

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^e.
Trésorier: M. A. PONCHON, 30, rue Malesherbes, Lyon 6^e.

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

ABONNEMENT ANNUEL C. C. P. Lyon 101-98	France et Colonies Françaises	400 francs
	Etranger	600 —

PARTIE ADMINISTRATIVE

NOTE DU TRESORIER

Le Trésorier remercie les nombreux Sociétaires qui ont répondu à son appel et réglé leur cotisation de 1950. Il prie les retardataires de ne pas manquer de faire de même dès réception de ce bulletin.

ORDRES DU JOUR

CONSEIL D'ADMINISTRATION : Mardi 14 Février, à 20 h. 15

Admission de :

M. Ch. GALLOY, Instituteur, Ecole du Claveau, à Chazelles-sur-Lyon (Loire), parrains MM. Coquillat et Pouchet. — Mlle PONCET Claudette, Professeur au Cours complémentaire de garçons, rue Etienne-Dolet, Saint-Fons (Rhône), parrains MM. Lapp et Coquillat. — M. ANDRÉ Maurice, Professeur de Sciences, 20, rue Anatole-France, Saint-Fons (Rhône), parrains MM. Lapp et Coquillat. — GOSUD. BIBLIOTHEKA S. S. S. R. im Lenina, Moskva, U. R. S. S.

Questions diverses.

SECTION ENTOMOLOGIQUE : Samedi 11 Février, à 15 heures

G. AUDRAS et J. THÉROND : Catalogue des *Histeridae* de la région lyonnaise. Présentation d'insectes. — Questions diverses.

SECTION BOTANIQUE : Samedi 11 Février, à 17 heures

D^r Ed. BOTTEMER : Le D^r DUMOLIN (1713-1798), botaniste clunysois.

J. MÉRIT et L. FROQUET : Au sujet de *Crepis foetida* L.

M. PACHECO : Un nouveau test hormonal.

Présentation de plantes. — Questions diverses.

PARTIE SCIENTIFIQUE

METHODE SIMPLE POUR EVALUER L'ACTIVITE DE SUBSTANCES FONGICIDES SOLUBLES OU EMULSIONNABLES

par J. COUDERT et J.-Cl. DOUCET.

L'étude de l'action bactéricide ou bactériostatique de nombreux corps a obligé les chercheurs à mettre au point des méthodes simples et rapides pour préciser le mode d'action et les taux de dilution intéressants. Il est curieux de constater que l'étude de ces mêmes actions vis à vis des divers Champignons n'a pas amené une évolution comparable des méthodes de test. Pratiquement les méthodes utilisées par les divers auteurs consistent à mélanger une quantité voulue de solution mère du produit étudié au contenu préalablement liquéfié d'un tube du milieu gélosé, puis à laisser refroidir soit en position inclinée, dans le tube, soit à le couler en boîte de Pétri. Telles sont dans leur principe les méthodes de SCHAMBERG et KOLMER, de WEIDMANN, pour ne parler que des plus usitées. Avec notre élève H. IEHL, dans sa thèse de Médecine (Lyon 1948) nous avons essayé ces différentes méthodes, et divers inconvénients nous sont apparus : lenteur des manipulations, risque de contaminations, irrégularité fréquente de la répartition de la substance essayée, quand celle-ci est peu ou pas soluble dans l'eau. D'autre part si l'on veut asseoir les conclusions sur un nombre suffisamment élevé d'essais concordants, on utilise des quantités importantes de milieu de culture. Les méthodes de diffusion, du type méthode de HEATLEY, très en faveur pour l'évaluation du pouvoir antibiotique vis à vis des bactéries, se sont avérées à l'essai trop peu précises vis à vis des Champignons, en raison des modifications de l'antibiotique et de sa répartition au cours de la période de croissance du mycélium, notablement plus lente que celle des Bactéries. D'autre part les substances peu solubles dans l'eau, flocculent à la limite de diffusion de l'alcool dans la gélose, et l'étude des cercles d'inhibition est alors sans intérêt.

Ces diverses considérations nous ont amené à reprendre le procédé des cultures en goutte pendante, qui permet en outre une étude plus précise, au microscope, de la croissance du mycélium. Pour réaliser avec précision la concentration voulue de la substance à étudier, nous avons porté à 1 cc le volume de milieu de chaque essai. Enfin, pour nous mettre à l'abri des contaminations et de la dessiccation, nous coulons le milieu dans une cellule de VAN THIEGEM, scellée au lut sur une lame porte objet. Les cellules peuvent être réunies, empilées, et sont conservées pendant la durée de l'essai, en chambre humide, sous une cloche renversée sur une cuvette d'eau.

Le mode opératoire est le suivant :

Le matériel comprend :

— Les cellules de VAN THIEGEM, fragments de tube de verre à extrémités rodées, de 20 mm de diamètre intérieur, de 12 à 15 mm de hauteur. Nous utilisons concurremment des anneaux de matière plastique de

mêmes dimensions, provenant de fermetures de flacons à vis, très usités actuellement en Pharmacie, et rodés sur toile émeri.

— Les lames sur lesquelles seront collées les cellules sont soit des lames porte-objet de 75×27 mm, soit, pour réunir en un groupe les cellules d'un même essai, des lames de verre format 6×9 cm.

— Le lut que nous utilisons est soit le lut classique de Kroning soit un lut de paraffine-cire-colophane.

— Le milieu de culture est en général un milieu de SABOURAUD, gélose peptonée, maltosée ou glucosée, mais préparé avec une quantité d'eau réduite de moitié, en vue de la dilution ultérieure. Ce milieu stérilisé est stocké en tubes à essai bouchés au coton, par quantités de 10 à 15 cc.

— Le matériel de dilution et de répartition est celui classiquement utilisé en sérologie : tubes à hémolyse, pipettes graduées au 1/10 ou mieux 1/20 de cc.

Les manœuvres sont simples et peuvent très bien être réalisées par un seul opérateur, en un temps très réduit.

— *La préparation des cellules* est le premier temps : les cellules nécessaires pour l'essai envisagé peuvent être soit collées individuellement sur des lames porte-objet, puis empilées, soit réunies en groupe sur des lames plus grandes.

On stérilise par flambage la lame de verre ; puis les cellules tenues par une pince sont flambées ; encore chaudes, elles sont déposées sur le lut et immédiatement reportées à leur place sur la lame de verre, à laquelle elles se trouvent ainsi scellées. Dès que le groupe de cellules est prêt on le recouvre d'une seconde lame de verre flambée qui peut à son tour recevoir un nouveau groupe de cellules.

— *La préparation des dilutions* se fait ensuite dans une série de tubes à hémolyse, correspondant à la gamme de concentrations que l'on désire explorer. Nous trouvons commode de partir d'une solution titrée à 1/1000 ou d'une émulsion aqueuse de même titre. Pour les corps difficiles à émulsionner, il peut être avantageux de partir d'une solution plus concentrée dans un solvant organique, que l'on disperse ensuite avec un émulsionnant sans action propre sur la croissance des Champignons. Nous avons utilisé ainsi des solutions alcooliques, et, comme émulsionnant, des sulfo-ricinates, à la concentration de 1 à 5/1000 dans la solution mère. Pipette et tubes sont stérilisés soit par ébouillantage, soit par immersion dans l'alcool-acide chlorhydrique. On distribue à la pipette les quantités de solution mère nécessaires pour réaliser dans les tubes les dilutions voulues, une fois le volume ramené à un cc. Pour les dilutions supérieures à 1/10.000, on procède dans un tube à part à une dilution de l'émulsion mère à 1/10 par addition d'eau bouillie. On complète dans chaque tube le volume de solution mesurée par addition d'eau bouillie, à la pipette, pour obtenir un volume uniforme de 1/2 cc. Les tubes témoins reçoivent 1/2 cc d'eau.

— *L'addition du milieu gélosé*, préalablement liquéfié au bain-marie se fait également avec la même pipette, rincée à l'eau bouillante, qui prélève exactement 1/2 cc de milieu dans le tube de réserve, et le projette dans le premier tube de la série. On mélange rapidement par 2 ou 3 manœuvres d'aspiration et de refoulement ; on aspire le contenu entier du tube, pour le rejeter dans la cellule correspondante. La rapidité de la manœuvre évite la prise en gelée du milieu, ainsi que

les inégalités de répartition des produits peu solubles ; elle diminue aussi les risques de contamination au cours de l'opération. On procède de même pour tous les tubes de la série, en rinçant la pipette à l'eau bouillante à chaque changement de dilution. On prend soin de ne découvrir la cellule que le temps nécessaire à son chargement.

— *L'ensemencement* peut être effectué dès que le refroidissement a amené la prise du milieu gélosé. Il peut se faire soit à partir d'un fragment de mycélium d'une culture souche, dissociée avec des aiguilles montées flambées, soit à partir d'un élément sporifère (par exemple fragment de cheveu teigneux), ou d'une émulsion aqueuse de spores ou de Levures, à l'aide d'une öse ou d'un écouvillon.

Les cellules ou groupes de cellules sont empilés, le rang supérieur recouvert d'une lame flambée, et le bloc placé sous une cloche renversée sur une mince couche d'eau, formant chambre humide. Selon le cas on laisse à la température du laboratoire ou à l'étuve.

Le procédé que nous venons de décrire, malgré la complexité apparente de sa description, est de réalisation remarquablement simple et rapide, par rapport aux procédés classiques en tubes de fort diamètre ou en boîtes de PÉTRI. Les précautions d'asepsie sont réduites à un minimum de gestes simples, et néanmoins les contaminations sont rares. Durant leur séjour en chambre humide les milieux ne subissent pas d'évaporation, aussi est-on assuré, au cours d'une observation de plusieurs jours, de ne pas être troublé par les changements de concentration du milieu, ce qui est important pour certaines souches à croissance lente (Achorion par ex.). Enfin l'économie de milieu et la rapidité de manœuvre permettent de multiplier les essais, et d'augmenter la précision des recherches.

Présenté à la Section de Microscopie en sa séance du 17 Décembre 1949.

QUELQUES INDICATIONS SUR *MELITAEA BRITOMARTIS* Assm., ESPECE à RECHERCHER EN FRANCE

par H. DE LESSE.

Melitaea britomartis ASSMANN 1847. Z. ent. Breslau (1847) Lep. (1) 1 : 2.

Cette espèce longtemps méconnue fut isolée à nouveau en 1913 par SUSCHKIN d'après l'étude des genitalia. HORMUZAKI (1934) découvrit chez de nombreux exemplaires d'Asie, qu'aucun de ceux qui avaient été rattachés jusqu'ici à *parthenie* Bork. (= *aurelia* Nickerl) n'appartenait en fait à cette espèce, mais au contraire à *britomartis* Assm. par suite de la présence d'un uncus toujours absent chez *parthenie* Bork¹. VERITY (1930) avait déjà indiqué l'existence de ce vaste groupe spécifique (*britomartis*) dont les éléments avaient été confondus avec *M. athalia* Rott. et *M. parthenie* aussi bien en Asie qu'en Europe. Dans sa récente monographie, VERITY (1910) indique les caractères morphologiques et externes de *britomartis*, enregistre et décrit 13 races et trace leur répartition géographique.

1. Il est bien entendu que, par le nom de *parthenie* Borkh., je désigne l'espèce plus généralement connue sous le nom d'*aurelia* Nick., et non *M. parthenoides* Keferstein.