

BULLETIN MENSUEL
DE LA
SOCIÉTÉ LINNÉENNE DE LYON

FONDÉE EN 1822

RECONNUE D'UTILITE PUBLIQUE PAR DECRET DU 9 AOUT 1937
des SOCIÉTÉS BOTANIQUE DE LYON, D'ANTHROPOLOGIE ET DE BIOLOGIE DE LYON
REUNIES

et de leurs GROUPES REGIONAUX : ROANNE, BOURGOIN, VALENCE, etc.

Secrétaire général : M. J. FIASSON, 48, rue Tête-d'Or, Lyon 6°.
Trésorier : M. A. PONCHON, 30, rue Malesherbes, Lyon 6°.

SIÈGE SOCIAL A LYON : 33, rue Bossuet, 6^{me} (Immeuble Municipal)

ABONNEMENT ANNUEL	France et Colonies Françaises	300 francs
C. C. P. Lyon 101-98	Etranger	600 —

PARTIE ADMINISTRATIVE

AVIS DU TRESORIER

Pour éviter des frais importants de recouvrement, MM. les Sociétaires sont priés de régler leur cotisations sans retard par chèque bancaire ou par virement à notre Compte Postal Lyon 101-98.

COMPTE-RENDU MORAL DU PRESIDENT POUR L'ANNEE 1948

par G. REY

Mes Chers Collègues,

Une excellente tradition veut que, chaque année, à la fin de son mandat, le Président fasse un tour d'horizon des principales activités de notre Société. Il eut été bien étonnant que les graves difficultés qui assaillent de nos jours nations et individus, n'aient aucune répercussion sur le fonctionnement de la Société. Nous avons, un moment, éprouvé une réelle émotion, lorsque nous avons dû, à notre grand regret, enregistrer au début de l'année, un nombre assez élevé de démissions dans le temps même où nos dépenses allaient rapidement en croissant. Nous voulons espérer que nos successeurs immédiats n'auront pas le même souci, du moins dans un trop proche avenir. En effet, l'effectif des cotisants a été ramené à son niveau antérieur, des dispositions ont été prises en vue de réduire sensiblement les frais d'impression du Bulletin (qui représente la plus grosse de nos dépenses), sans nuire aucunement à sa présentation ni à son intérêt. Des dons généreux nous ont aidé à franchir des passages difficiles.

Le Conseil a cependant considéré qu'il devait relever la cotisation à dater du 1^{er} janvier prochain. La nouvelle cotisation demeure relativement très basse si on la compare soit à celle demandée avant guerre, soit à celles pratiquées actuellement par la grande majorité des Sociétés.

Il convient d'attacher un grand prix au fait que notre Bulletin ait pu conserver son importance qualitative et quantitative, car ce Bulletin, d'une haute

PARTIE SCIENTIFIQUE

LA CULTURE BACTERIOLOGIQUEMENT PURE DES MYXOMYCETES : TECHNIQUES NOUVELLES

par Marcel LOCQUIN.

Les plasmodes — qu'ils proviennent d'un semis de spores, ou d'une récolte sur le terrain — sont habituellement accompagnés d'un cortège bactérien dont il est très difficile de les séparer. Pendant longtemps leur culture aseptique a paru impossible et PINOY [4] avait même affirmé que la présence de bactéries était indispensable à leur développement. COHEN [1] est le premier, à notre connaissance, qui ait trouvé un moyen certain et reproductible, permettant, à la suite de migrations répétées sur plaque d'agar non nutritif, d'obtenir des plasmodes purs. Avant lui d'autres auteurs avaient bien prétendu obtenir des cultures pures, soit par stérilisation superficielle des spores avant leur germination, soit par germination de spores très diluées, en se fiant au hasard pour obtenir des cultures pures. Mais à l'aide de ces deux dernières méthodes nous n'avons jamais pu obtenir les résultats positifs cités dans la littérature. Pendant longtemps, à la suite de ces échecs, nous n'avons utilisé que la méthode de COHEN qui donne des résultats certains. Mais son application se trouve vite limitée. En effet le jeûne prolongé imposé aux plasmodes lors des 8 à 12 transferts qui sont en moyenne nécessaires n'est pas supporté par toutes les espèces. Seules les espèces très robustes telles *Fuligo septica*, *Physarum polycephalum*, supportent avec régularité un tel traitement. Les autres meurent d'inanition avant d'être purifiées.

Désirant cultiver aseptiquement certaines espèces fragiles, nous avons mis au point plusieurs méthodes nouvelles.

Tout d'abord nous avons essayé la germination des spores et la culture des plasmodes sur milieu gélosé-glucosé soumis au préalable à une irradiation prolongée aux rayons ultra-violet. Malheureusement les substances microbicides développées par l'irradiation, si elles respectent les champignons filamenteux, tuent les myxomycètes aussi bien que les bactéries.

Nous avons essayé ensuite la culture sur cellophane recouvrant une plaque de gélose nutritive ou non. Mais le plasmode, qui n'aime pas ce support, s'empresse d'atteindre les bords du disque pour rejoindre la gélose.

Nous avons eu un certain pourcentage de succès, par contre, avec les deux méthodes originales suivantes : migration sur verre et passage à travers des papiers-filtre superposés.

Une migration sur verre étant extrêmement délicate à obtenir, nous avons vite renoncé à l'employer aux fins de purification. Le passage à travers les papiers-filtre, phénomène connu de longue date, est relativement plus facile à obtenir et pendant un an nous l'avons utilisé avec un pourcentage appréciable de résultats intéressants mais malgré tout capricieux, ce qui ne permettait pas d'envisager une généralisation de son utilisation.

PURIFICATION PAR MIGRATION EN PRÉSENCE D'ANTIBIOTIQUES.

Nous recommandons, par contre la méthode originale suivante, qui s'est révélée être bien plus pratique et plus générale que la méthode même de COHEN. Il s'agit d'une culture du myxomycète, quel que soit son état — myxamibe, simblospore, planozygote ou plasmode — en présence d'un antibiotique.

Au cours de nos essais préliminaires, nous avons constaté qu'à des degrés divers, la pénicilline, la streptomycine, la tyrothricine, la patuline, l'acide unguinique et la furacine, pouvaient inhiber ou au moins gêner la croissance du cortège bactérien habituel des plasmodes. En plus de son action bactériostatique, la tyrothricine s'est révélée également fungistatique, empêchant ainsi le développement des champignons filamenteux plus gênants dans les cultures impures de plasmodes que les bactéries les plus vigoureuses. Des dilutions sériées de ces six antibiotiques ont été mises en contact prolongé avec sept souches de plasmodes appartenant aux espèces suivantes :

Fuligo septica, *Badhamia utricularis*, *Physarum* sp. La germination des spores a également été observée dans les mêmes solutions pour les espèces suivantes: *Fuligo septica* (8 souches), *Physarum bogoriense*, *Physarum viride*, *Trichamphora pezizoidea*, *Trichamphora Heimii* Locq., *Diderma imperiale* Emoto, *Lycogala flavofuscum*, *Stemonitis herbatica*, *Stemonitis ferruginea*, *Brefeldia maxima*, *Mucilago spongiosa* et *Reticularia Lycoperdon*.

L'acide unguinique et la furacine, au seuil bactériostatique, se sont révélés toxiques pour les myxomycètes. Par contre ces derniers peuvent vivre sans gêne apparente en présence de pénicilline ou de streptomycine à la concentration de 10 à 50 unités par cm^3 et de tyrothricine à celle de 0,5 mg par cm^3 et de patuline à celle de 0,25 mg par cm^3 .

Si l'action de la patuline ne semble pas s'être révélée suffisante pour priver les plasmodes de leur cortège bactérien, par contre pénicilline, streptomycine et tyrothricine utilisées seules ou successivement ont permis la purification des plasmodes même les plus débiles de la manière suivante :

Transférer les plasmodes sur plaque d'agar lavé stérile contenant de la pénicilline ou de la streptomycine à la concentration de 10 à 50 U/ cm^3 . On choisit la concentration en fonction de la robustesse. Après 24 heures effectuer un second transfert sur une autre plaque de même nature. Si les cultures préliminaires en ont montré la nécessité, due à la présence de champignons filamenteux, effectuer ensuite un transfert sur agar lavé recouvert d'une suspension de tyrothricine à 0,5 mg/ cm^3 . Laisser en contact quelques heures et renouveler s'il y a lieu la solution par décantation à travers une flamme. Transférer ensuite sur le milieu nutritif définitif imprégné de pénicilline ou de streptomycine, chacune à la concentration de 10 unités par cm^3 du milieu. Si — ce qui est rare — il subsiste encore des bactéries, laver quotidiennement le plasmode avec une solution de pénicilline ou de streptomycine à la même concentration.

Le cycle de ces opérations est applicable à un plasmode déjà cultivé au laboratoire. Si on désire obtenir un plasmode à partir de spores, on peut opérer de la façon suivante : mouiller les spores bien sèches

avec quelques cm³ d'alcool à 50 % ou d'acide sulfurique à 5 %. Centrifuger immédiatement et laver trois fois à l'eau stérile. Décanter et placer les spores dans une solution de pénicilline à 10 unités par cm³. Porter à l'étuve à 37° pendant 10 minutes, puis abaisser la température à 18-22°. Dès qu'un pourcentage suffisant de spores a germé — ce qui demande quelques minutes, quelques heures ou quelques jours suivant les échantillons — verser le contenu du tube sur une plaque d'agar non lavé, stérile, imprégné d'une solution de Ringer diluée de moitié. Ajouter tous les jours après décantation, un ou deux cm³ de solution de pénicilline. Dès l'apparition du plus petit plasmode que l'on puisse déceler au binoculaire, le transférer sur milieu nutritif normal.

MILIEU DE CULTURE SYNTHÉTIQUE.

Nous avons mis au point un milieu de culture nouveau, entièrement synthétique, permettant l'entretien des plasmodes ainsi purifiés. Voici sa formule : (L. S. M.)

<i>Eau bidistillée</i>	1000 g	<i>aneurine</i>	0,1
<i>gélose lavée</i>	30	<i>acide indolylacétique</i>	0,1
<i>bicarbonate de sodium</i> ..	0,1	<i>acide paraminobenzoïque</i>	0,1
<i>chlorure de sodium</i>	0,6	<i>xylose</i>	3
<i>chlorure de calcium</i>	0,1	<i>lévulose</i>	6
<i>chlorure de potassium</i>	0,1	<i>tyrosine</i>	0,2
<i>phosphate monopotassique</i>	2	<i>leucine</i>	0,2
<i>thiourée</i>	0,2	<i>alanine</i>	0,2
<i>ergostérol</i>	0,5	<i>glycocolle</i>	0,3

Ce milieu que nous appelons L. S. M. n'est qu'un milieu d'entretien moyen. Il convient de le modifier légèrement si l'on veut obtenir la croissance optimale de telle ou telle espèce.

Nous reviendrons ultérieurement sur ces modifications.

RÉSUMÉ.

Myxamibes, simblospores et plasmodes de myxomycètes peuvent être cultivés en présence de certaines concentrations de pénicilline, streptomycine et tyrothricine. Cette propriété est mise à profit pour obtenir des cultures bactériologiquement pures.

Les plasmodes purifiés peuvent être cultivés sur un milieu synthétique nouveau (L. S. M.) dont la formule est donnée.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1. COHEN. — *Botanical Gazette*. 1939, 101, 243.
2. LOCQUIN. — *C. Rend. Acad. Sc.*, 1948, 227, 149-50.
3. LOCQUIN et PRÉVOST. — *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1948, 75, 8-13.
4. PINOY. — *Bull. Soc. Myc. de Fr.*, 1902, 18, 288.
5. PINOY. — *Ann. Inst. Past.*, 1907, 21, 622.
6. SOBELS. — *C. Rend. Acad. Sc.*, 1948, 226, 1030.

Présenté à la Section Mycologique en sa séance du 20 Septembre 1948.

LE MONDE DES PLANTES

Cette intéressante Revue est maintenant placée sous la direction scientifique de M. le Professeur GAUSSEN. Elle continuera à paraître comme par le passé. Pour tous renseignements, abonnements, etc..., écrire à M. Cl. LEREDDE, 7, rue du Canard à Toulouse (Haute-Garonne).