1911, les cultures vieillies semblaient mortes, plusieurs essais de réinoculation n'avaient pas réussi. En 1912, j'ai essayé de la repiquer en choisissant des portions qui étaient restées un peu vertes (fig. 85, 86). Ce dernier essai a réussi et la morphologie de la culture s'est maintenue identique à ce qu'elle était précédemment. Cependant l'algue présentait cette fois une remarquable stabilité en ce qui concerne la couleur verte, qui, après quatre mois de culture sur agar sucré, n'a guère pâli (pl. IV, fig. 23), alors que précédemment, en deux mois et dans les mêmes conditions, elle a passé du vert foncé au vert pâle jaunissant. En outre, sa vitesse de croissance était diminuée, car, dans le même temps, les disques n'avaient plus que la moitié du diamètre des mesures initiales. Il faut donc supposer que la culture prolongée sur agar sucré (à peu près 7 mois sur un milieu qui allait se desséchant), a permis la sélection des individus qui présentent une multiplication rapide et un pouvoir de décoloration moindre, tandis que les autres manifestent tous les degrés de nécrose et de nécrobiose. Ainsi ont été sélectionnés les individus qui présentaient une résistance plus grande

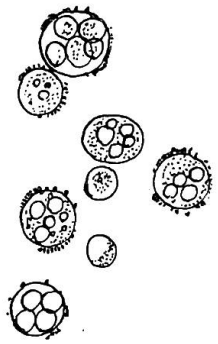

Fig. 87. *Chlorella lacustris* Chod. Agar-glycose. Beaucoup de globules de graisse. 650 ×.

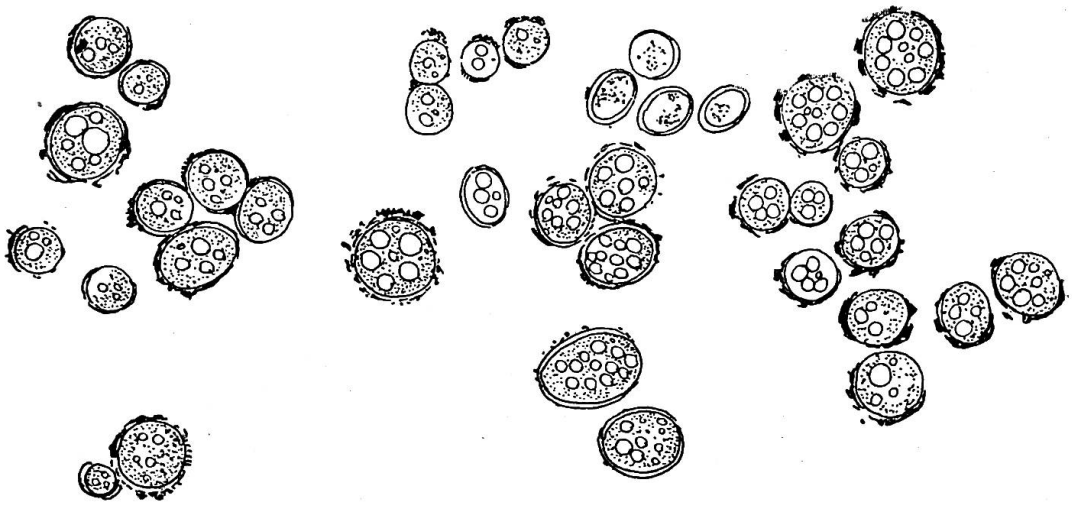

Fig. 88. *Chlorella lacustris* Chod. Trois groupes de gauche à droite: a. agar-glycose; b. maltose; c. lévulose. 800 ×.

à ce milieu et qui, en raison de leur multiplication plus lente, possèdent une plus grande stabilité de leur chlorophylle. Cependant, cette modification ne s'est pas maintenue. Après plusieurs réinoculations, les colonies ont repris leur vitesse initiale de croissance et, actuellement, il ne reste de ce changement qu'une résistance un peu plus grande à la décoloration par le milieu sucré.

Sur lactose, l'algue primitive se développe à peine plus que sur agar-Detmer sans sucre. La différence entre la dimension des cultures sur milieux glycosés et non glycosés est de six fois en diamètre; mais comme le développement en épaisseur de la colonie est considérable sur le milieu sucré, on peut estimer à dix ou vingt fois la plus grande intensité de développement lorsqu'on fournit du sucre à cette Algue.

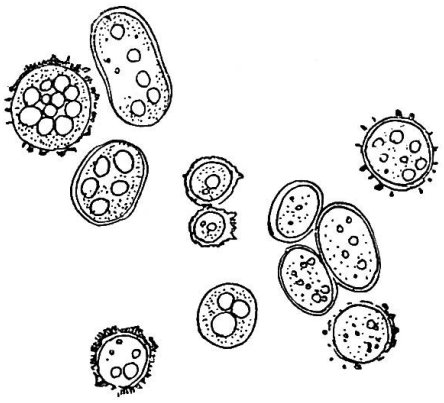

Fig. 89. *Chlorella lacustris* Chod. Agar-galactose. 800 ×.

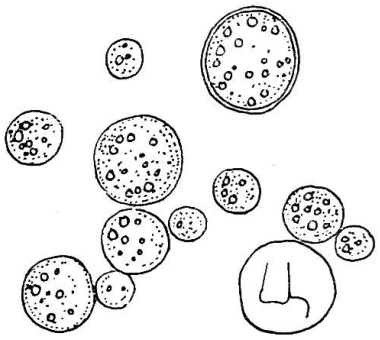

Fig. 90. *Chlorella lacustris* Chod. Agar-xylose. 800 ×.

Comme dans d'autres exemples déjà cités ou qui seront cités, sur un milieu non sucré elles restent indéfiniment vertes. Sur agar-peptone-glycose la croissance est accélérée; les disques restent verts, singulièrement ridés et toute l'apparence devient très caractéristique (pl. IV, fig. 21).

J'ai fait, à partir de cette Algue, une série d'expériences pour examiner la valeur des différents sucres au point de vue de la nutrition et par rapport à la coloration. On a préparé des milieux agarisés contenant 2 % des sucres suivants: glycose, lévulose, mannose, galactose, dulcite, xylose, arabinose. Les quatre premiers sucres sont des monosaccharides, isomères et du type d. Le dulcite est un alcool hexatomique dont on fait dériver le galactose. Le xylose et l'arabinose sont des sucres pentatomiques. Les expériences ont été commencées le 1er sept. 1911; on a noté le résultat le 1er oct. 1911. Ces résultats se sont maintenus dans la suite et se sont même accentués. Sur les hexoses (glycose, lévulose, mannose, galactose) le développement est bon; il est meilleur sur les trois premiers sucres et la colo-

ration des colonies est vert pomme pâle. Le lévulose semble donner une légère avance. Le galactose, tout en donnant à peu près le même développement, maintient la teinte vert intense et ne favorise donc nullement la décoloration. Sur ces hexoses, le développement de la colonie atteint, pour la durée d'un mois, 6 mm de diamètre et la colonie forme un disque épais. Au contraire, sur l'alcool hexatomique, le dulcite, le développement est si faible qu'on peut, sans crainte de se tromper, dire de cet alcool qu'il n'est pas assimilé. L'arabinose ne donne non plus une récolte plus forte que l'agar sans sucre. Cependant, la colonie qui est vert foncé sur galactose, dulcite et xylose, est ici plus vert pomme. C'est sur le dulcite que la couleur vert foncé

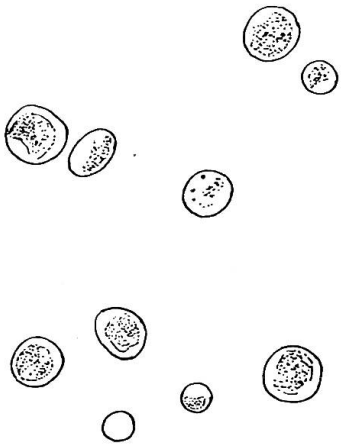

Fig. 91. *Chlorella lacustris* Chod. Agar-dulcite. 800 ×.

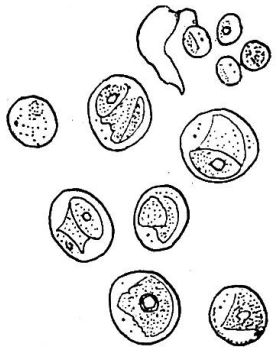

Fig. 92. *Chlorella lacustris* Chod. Agar-dulcite, librement dessiné.

est la plus forte. Le xylose paraît un peu assimilable, car sur ce milieu la colonie est presque deux fois plus forte que sur arabinose ou sur dulcite tout en restant bien plus petite que sur galactose.

Nous avons donné, dessinée à la chambre claire, l'apparence des cellules sur ces divers milieux. Les cellules sont les plus petites sur dulcite (fig. 91, 92); on n'y voit point de globules huileux, le pyrénoïde est bien distinct, mais l'enveloppe amylacée qui l'entoure est très mince. Sur arabinose, les cellules sont plus grosses, le pyrénoïde bien visible et l'huile fait défaut. Sur xylose (fig. 90), les cellules sont arrondies, fragiles; elles éclatent dans l'eau beaucoup plus facilement que les cellules qui ont crû sur d'autres milieux, même beaucoup plus facilement que celles qui ont crû sur l'arabinose. On peut donc dire que le suc cellulaire est chargé d'un sucre à pouvoir osmotique élevé et que la production de graisse qui se fait remarquer par le grand nombre de petits globules, inclus dans le protoplasma, n'a pas empêché

l'accumulation des sucres solubles dans les vacuoles. Sur ce milieu, les cellules sont grosses, aussi grosses que sur galactose.

Il faut remarquer que sur ces pentoses la membrane ne produit pas de villosités. Ces villosités manquent aussi sur le milieu gélatine sucrée. Au contraire, sur les hexoses, les cellules sont bourrées de globules de graisse, lesquelles sont un peu moins abondantes sur galactose que sur les autres hexoses (fig. 87, 88).

Ces essais touchent à la question de la spécificité. Faut-il admettre que les sucres-hexoses, glycose, fructose, mannose, ont la même valeur nutritive et que, par conséquent, la structure stéréoisomère de

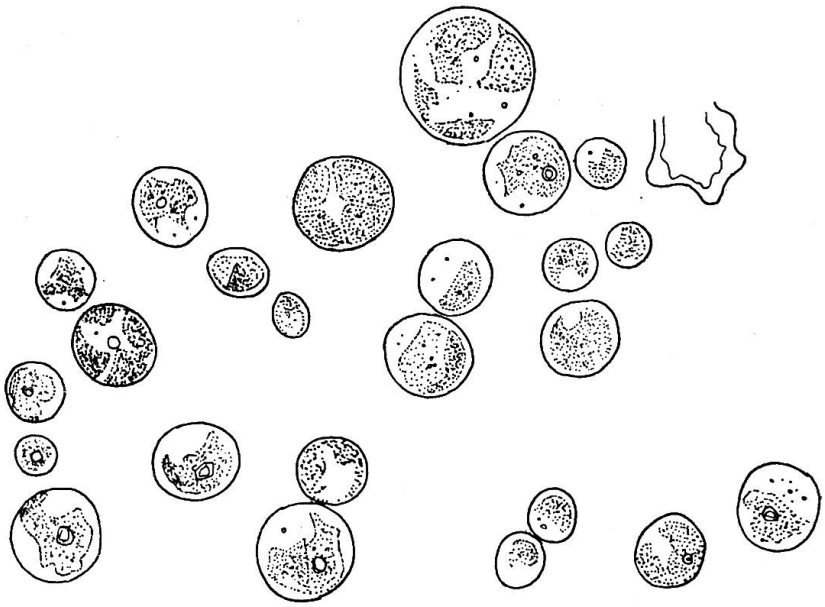

Fig. 93. *Chlorella lacustris* Chod. Agar-arabinose. 800 ×.

ces divers sucres n'a pas d'importance pour leur assimilation et qu'ils sont directement assimilés comme tels, chacun ayant la valeur d'un *matériel de construction indifférent.*[1]) C'est là une question difficile ! N'oublions pas, en effet, que ces trois sucres sont susceptibles de se transformer les uns dans les autres. Les ions OH, par exemple, dans les hydrates alcalins, les hydrates alcalino-terreux, l'ammoniaque, les carbonates d'ammonium ou alcalins, etc., effectuent cette transformation (vid. Tanret Ber., 3, 47, 392; Lippmann, Zuckerarten, p. 392). Ainsi, en présence d'une solution de potasse à 5 %, le glycose fournit au bout de 10′, 44 % de glycose, 6 % de mannose et 25 % de fructose. Ces mêmes transformations sont aussi produites par certains sels qui agissent à la façon d'alcalins, ainsi les acétates et les tartrates (vid. Loby de Bruyn et Weck. C R 14, 156). Même les

[1]) Abderhalden, E., Actes de la Soc. helvétique des sc. nat. (1911).

sels neutres, en dissociation, effectuent cette transformation. Ainsi, dans une solution de 60 ccm de glycose à 25 %, dans l'eau additionnée de 4,47 % de chlorure de potassium ou d'autres sels neutres, ce sucre subit cette transformation. Sans doute, ces modifications se passent à une température élevée, mais tout porte à croire que le végétal peut aussi opérer ces inversions à la température ordinaire.

Quoi qu'il en soit, il y a un parallélisme entre la valeur nutritive de ces sucres et leur capacité de se transformer les uns dans les autres; leur action sur la décoloration des cellules vertes est aussi du même ordre. Au contraire, le galactose, qui, à en juger d'après la grosseur des colonies, paraît être fortement assimilé, donne naissance à moins de graisse et laisse la chlorophylle inaltérée (fig. 89). Le galactose, dans la série des hexoses, occupe, par rapport au glycose, mannose et fructose, une place à part. Ainsi le fructose, qui est une cétose, est plus voisin dans ses actions physiologiques du glycose, qui est une aldose, que cette dernière du galactose, qui est aussi une aldose.

Remarquons aussi que le dulcite, l'alcool polyatomique dont dérive le galactose, n'a, dans nos expériences, aucune valeur nutritive, alors que son aldéhyde, le sucre galactose, est pour ces algues une bonne source de carbone. Nous avions fait aussi des expériences à partir de l'alcool hexatomique, le mannite, dont dérivent les hexoses, glycose, fructose et mannose. Mais ces cultures se sont infectées et nous n'avons pu les prendre en considération. Par contre, nous avons fait, à propos d'autres algues, des expériences qui ont montré que cet alcool a une valeur nutritive égale ou presque égale aux hexoses qui en dérivent, tandis que le dulcite est inactif, alors que son aldose, le galactose, est nutritif. L'organisme animal assimile difficilement les alcools polyatomiques comme le mannite et le dulcite. Il faut cependant se garder de généraliser, car on sait que la fermentation des sucres divers dépend aussi de la nature du ferment organisé. Ainsi, le ferment extrait des levures, la zymase, fermente en alcool et en acide carbonique les d. glycose, d. fructose, d. mannose et aussi le d. galactose, mais ce dernier plus lentement que les autres. Quant aux levures elles-mêmes, elles fermentent aussi moins facilement le galactose que les manno-hexoses (1 ½ fois moins). Il y a même une levure, le *Saccharomyces apiculatus* Rees. qui n'attaque pas du tout le galactose.[1]) Constatons que le galactose est fermenté difficilement par des levures qui, cependant, contiennent de la zymase. Armstrong en conclut que la fermentation du galactose est produite par un mé-

[1]) Voit, Über das Verhalten der Galaktose beim Diabetiker; Armstrong, Studies on Enzymaction, VIII, Proceeding Roy. Soc., Serie B, 76 (1905), 600.

canisme particulier. Ainsi, les *Saccharomyces Pombe* Lindner, *S. Ludwigii* Hansen, *S. saturnus* Klöcker, *S. anomalus* Hansen, *S. octosporus* Beijr, *S. Klöcker* auct., *S. apiculatus* Rees. et d'autres qui fermentent les hexoses cités ne produisent pas d'alcool à partir du galactose. Dans toutes nos expériences sur la culture des Algues, le galactose occupe toujours une situation particulière qui dépend certainement de sa configuration stéréo-chimique. Ordinairement, il ne favorise pas l'étiolement. Dans le cas présent et au point de vue plus particulier de la production de l'huile et des villosités de la membrane cellulaire, il se comporte à la façon des autres hexoses. Quant au xylose, sa valeur nutritive, plus grande que celle de l'arabinose, se vérifie en ce qui concerne une autre Algue, le *Chlorella Cladoniae* Chod., une pseudo-gonidie de *Cladonia endiviaefolia* Fr. et de *Cladonia rangiferina* L. De même, il se produit chez cette Algue de la graisse aux dépens des mêmes sucres hexoses, mais pas aux dépens du xylose. Cependant, la valeur nutritive du xylose comparé au dulcite et à l'arabinose, se traduit par la dimension des cellules, lesquelles sont beaucoup plus grosses.

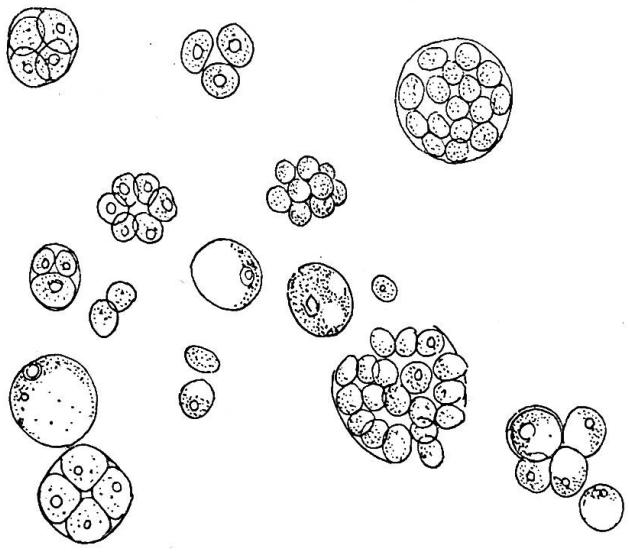

Fig. 94. *Chlorella rubescens* Chod. Culture sur agar sans glycose. 800 ×.

Dimensions: dulcite 9/9, 8/8, 5/5 μ; arabinose 10/10, 5/5 μ; hexose 6 à 10 μ; xylose 6 à 12 μ; Detmer-agar 3 à 10 μ.

Soit par l'apparence des cultures, soit par la morphologie des cellules et leur contenu, le *Chlorella lacustris* est voisin du *Chlorella lichina*, mais les différences essentielles sont, en plus des différences d'intensité de croissance déjà citées:

1° la prédominance dans le *Chlorella lichina* des spores ellipsoïdes et même oblongues, le diamètre plus grand des sporanges;

2° dans les vieilles cultures sur agar-glycose, le *Chlorella lacustris* apparaît sous forme de colonies larges entourées d'un cordon submarginal épais; elles possèdent un ombilic saillant à partir duquel rayonnent de faibles rides, mais il n'y a pas le granulé fin des colonies du *Chlorella lichina* et l'apparence

céracée est beaucoup plus marquée que chez cette dernière (pl. III, fig. 16 et pl. IV, fig. 19);

3° sur gélatine sucrée, il y a aussi des différences notables, en particulier la teinte plus verte du *C. lichina*, la surface plus irrégulière des colonies étalées et, enfin, chez la même espèce, sur ce même milieu, les cellules deviennent très grosses, tandis que celles du *C. lacustris* ne prennent qu'un développement à peine supérieur à ce qu'elles seraient sur agar sans sucre;

4° la multiplication des pyrénoïdes est très marquée dans le *C. lichina*, insignifiante chez le *C. lacustris*. Les disques de cette dernière espèce sur gélatine sucrée sont au bout de trois mois de 2 cm de diamètre. La surface est à peu près lisse, mais pas très brillante et toute la colonie prend l'apparence de la cire.

Chlorella rubescens Chod.[1])

(Pl. III, fig. 15).

Cette espèce isolée d'une eau du marécage tourbeux de Lossy (Hte Savoie) a déjà été étudiée dans mon Etude critique et expérimentale sur le Polymorphisme des Algues. Elle se reconnaît facilement à ses colonies qui sur agar-glycose finissent par devenir rouge vif intense. Il faut cependant quelques mois pour qu'à la lumière diffuse, cette vive coloration apparaisse dans toute sa pureté. Il est intéressant de constater que sur agar-lactose la dimension des colonies est à peine inférieure à celles des colonies sur glycose. Mais dans le même temps, les disques sont rouges-jaunes d'une teinte plus effacée, ils sont aussi plus huileux et plus lisses que sur le glycose. Alors qu'en six mois le diamètre de ces disques peut atteindre 12 mm sur agar sucré, sur agar-Detmer 1/3 sans sucre, les disques, dans le même temps, ne dépassent pas 2,5 mm; ils restent vert foncé sans trace de caro-

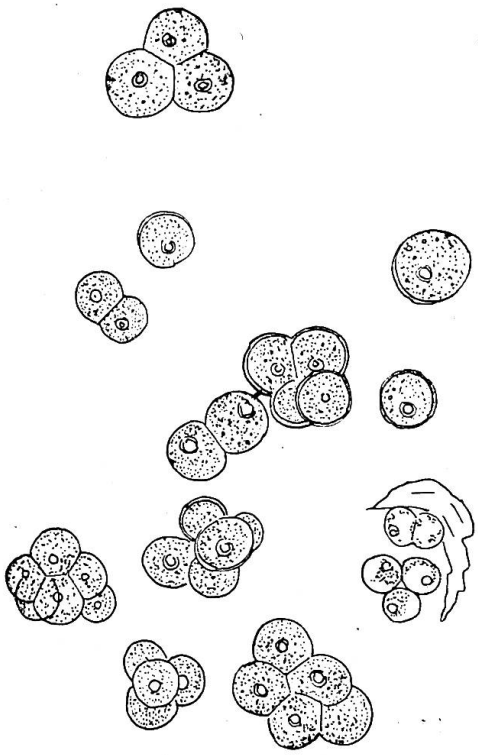

Fig. 95. *Chlorella coelastroides* Chod. Culture sur agar simple sans glycose. 800 ×.

[1]) Chodat, R., Polymorphisme, l. c. (1909), 103, tab. XV, G. H.

tine. Mais si au milieu sucré on ajoute de la peptone les disques deviennent encore plus gros, ils y sont granulés sans rides rayonnantes et de couleur vert olive foncé. Cultivée comparativement à la lumière et dans l'obscurité le *Chlorella rubescens* quand on lui fournit du glycose se développe bien dans les deux cas, mais dans l'obscurité le développement est considérablement ralenti. Sur agar-mannite 1 % il s'accroît peu dans la lumière comme dans l'obscurité. Par contre le maltose favorise son développement. Cultivée sur gélatine sucrée cette Algue a complètement liquéfié le milieu. Il y a peu à dire quand à sa morphologie. Examinées à partir des cultures sur agar-Detmer 1/3 les cellules de cette algue sont arrondies et à membrane lisse; le chromatophore est en une cloche qui entoure un plasma plus ou moins vacuolisé; il y a beaucoup de petites granulations. Il n'est pas rare de voir directement le noyau. Le pyrénoïde sur ce milieu est toujours très distinct (n° 24 de la collection).

La multiplication se fait par spores, deux, quatre ou un multiple de quatre (fig. 94). Les spores sont souvent inégales car leur formation n'est pas nécessairement simultanée et leur croissance à l'intérieur du sporange souvent irrégulière. Si la forme du sporange est presque toujours arrondie, les spores sont souvent ellipsoïdes mais le type général des cellules est cependant la forme ronde. On voit sur les milieux sucrés apparaître la carotine dans le chromatophore lui-même sous la forme de petits grains rouges. Il arrive assez souvent que les produits de la division restent adhérents même après leur expulsion de la cellule mère. Ils forment alors des groupes botryoïdes plus ou moins compacts. Le chromatophore étant pariétal et couvrant tout un côté de la cellule, sa forme exacte est malaisée à définir. Dimensions: 3—18 μ.

Chlorella cœlastroides Chod.[1])

(Pl. III, fig. 14).

Les cultures (n° 22 de la collection) de cette dernière espèce ressemblent à celles de la précédente, mais jamais elles ne prennent sur agar sucré la teinte rouge brique, rouge cinâbre qui, après plusieurs mois, caractérise son congénère. Sur agar simple elle croît lentement et y forme, en un mois une petite tache de un ou deux millimètres de diamètre, d'un vert foncé. Au bout du même temps sur agar-glycose elle forme des disques arrondis un peu zonés, secs, vert foncé ou vert olive, à peine granulés à leur surface, lisses, à peine brillants. Sur gélatine le développement est rapide et la couleur se maintient

[1]) Chodat, Etude critique et expérimentale, etc., Genève (1909), 103.

très longtemps verte. Sur l'eau de levure agarisée elle reste verte, mais ce milieu ne lui fournit pas les éléments nécessaires à un bon développement. Avec le temps, les disques sur agar-glycose commencent par pâlir au centre qui devient abricot-pâle puis brunâtre, tandis que la bordure reste encore verte; plus tard encore la bordure est vert olive foncé, le disque olive pâle, finalement ces disques passent par le brun, puis arrivent à la couleur ocre plus ou moins rouge ou brunâtre, finalement brune (pl. III, fig. 14). Cette coloration ne se fait tout d'abord qu'en surface; dans l'intérieur les colonies sont vertes. Cette transformation est beaucoup plus forte à l'obscurité. Cependant la croissance totale à l'obscurité est considérablement ralentie.

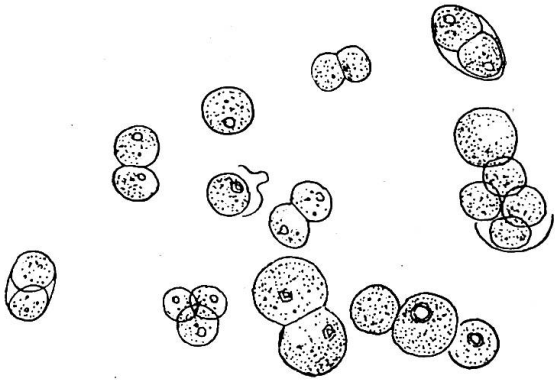

Fig. 96. *Chlorella coelastroides* Chod. Comme fig. 95. 800 ×.

Cultivée sur gélatine non sucrée, elle la liquéfie fortement si on l'expose à la lumière diffuse; les colonies sont alors vertes et elles s'enfoncent dans l'entonnoir de peptonisation. Dans l'obscurité, la liquéfaction comme tout le développement est ralenti. Sur gélatine-glycose (2 %) il y a également liquéfaction, mais les colonies brunissent. Ce phénomène est aussi moins intense dans l'obscurité.

Sur gélatine additionnée de 0,5 – 0,25 % de peptone on voit que l'addition de cette peptone ralentit le développement. La liquéfaction de la gélatine est de même progressivement diminuée par l'addition de peptone et est inversément proportionnelle à la richesse en peptone, dans les conditions de concentration indiquées. La lumière favorise beaucoup la croissance sur ce milieu et la teinte verte des colonies se maintient longtemps mais s'altère dans l'obscurité. On a dit que la liquéfaction est plus intense à la lumière qu'à l'obscurité; mais cette liquéfaction en lumière diffuse diminue à mesure que cette quantité de lumière diminue.

L'addition de glycose diminue la sécrétion du ferment protéoclastique. La liquéfaction se fait à peu près égale dans des milieux variant de 1 à 10 % de glycose, si on expose ces cultures à une lumière diffuse suffisante (devant une fenêtre au Nord); dans une intensité lumineuse plus faible, c'est-à-dire loin de la fenêtre la liquéfaction diminue avec l'augmentation de glycose dans le milieu. Dans une expérience on a constaté qu'à partir de 7 % cette liquéfaction

n'avait plus lieu. En outre, dès qu'on a dépassé la dose utile (1 à 2 %) la vitesse de croissance des colonies diminue avec l'enrichissement en glycose. On peut donc en tirer la conclusion que le pouvoir liquéfiant croît parallèlement avec la vitesse de croissance. La production du pigment rouge marche également de pair avec l'enrichissement en glycose.

A l'obscurité, cette diminution du pouvoir liquéfiant en fonction de la concentration du glycose est encore plus marquée. Au dessus de 3 % de glycose la liquéfaction n'a plus lieu. Ici encore, on voit un parallélisme complet entre l'intensité du développement et le pouvoir liquéfiant.

Contrairement à ce qui a été constaté pour le *Chlorella rubescens* Chod., le lactose n'est pas directement assimilé par le *Chlorella coelastroides* Chod. Sur ce milieu les colonies restent petites et pâles, surtout à l'obscurité [1]). L'amidon soluble ne lui convient pas non plus comme source de carbone, mais cette algue se développe très bien sur le mannite qui ne convient pas à la précédente.

Sur agar non glycosé (fig. 95 et 96) cette algue forme des cellules rondes très rarement un peu ellipsoïdes à chromatophore un peu pariétal, munie d'un pyrénoïde. Il y a beaucoup de petits granules dans le plasma et autour du chromatophore. La multiplication par spores se fait par deux ou par quatre. Il y a rarement un plus grand nombre de spores, aussi la grandeur de ces dernières est-elle proportionnellement plus grande que celle de l'espèce précédente; elles sont ici beaucoup plus régulières et plus généralement arrondies.

Ces spores au moment où elles sont mises en liberté restent très souvent adhérentes par deux ou par quatre, parfois groupées en tetraèdre. Il n'y a pas sur ce milieu la multiplication par spores abondantes comme chez le *Chlorella rubescens* Chod.

Dimensions: 5—18 μ — cénobes 20 μ.

La morphologie de cette espèce pose une question intéressante de systématique. Faut-il appeler *Coelastrum* les Cystosporées (Protococcacées) arrondies dont les spores parfois libérées sortent aggrégés en cénobes botryoïdes? On voit clairement que le *Chlorella coelastroides* Chod. pourrait au besoin être placé à la base des *Coelastrum*, lesquels produisent souvent des cellules isolées chlorelloïdes. Ceci arrive non seulement dans le *C. microporum* Næg. [2]), mais chez des *Coelastrum* appendiculés comme le *C. proboscideum*. J'ai à propos

[1]) Grobéty, A., Contribution à l'étude des Algues en culture pure. Travaux de l'Institut de botanique, 8e série, VIIe fascicule. Bull. Soc. bot. Genève, IIe série, III (1911).

[2]) Chodat, Etude l. c., p. 106, pl. XIV.

de cette espèce fait avec Mlle Rayss des cultures pures qui démontrent une extrême variabilité et qui amènent à cette conviction que les *Coelastrum* les plus compliqués peuvent se présenter sous les formes les plus aberrantes et en particulier se dissocier en cellules chlorelloïdes ou en cellules Polyedrium. Il va de soi que la définition du genre est une question de mesure et que des *Coelastrum* aux *Chlorella* et vice-versa il y a les transitions que j'ai décrites autre part. Ceci nous montre combien il est fâcheux de disposer en des familles distinctes les *Chlorella* et les *Coelastrum*.

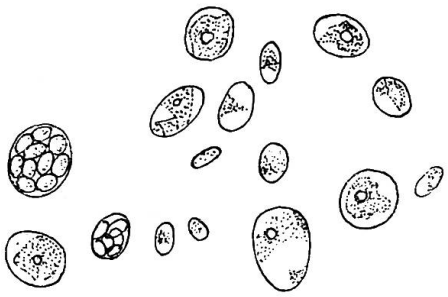

Fig. 97. *Chlorella viscosa* Chod. Culture sur agar sans sucre. 800 ×.

Chlorella viscosa Chod. (nov. spec.)

Ce *Chlorella* a été isolé à partir de triages effectué dans le but d'isoler les gonidies du *Cladonia endiviaefolia* Fl.

Il forme (n° 69 de la collection) sur agar-Detmer 1/3, des colonies vertes qui en trois mois atteignent 2 à 3 mm de diamètre; elles sont brillantes, un peu bombées. Sur agar-glycose elles forment rapidement de gros disques épais brillants de couleur vert marbré, d'un vert gai irrégulier. Ces disques ne sont pas zonés, ni rugueux ni plissés mais parfaitement lisses. Avec le temps les cellules se décolorent sur ce milieu et la colonie brillante qui atteint en six mois 1 à 2 centimètres de diamètre prend une teinte jaune très caractéristique.

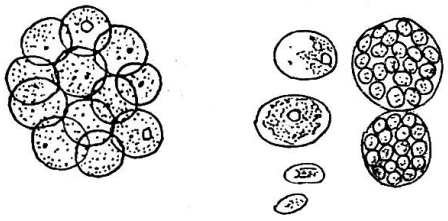

Fig. 98. *Chlorella viscosa* Chod. Culture sur gélatine sucrée. 800 ×.

La croissance sur gélatine sucrée est rapide; il se forme tout d'abord des croûtes festonnées et ridées, de couleur foncée, lesquelles s'étalent progressivement sur le milieu et qui en un mois et demi atteignent un diamètre de trois centimètres. La surface est comme semée de petites

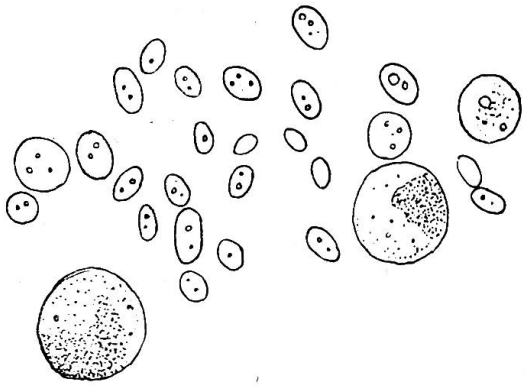

Fig. 99. *Chlorella viscosa* Chod. Agar-glycose. 800 ×.

dépressions. La portion qui se développe dans la gélatine se décolore et prend une teinte ocracée. Il n'y pas de liquéfaction.

Sur agar sans sucre (fig. 97 et 100), les cellules sont de forme variée, arrondies, plus ou moins ellipsoïdes; les sporanges sont sphé-

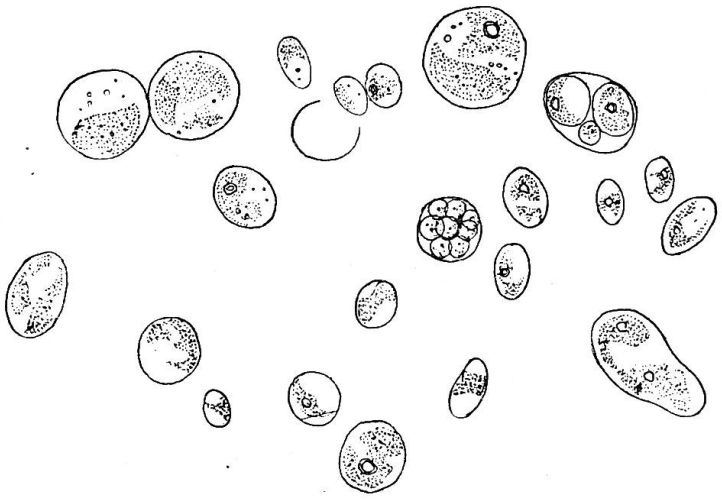

Fig. 100. *Chlorella viscosa* Chod. Agar-Detmer 1/3. 800 ×.

riques et produisent beaucoup de spores arrondies ellipsoïdes, oblongues, etc. Le chromatophore est irrégulièrement incurvé en plaque ou en long ruban contourné. Il y a un pyrénoïde assez difficile à distinguer mais qui apparaît clairement en utilisant l'eau iodée. Sur ce milieu le contenu cellulaire est un peu granuleux; les cellules spores sont oblongues et nombreuses. Cette espèce

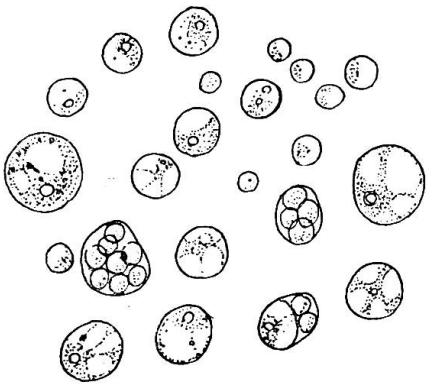

Fig. 101. *Chlorella luteo-viridis* Chod. Culture sur agar-Detmer 1/3. 800 ×.

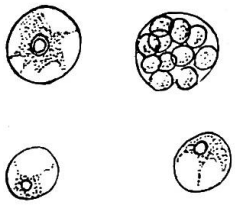

Fig. 102. *Chlorella luteo-viridis* Chod. Culture sur agar-glycose. 800 ×.

par sa morphologie est intermédiaire entre les *Chlorella* et les *Oocystis*.

Sur agar-glycose on trouve (fig. 99), à côté de grosses cellules géantes arrondies, beaucoup de petites spores ellipsoïdes incolores dépourvues de chlorophylle mais riches en granulations très réfringentes.

Sur gélatine sucrée (fig. 98) il y a beaucoup de grosses cellules à pyrénoïde distinct; la plupart de ces cellules sont divisées en petites spores plus grosses, arrondies, groupées en forme de mûre.

C'est de tous nos *Chlorella* celui qui se développe le plus activement sur gélatine-glycose. Il n'y forme pas de gelée. Ce serait une des espèces qui se prêterait le mieux par sa rapidité de croissance à des expériences de physiologie.

Dimensions: 6/12 μ. – 15 μ. – spores 5/2 – 5/6 – 2,5/2,5 μ.

Chlorella luteo-viridis Chod. (nov. spec.)

Cette espèce m'a été envoyée par Monsieur Kufferrath qui l'a isolée d'une eau de Belgique.[1]) Elle diffère des précédentes par ses colonies jaunes et vertes sur agar sucré. Sur agar sans sucre ces colonies restent vertes mais se développent peu; en deux mois elles

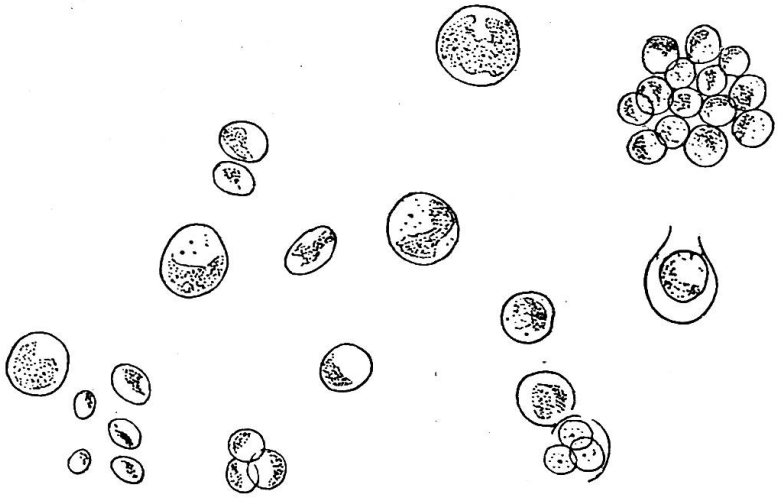

Fig. 103. *Chlorella Cladoniae* Chod. (nos 62 et 68). Culture sur agar sans sucre. 800 ×.

y atteignent à peine deux millimètres de diamètre. Au contraire, sur agar-glycose les disques dépassent plus de 2 cm de diamètre, ils sont zonés vers le bord, le centre reste vert pomme, il est entouré par un anneau vert, puis par un anneau jaune. Plus tard il se fait du centre vers la périphérie quelques stries rayonnantes jaunâtres. La surface des disques est d'un éclat graisseux. Sur gélatine-glycose ils forment de gros boutons vert jaune granulés; plus tard les colonies s'étendent et verdissent à la surface. Il n'y a aucune liquéfaction (Pl. III, fig. 13).

Les cellules sont presque toutes arrondies (fig. 101, 102) à membrane mince, le plasma contient de fines granulations, il est ordinairement fortement vacuolisé. Le chromatophore est en forme de plaque latérale, relativement petit et muni d'un pyrénoïde très distinct. Déjà dans les colonies qui ont crû sur agar sans sucre on voit au microscope qu'il y a mélange de cellules vertes et de cellules incolores, et tous les

[1]) W. Conrad et H. Kufferrath, Addition à la flore algologique de Belgique, Bull. Soc. bot. Belg. (1912) 322.

intermédiaires. Ceci est encore plus visible sur milieu gélatinisé où les cellules sont d'un tiers plus grosses. Sur agar sucré, les cellules se remplissent de globules huileux.

Dans la gélatine glycosée la colonie reste verte en surface à l'air, mais la portion qui s'est développée le long de la piqûre profonde jaunit rapidement. Si par hasard les premières cellules développées avaient été dispersées dans la gélatine, les colonies qui se forment en profondeur deviennent jaunes décolorées; celles qui sont à niveau sont vertes en surface et jaune en profondeur. Il y a là évidemment une action de l'oxygène.

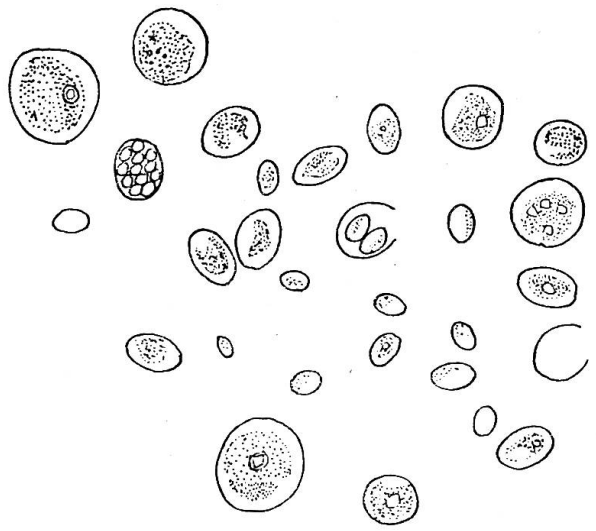

Fig. 104. *Chlorella Cladoniae* Chod. Culture sur xylose. 800 ×.

Nous avons cette même espèce sous trois variétés: le n° 95 jaunit moins sur gélatine sucrée que le n° 98 appelé par nous *Chlorella luteo-viridis* var. *tenuistrata*. D'autre part le n° 111, produit sur agar-glycose des disques qui jaunissent plus rapidement[1]). L'étude ultérieure nous dira qu'il s'agit dans ce cas des variétés stables. La morphologie et la cytologie des cellules est la même dans les trois. Il y a cette différence entre le *Chlorella luteo-viridis* Chod. et le *Chlorella luteo-viridis* var. *tenuistrata* Chod. que cette dernière sur gélatine forme un enduit beaucoup plus mince mais plus étendu que le premier.

Dimensions: 10/10, 6/6, 4/4, 2/2 μ.

Fig. 105. *Chlorella Cladoniae* Chod. Culture sur agar-galactose (spores). 800 ×.

Chlorella Cladoniae Chod. (nov. spec.)

Isolée de triages de gonidies des lichen *Cladonia rangiferina* (n° 62 de la collection) et *C. endiviaefolia* F. (n° 68 de la collection), cette algue se comporte comme *Stichococcus lacustris* Chod., en produisant sur agar-glycose de gros disques visqueux, vaselineux qui en un à deux mois s'étendent sur toute la surface de l'agar. J'ai réuni les n°s 62 et 68 sous le même binôme quoiqu'il y ait de petites différences. On

[1]) var. *lutescens* Chod. l. c. (1912) 322.

pourrait cependant distinguer le n° 62 qui est dans le même temps à la fois plus vigoureux et plus vert.

Sur gélatine-glycose le *C. Cladoniae* Chod. produit des disques vert foncé, minces enduits festonnés qui en trois mois atteignent 2 à 3 centimètres de diamètre. La surface de ces enduits minces est comme parsemée de dépressions qui donnent à ces larges colonies un peu l'apparence d'un thalle du lichen *Endocarpon miniatum (Dermatocarpon)*. Cette surface est brillante, mais il lui manque la consistance semi-sirupeuse ou vaselineuse des cultures sur agar. A ce propos il convient d'insister sur l'apparence très différente que peut présenter la morphologie des colonies des algues unicellulaires sur des milieux différents. Il semble que la colonie peut, quant à sa morphologie, être comparée à un organisme pluricellulaire. Il y a une morphologie des colonies, parfois tout aussi caractéristique sinon plus que la morphologie cellulaire. J'ai cultivé cette espèce (n° 68) sur les milieux suivants: agar-glycose, mannose, galactose, fructose, mannite, dulcite, arabinose, xylose, à la dose de 2 %, pour agar-Detmer 1/3. Les disques sont gélatineux et au bout de plus d'un mois atteignent sur glycose qui est la nourriture eugénésique 6 mm de diamètre. Chaque sucre provoque un autre aspect de la colonie. Alors que sur glycose le disque est vert jaune, sur fructose il est un peu plus petit, plus gélatineux mais de même couleur. Encore sensiblement plus petit sur galactose et sur mannose, il est vert franc sur galactose tandis que la couleur de ce disque est pour le mannose entre ce qu'elle est pour le glycose et le galactose. Avec la mannite le disque est vert jaune à peu près de la même dimension que celui du mannose. Au contraire le dulcite, l'arabinose et le xylose ne fournissent que des disques dont le diamètre est 4 fois plus petit que celui des cultures sur glycose et qui permettent d'examiner le mieux la structure de l'algue. Les cellules y sont particulièrement grosses (fig. 104), le chromatophore en plaque centrale muni d'un gros pyrénoïde entouré de petits grains d'amidon. Il y a parfois plus d'un pyrénoïde. Le chromatophore est souvent fortement replié. Quant aux cellules spores elles sont ou peu nombreuses et arrondies ou plus nombreuses et dactylococcoïdes. Les cellules qui se sont développées sur xylose ne montrent pas de graisse dans leur intérieur. Sur dulcite, la multiplication est plus rapide que

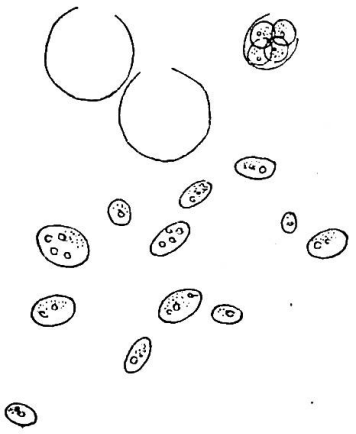

Fig. 106. *Chlorella Cladoniae* Chod. Cultures sur agar-lévulose; sporanges vides et spores. 800 ×.

sur xylose, c. à. d. la formation des spores se fait si facilement qu'on ne trouve guère plus que des cellules dactylococcoïdes. Il n'y a presque pas de cellules arrondies. La forme est la même sur arabinose et sur ces trois derniers milieux les cellules sont sans globules graisseux. Au contraire sur les autres sucres, même sur galactose (fig. 105), il y a beaucoup de graisse dans les cellules, cellules mères et cellules spores dactylococcoïdes (fig. 103—106).

La gelée dont on a parlé est visqueuse; dans les disques qui ont jauni elle se laisse colorer en bleu par le bleu de méthylène.

Dimensions: 10/12, 12/12, 5/5, 6/6, 6/4 μ et plus petites.

De tous ces *Chlorella* un seul liquéfie bien la gélatine, c'est le *C. rubescens* Chod. Cependant sous son influence la gélatine n'y devient pas complètement fluide comme cela arrive pour plusieurs *Scenedesmus*. Quand même la totalité de la gélatine est liquéfiée, elle conserve après plusieurs mois une viscosité remarquable; le *C. coelastroides* Chod. ramollit un peu la gélatine; il semble produire un peu de ferment protéolytique. Mais il n'y a pas de liquéfaction proprement dite.

Le *C. vulgaris* Beijr. avec ses variétés, ramollit aussi un peu ce milieu et ceci étant, il se répand assez facilement. Seules les variétés n° 19 et n° 90 liquéfient partiellement (il va sans dire, en dehors de toute présence de bactéries) les autres, même après six mois n'ont pas modifié la gélatine.

Le *Chlorella lichina* Chod. forme, sur ce milieu, des disques d'apparence *Strigula* ou qui ressemblent à un gros *Coleochaete scutata* de Bréb. à marge souvent incisée, ramifiée et digitiforme. La couleur est vert clair jaunâtre et la surface de la colonie ni très humide ni brillante, mais ridée, ponctuée et granuleuse.

Le *Chlorella lacustris* Chod. forme sur gélatine des disques singulièrement munis de côtes, les unes circulaires, les autres radiantes ou anastomosées. La surface des disques est sèche et non brillante.

Tout autres sont les grands disques du *Chlorella viscosa* Chod. Ils ressemblent extérieurement au thalle de l'*Endocarpon miniatum* L. (lichen) et sont très larges et lobés comme un disque de *Peltigera* avec des dépressions sur les grandes croûtes, vert foncé et brillantes.

Le *Chlorella luteo-viridis* Chod. y forme des disques vert foncé un peu festonnés, assez épais et nettement coupés au bord.

Quant au *Chlorella Cladoniæ* Chod, ses croûtes sont, sur ce milieu, très semblables à celles du *Chlorella viscosa* Chod.

On a pu le voir, la morphologie des colonies sur gélatine-glycose est très différente de celle qu'on observe sur agar. C'est encore un

exemple de chimiomorphose et une preuve de l'extrême plasticité de ces êtres qui, selon les circonstances, revêtent des faciès sociaux totalement différents, sans cependant changer de nature. Pour quelques-uns j'ai montré la dépendance qui existe entre leur apparence et la nature des sucres ainsi que leur stéréochimie. Il y aurait dans cette direction d'intéressantes recherches à poursuivre.

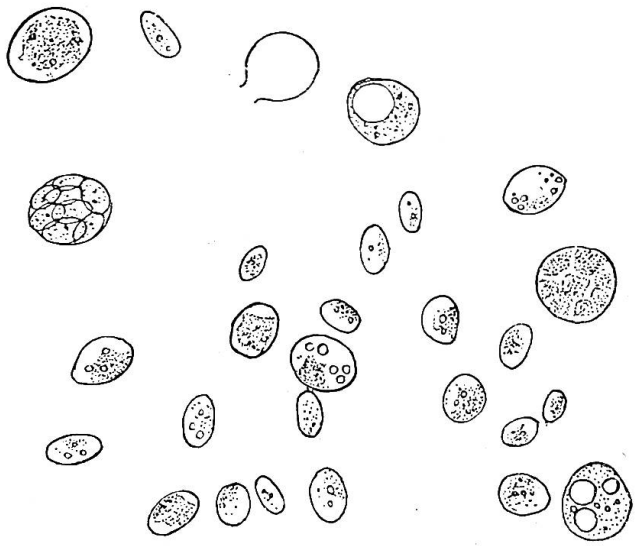

Fig. 107. *Palmellococcus symbioticus* Chod. (no. 71). Cult. sur agar-glycose. 650 ×.

Comme conclusion je dirai que la systématique des *Chlorella* est affaire d'expérimentation en culture pure et que désormais les micro-floristes feront bien de renoncer à publier des noms à propos de ces Algues vertes arrondies, avec ou sans pyrénoïde. Lorsque, à ces cellules vertes, sont associées des structures définies, soies, piquants, sculptures, on pourra peut-être hasarder un nom provisoire. J'ajoute que mes expériences montrent, par derrière cette extrême plasticité, une stabilité spécifique extraordinaire. Ce n'est pas ici que les théoriciens trouveront, plus facilement que chez les plantes supérieures, la solution du problème de l'origine de l'espèce, et l'explication de l'évolution. La nature biologique est une; la stabilité des espèces est du même ordre chez les plantes inférieures que chez les plantes supérieures. Chez ces dernières, lorsqu'on a expérimenté, les espèces élémentaires se sont trouvées stables. Je laisse de côté les faits de mutation difficilement contrôlables. Je n'ai malheureusement que peu de faits qui parleraient en faveur de cette théorie et ne veux rappeler que ce qui a été dit à propos du *Chlorella lacustris* Chod.

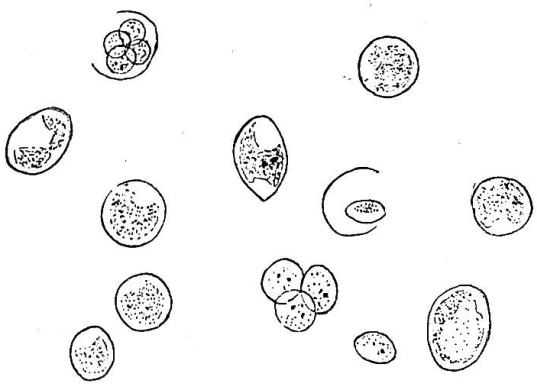

Fig. 108. *Palmellococcus symbioticus* Chod. Id. 650 ×.