Influence du milieu de culture sur le développement des Myxomycètes.

par
F. X. SKUPIEŃSKI.

(Planche III).
(entré 23 XII. 1932).

Certains Myxomycètes se laissent très facilement cultiver sur différents substratums artificiels et font ainsi l'objet de nombreuses recherches biologiques et cytologiques.

La composition chimique du milieu peut, elle seule imprimer une marque très nette non seulement sur la marche du développement d'un Myxomycète, mais également sur ses fructifications. On sait que de très nombreux Myxomycètes, récoltés sur les substratums naturels, sur des troncs d'arbres morts par ex. ne se laissent pas cultiver sur des substratums artificiels, même quand ceux-ci contiennent de l'extrait de ce milieu naturel. D'autres espèces fournissent les premiers stades du développement jusqu'au plasmodium inclus, en s'arrêtant au milieu du chemin, sans donner de fructifications. D'autres enfin prennent, du premier coup, un bon développement en aboutissant au stade de la fructification.

Si certains Myxomycètes ne se développent pas sur différents substratums synthétiques c'est que ceux-ci leur sont défavorables: il leur manque un ou quelques facteurs indispensables à l'évolution de ces organismes. La question du choix de ces composés constitue la plus grande difficulté pour les biologistes s'occupant de Myxomycètes.

Didymium nigripes. Je cultive cet organisme sur la gélose au moût de bière dont la teneur en sucre est normalement de 8%. J'ai constaté que sur les substratums, contenant du moût en diffé-

rentes concentrations, le même Myxomycète peut subir des modifications très profondes.

Le groupe de cultures sur gélose au moût de bière à 8% ne donne aucun résultat, c'est à dire les spores de cette espèce ne germent pas du tout et il n'y a même pas de développement des Bactéries. L'eau de condensation reste toujours complètement limpide.

En diluant progressivement le moût j'arrive finalement à obtenir une concentration à laquelle le même Myxomycète, ainsi que les Bactéries, prennent un développement intense. La concentration à laquelle commence le développement du Myxomycète en question est d'environ de 5%. Dans le milieu à cette concentration les spores germent mais les zoospores et les myxamibes cessent vite leur vie active; elles s'arrondissent et sont finalement étouffées par la masse de Bactéries qui prennent alors un développement considérable. Si on continue à diminuer la concentration du même milieu, on obtient finalement non seulement les zoospores et myxamibes mais également les plasmodes. La concentration, à laquelle ces derniers commencent à se former, est de 4%. Malgré un développement très considérable des Bactéries, les plasmodes sont vigoureux avec leurs veines très épaisses et fortement ramifiées. Ils rampent à la surface du substratum du haut en bas de la culture et vice versa, en se nourrissant abondamment de Bactéries. Mais malgré un tel développement le plasmode ne fructifie pas; au bout de trois semaines il se transforme en nombreuses sclérotés. Une telle sclérote ou une parcelle de plasmode, transportée dans un milieu à la concentration plus faible (moût de bière à 1% ou décoction de carotte et de pomme de terre: 50 gr. pour 1 litre d'eau) le développement reprend sa course normale, le nouveau plasmode se forme et au bout de 6—7 jours aboutit à la fructification.

A mesure qu'on diminue progressivement la concentration du dit milieu le comportement du Myxomycète change également. En présence de la concentration du moût de bière à 1% le développement du Myxomycète est régulier, c'est-à dire la durée du stade de plasmode est de 7 — 8 jours, après quoi il se forme des fructifications, mais celles-ci présentent un polymorphisme assez prononcé. A côté des fructifications normales, composées d'un sporange régulier et sphérique, porté par un pied élancé, il y en a qui sont complètement couchées à la surface du substratum ou sur la paroi du tube et elles prennent alors l'aspect plasmodiocarpique. Mais il ne faut pas confondre ces formes plasmodiocarpiques avec les vrais plasmodiocarpes des certaines espèces caractéristiques par le poly-

morphisme de leurs fructifications comme par ex. chez *Didymium squamulosum*. Chez celui-ci ce polymorphisme et formation des plasmodiocarpes est un phénomène constant, sans participation d'un facteur quelconque, tandis que chez *Didymium nigripes* il est accidentel et peut-être provoqué artificiellement par l'augmentation de la concentration du substratum.

Quand on examine de près une telle fructification anormale on peut facilement constater (même à l'oeil nu) qu'elle est munie d'un stipe avorté, ayant l'aspect d'une très fine pellicule, de couleur brune, accolée contre la paroi du tube.

On voit également bien à travers la paroi du tube, la columelle qui rappelle bien celle des fructifications normales, pedicellées et qui par hasard se sont accolées, lors de leur formation, contre la paroi du tube. L'existence de la columelle dans une telle fructification anormale prouve qu'on n'a pas ici à faire à un vrai plasmodiocarpe, mais à une fructification normale accidentellement modifiée.

De pareilles modifications peuvent également avoir lieu, au cours du développement de la même espèce sous l'influence de la température élevée, ce qui a été prouvé par moi dans une de mes publications précédentes. (4).

La concentration optimale du moût de bière, c'est-à-dire celle en présence de laquelle il n'y a jamais de formation des plasmodiocarpes, commence à peu près à 0,4%. La diminution encore plus forte de la concentration de ce milieu n'a aucune influence visible sur la durée du cycle évolutif du Myxomycète et la formation des fructifications: il s'y forment toujours, même en présence de la température plus élevée des fructifications normales.

L'appauvrissement du milieu de cultures en matières nutritives peut être poussé à l'extrême et finalement on passe au milieu dépourvu complètement de celles-ci (la gélose pure).

Le même Myxomycète, cultivé sur la gélose pure à l'eau du robinet ou à l'eau distillée, passe également par le cycle complet de développement. Il vit alors uniquement aux dépens de la gélose. Seulement la durée du cycle évolutif sur ce milieu est plus courte (6—7 jours) par rapport aux cultures sur gélose additionnée de quelques composés organiques (10—12 jours). Je n'ai jamais pu constater, sur ce milieu pauvre, de la formation des fructifications anormales ou modifiées; elles sont toutes régulières, pédicellées et se rapprochent beaucoup de celles que l'on trouve sur le milieu naturel. Unique particularité que j'ai pu constater

c'est que le nombre de fructifications est beaucoup plus petit que sur les substratums additionnés d'un des composés organiques, mentionnés plus haut et que leur taille est également beaucoup plus réduite. Le développement maigre sur un tel milieu va probablement de paire avec un très faible développement des Bactéries; la limpidité de l'eau de condensation, pendant toute la période du développement du Myxomycète, est l'expression de la faiblesse de leur développement.

L'insuffisance de la nourriture, fournie par les Bactéries, est compensée par la gélose aux dépens de laquelle le Myxomycète se nourrit, surtout au stade des plasmodes. Après le passage d'un plasmode et sa transformation en fructifications, la surface du substratum, jusqu'alors égale et brillante, présente des excavations ramifiées correspondant à la forme des plasmodes. Il est donc évident que dans ces conditions la gélose constitue l'aliment principal pour le Myxomycète en évolution et celui-ci pour l'utiliser, produit probablement un enzyme qui serait de la gélase.

Souvent les plasmodes creusent dans le substratum les excavations larges et profondes mesurant parfois plusieurs millimètres de diamètre. Mes longues observations de ce curieux phénomène m'ont permis de constater que la production de ces excavations n'est pas constante et dépend de certaines circonstances. Quand le développement des Bactéries, associées au Myxomycète, est très faible et celles-ci sont distribuées uniformément à la surface du substratum, les plasmodes ne font que des empreintes uniformes, comme cela vient d'être dit plus haut. Quand il y a un fort développement des Bactéries, uniformément distribuées à la surface du substratum, il n'y a pas non plus de production des trous. Mais quand à la surface du même substratum les Bactéries, au lieu d'être distribuées uniformément, forment des colonies, il y a alors la formation des trous. Autour d'une telle colonie le ou les plasmodes s'installent en cercle fermé et la détruisent en peu de temps; une colonie, mesurant environ 4 mm. de diamètre, peut être supprimée en 36 h. à peu près. Mais à mesure que la colonie bactérienne disparaît, il se forme autour d'elle — par suite de l'action du plasmode — une dépression, correspondant à sa forme et qui en s'accroissant de plus en plus, délimite un bloc de gélose qui disparaîtra lui aussi petit à petit. Un plasmode qui a terminé ainsi son travail de destruction, quitte l'excavation qu'il vient de faire et s'attaque à une autre colonie bactérienne qu'il rencontre sur son chemin.

La production de pareilles excavations peut être provoquée à volonté par l'expérimentateur.

Dans une de mes récentes publications (5) je fournis, à la page 280 le croquis illustrant l'action progressive du plasmode, en présence d'une colonie de *Sarcine* jaune, déposée par moi quelque temps après l'apparition des plasmodes. Bien qu'il s'agisse là de *Didymium difforme*, les expériences répétées dernièrement avec *Didymium nigripes* m'ont fourni d'identiques résultats.

S'agit-il, au cours de ce creusement du substratum par les plasmodes, en présence d'un organisme étranger (bactéries, moisissures), d'une simple fragmentation mécanique du dit substratum ou d'une action enzymatique, on n'en sait pas grand'chose. P i n o y (3) en étudiant les phénomènes de nutrition chez les Myxomycètes a constaté, dans les vacuoles des plasmodes, la présence de parcelles de la gélose qui sont en partie digérées et en partie rejetées en dehors. D'après les observations de cet auteur la destruction du substratum par le plasmode serait purement mécanique. Mais quand on s'arrête devant le phénomène de la destruction du substratum beaucoup plus forte et plus rapide au contact même d'un organisme étranger (p. ex. colonie d'*Aspergillus*), on peut admettre qu'il s'agit d'un phénomène enzymatique. Cette action destructive se traduirait par la collaboration des enzymes de deux organismes en action (plasmode et moisissure).

Certains auteurs (2) ont cultivé les Myxomycètes sur la gélose additionnée de la liqueur de Knop sans se rendre compte qu'un tel composé n'est pour rien dans la nutrition d'un organisme hétérotrophe qu'est le Myxomycète et que l'aliment exclusif est constitué par les Bactéries ou par la gélose. J'ai constaté que le milieu gélosé à la base de la liqueur de Knop, n'a aucune influence sur le développement du Myxomycète et sur la structure de ses fructifications. Ces dernières sont identiques à celles qui se forment sur la gélose à l'eau du robinet ou à l'eau distillée.

Les fructifications formées sur la gélose à l'eau sont, comme je l'ai déjà dit plus haut, pareilles à celles que l'on trouve sur différents substratums dans le milieu naturel. Les stipes sont fins et les sporanges sphériques. Les spores sont toutes de même taille et forme, le capillitium très abondant est constitué de filaments très fins, uniformes et très ramifiés (Pl. I. fig. 9).

Si on compare ces particularités avec celles des fructifications formées sur le substratum riche en matières nutritives (moût de bière, jus de carotte), on voit que ces dernières s'écartent du type

normal; les modifications morphologiques et anatomiques sont autant plus accentuées, que la teneur en composés organiques est plus grande. Ces modifications se traduisent par le grossissement du stipe et du sporange, et surtout par l'hétéromorphisme des spores (Pl. I, fig. 1, 2, 3 et 4).

La réaction du milieu imprime également une forte influence sur le développement de *Didymium nigripes*. L'acidité ou alcalinité du substratum peuvent se traduire par l'allongement ou raccourcissement de la période de végétation, par l'abondance de la récolte et par les modifications morphologiques et anatomiques des fructifications. Des expériences préliminaires m'ont fourni, à ce point de vue, quelques résultats instructifs.

Le milieu que je prépare habituellement pour les cultures de tous mes Myxomycètes (Didymiacees) et Acrasiées, la gélose aux bouillons de carotte et de pomme de terre, de foin ou au moût de bière, est habituellement neutre ($\text{Ph} = 7$). Pour rendre le substratum acide, j'ajoute de l'acide chlorhydrique. Il faut néanmoins faire attention à ce que la quantité de l'acide ne soit pas trop grande, car la gélose (quand le Ph atteint 3,5) ne se solidifie pas et alors le montage des cultures est impossible. Pour rendre le substratum alcalin, j'ajoute de la soude.

Le tableau suivant représente plastiquement le rapport entre différents Ph et le comportement du Myxomycète, cultivé toujours dans les mêmes conditions (température, qualité du substratum, lumière).

P_H	Résultats des cultures.
4,8	Il n'y a aucun développement ni de Bactéries ni de Myxomycète.
5,5	Le cycle évolutif est très long par rapport à celui dans le milieu normal ($\text{PH} = 7$) et il dure environ 30 jours. Il y a tout d'abord le développement progressif des Bactéries et les plasmodes apparaissent à la surface du substratum 20 jours environ après l'ensemencement de spores; ils sont peu nombreux et pâles. Ces plasmodes fructifient dans toutes les cultures mais le nombre de fructifications est réduit dans chaque culture (2—5). Elles sont toutes normales au point de vue morphologique et anatomique, mais beaucoup plus petites que celles du milieu normal.

P _H	Résultats des cultures.
6,5	Le cycle évolutif est normal, ainsi que les fructifications qui en résultent.
7,3	d ⁰
7,5	d ⁰
7,8	Le cycle évolutif est normal. Les fructifications dont le nombre pour chaque culture diminue sensiblement, sont beaucoup plus fortes et beaucoup plus riches en CaCO ₃ que les fructifications des cultures précédentes.
8	d ⁰

D'après ce tableau la durée du développement est la plus longue sur le substratum dont le Ph = 5,5. L'unique explication du phénomène peut être la suivante: La première partie de la période évolutive, relativement la plus longue, consiste dans le développement des Bactéries qui alcalinisent le milieu acide en le rendant favorable au développement du Myxomycète. Le même substratum à la fin de cette période est complètement neutre et même légèrement alcalin. C'est seulement après cette période préparatoire que le Myxomycète peut suivre son développement normal et aboutir au stade de la fructification.

Les Bactéries jouent un rôle très important dans le développement des Myxomycètes. D'après Pinoy elles sont indispensables pour la germination des spores et sans leur concours le développement d'un Myxomycète serait impossible. J'ai eu déjà l'occasion de prouver que pour la germination les Bactéries ne sont pas nécessaires et que ce phénomène est purement physique.

Pour pouvoir prouver le vrai rôle des Bactéries dans la vie d'un Myxomycète il faut pouvoir séparer complètement ces deux organismes et obtenir le Myxomycète en état pur. Mais, en ce qui concerne *Didymium nigripes*, tous les efforts de plusieurs auteurs et de moi-même, pour libérer cet organisme de Bactéries qui l'accompagnent, n'ont abouti à aucun résultat. J'ai pu seulement constater, à plusieurs reprises, qu'en affaiblissant leur développement on rend plus faible le développement du Myxomycète lui-même.

même. La meilleure méthode pour affaiblir le développement des Bactéries sans endommager le Myxomycète est la suivante: Une culture normale de *Didymium nigripes*, sur la gélose au bouillon de carotte et de pomme de terre, dans laquelle les Bactéries se sont développées abondamment, est débarrassée des fructifications, celles-ci étant transportées aseptiquement dans un autre tube stérilisé. Au milieu ainsi débarrassé on ajoute une quantité d'eau ordinaire plus ou moins égale à celle qui s'est évaporée au cours du développement du Myxomycète. Le tout est stérilisé trois fois dans l'appareil de Koch. Pendant la stérilisation toutes les Bactéries et les restes des fructifications du Myxomycète, tombent dans le fond du tube et la surface de la gélose ainsi rebouillie redevient égale et polie. Au fond du bloc de gélose s'amasse l'eau de condensation. Dans le milieu ainsi renouvelé on introduit des spores, provenant des sporanges mis de côté. Au bout de quelques heures les spores germent et au bout de quelques jours, à la surface de la gélose, apparaissent quelques plasmodes de petites tailles et très pâles. Ces plasmodes sans se fusionner en un grand et unique plasmode, comme cela arrive dans les cultures sur un milieu normalement préparé, fructifient. Donc il y a autant de fructifications, qu'il y avait de plasmodes. Au cours de ce développement on remarque un fait curieux: l'eau de condensation ne se trouble pas et elle reste toujours limpide ce qui prouve que les Bactéries, qui y ont été introduites en même temps que les spores et qui dans un milieu normal se développent en très grande quantité, paraissent faire ici l'absence complète. On fait la même constatation en observant la surface du substratum. En observant au microscope une goutte de cette eau de condensation on constate qu'elle ne contient que de très rares Bactéries, mais une autre goutte transportée dans un milieu frais normal (gélose ou moût de bière) est le commencement d'un très fort développement de Bactéries. Il est donc évident que dans le milieu renouvelé et contenant des produits de désassimilation d'anciennes Bactéries et du Myxomycète les nouvelles Bactéries, qui y sont introduites, ne se développent pas bien. Mais malgré cela le Myxomycète suit sa course normale du développement. Comme les Bactéries lui font défaut, les plasmodes utilisent la gélose, et en font leur nourriture. Dans ces conditions les fructifications, bien qu'elles soient peu nombreuses sont complètement normales et rappellent plutôt celles qu'on trouve dans le milieu naturel.

Si on ajoute à cette expérience celle dont j'ai déjà parlé plus haut et qui consistait en la cultivation de *Didymium*

nigripes sur la gélose à l'eau distillée, on peut affirmer que sans concours des Bactéries le Myxomycète peut bien vivre et fructifier en se nourrissant presque uniquement de gélose.

Didymium difforme. Cette espèce est très commune et se laisse assez facilement cultiver dans le milieu artificiel: il suffit de tremper un peu de foin dans l'eau ordinaire dans un cristallisateur, pour obtenir, au bout de 2 — 3 semaines, de nombreuses fructifications mûres.

Pour cultiver ce Myxomycète en milieu artificiel pur j'emploie différents substratums organiques: la gélose au bouillon de foin, au bouillon de carotte et de pomme de terre, au moût de bière en proportion de 20 grammes de gélose pour 1000 cc. de liquide; des brins de foin ou de paille trempés dans l'eau et stérilisés dans des tubes de verre m'ont également donné de très bons résultats. Enfin la gélose pure à l'eau distillée ou à l'eau du robinet a également servi de substratum et m'a donné de très intéressants résultats.

Le plasmode de cette espèce possède dans le milieu naturel la couleur grise et est constitué de très fins filaments uniformément ramifiés et formant un délicat reticulum. Sur gélose au bouillon de foin, dans les cultures artificielles, le plasmode possède la couleur également grise, sur les morceaux de carotte il est crème et sur la gélose pure à l'eau il est complètement incolore. Il est évident que la couleur du plasmode dépend de la composition chimique du substratum. D'après certains auteurs (Matruchot, Molliard) la couleur du plasmode est en relation étroite avec les pigments des Bactéries qui vivent en association avec le Myxomycète. D'après mes propres observations les pigments sécrétés par les Bactéries ne prennent aucune part dans la coloration des plasmodes. Si on introduit dans la culture du Myxomycète une Bactérie quelconque, produisant du pigment, par exemple *Bactérium prodigiosum* Ehr, produisant de la bactério-purpurine, le plasmode, malgré un abondant développement de cette Bactérie ne prend pas du tout de coloration rouge. Les expériences faites avec d'autres espèces de Bactéries m'ont toujours donné le résultat négatif.

Il est donc permis d'admettre que les différents pigments, si caractéristiques pour de nombreuses espèces de Myxomycètes, sont élaborées par le protoplasma lui-même. En plus de cela la couleur — donc et le caractère chimique de la matière colorante-peut changer au cours de l'ontogénèse d'un Myxomycète ou peut apparaître seulement à la fin de celle-ci, p. ex. la couleur violette des sporanges de *Polysphondylium violaceum*, en présence d'une Bactérie

qui n'émet aucune matière colorante. Le plasmode de *Didymium difforme* possède, comme je l'ai dit déjà plus haut, la couleur grise ou crème. Les fragments du plasmode qui se transforment en sporanges, acquièrent tout d'abord la couleur rose-pâle, passent ensuite par la couleur rose foncée, ensuite brune claire et finalement brune foncée, presque noire. Il paraît évident qu'un tel et assez rapide changement de couleur d'un même individu n'est pas en relation avec l'action des Bactéries.

Mes recherches, en ce qui concerne le changement de la pigmentation des plasmodes sous l'influence d'un tel ou tel milieu nutritif, concordent avec les observations de Danielov, l'auteur d'un travail sur les pigments chez les Champignons (4). En étudiant un Hyphomycète *Isaria virescens* Elenk. et Daniel., l'auteur a constaté que ce champignon, cultivé dans un milieu riche en matières nutritives, est complètement dépourvu de pigment et dans les conditions normales (de nutrition et de lumière) le même champignon peut produire dans ses cellules de différents pigments: jaunes, verts, rouges-oranges, ou bleu. En cultivant *Aspergillus glaucus* sur différents substratums, j'ai pu constater que les hyphes de ce champignon, cultivé sur les substratums pauvres en matières nutritives, sont blancs ou roses, tandis que sur les substratums riches en celles-ci ils sont verts ou vert-olivâtres.

D'après Brandza (1) l'évaporation accélérée des plasmodes, sous l'influence des rayons solaires, peut marquer, chez de nombreux Myxomycètes, le changement de la couleur du périidium et du capillitium. Le même Myxomycète peut passer par différentes colorations, suivant qu'il se développe dans l'obscurité ou à la lumière.

Le caractère chimique, la distribution et les changements des pigments chez différents Myxomycètes attirèrent l'attention d'un certain nombre de biologistes. Dernièrement Th. Solacolu (8) a publié un très beau travail sur les matières colorantes de 26 espèces de Myxomycètes. Sans s'occuper de leur origine, il décrit leurs caractères physicochimiques et arrive à la conclusion que ces pigments sont semblables à ceux de nature anthracénique, trouvés dans les Champignons et les Lichens et par l'ensemble de leurs propriétés s'éloignent des pigments athocyaniques. En se basant sur le fait que les pigments des Myxomycètes ont les propriétés des dérivés anthracéniques, Solacolu fournit une séduisante conclusion, suivant laquelle les Myxomycètes seraient liés étroitement aux Champignons.

On sait que les fructifications de *Didymium difforme* se distinguent par un polymorphisme très accentué. Ce polymorphisme est lié étroitement avec la qualité du substratum et du milieu ambiant.

Cultivée sur le substratum pauvre en matières nutritives p. ex. sur la gélose à l'infusion faible de foin ou à la gélose pure, cette espèce donne exclusivement de très petites et très régulières fructifications en forme de coussinets ronds et de 0,5 à 1 mm de diamètre; cultivée au contraire sur les substratums riches en matières nutritives, elle fournit toujours des fructifications plasmodiocarpiques.

Pour étudier l'influence de la concentration des produits nutritifs sur la marche du développement de *Didymium difforme* et sur sa fructification j'ai utilisé la gélose au moût de bière, aux différentes concentrations, comme pour les cultures de *Didymium nigripes*.

Le groupe de cultures sur la gélose au moût de bière à 8% ne donne aucun résultat; dans ce milieu les spores germent difficilement et les myxamibes, issues de cette germination ne tardent pas à s'enkyster. Les Bactéries prennent au contraire un développement très abondant. Dans les mêmes conditions *Didymium nigripes* se comporte tout autrement: les spores ne germent pas et il n'y a aucun développement de Bactéries.

A mesure qu'on diminue progressivement la concentration du moût de bière, le nombre de spores germant augmente. La formation des plasmodes a lieu seulement quand la concentration du moût de bière s'approche de 2%. Mais dans ces conditions les plasmodes ne sont jamais capables à fructifier. Pour obtenir des fructifications il faut abaisser davantage la concentration du moût de bière; à la concentration de 1 — 0,5% il y a la formation des fructifications mais celles-ci ont toutes des formes des plasmodiocarpes irréguliers ou fortement ramifiés. La structure interne d'une telle fructification change également par rapport à la structure des fructifications formées dans le milieu naturel. Ce changement porte surtout sur la forme et le volume des spores. Les spores des fructifications, formées dans le milieu naturel sont toutes sphériques et mesurent de 12 à 14 μ . de diamètre, tandis que les spores des fructifications, formées sur le substratum en question, sont hétéromorphes: les unes sont sphériques et mesurent de 9 à 16 μ . de diamètre, les autres sont en forme de saucisses ou même ramifiées et leur volume dépasse celui de spores sphériques, pareillement à ce qui se passe chez *Didymium nigripes*.

La concentration du moût de bière la plus favorable au développement normal du Myxomycète en question est de 0,4 à 0,3%. Quand on dépasse cette limite de la concentration du moût et surtout quand on supprime complètement du substratum la matière nutritive on constate tout d'abord le développement de plus en plus faible de Bactéries qui, sur le substratum composé uniquement de gélose à l'eau pure, cessent presque complètement leur multiplication; l'eau de condensation, amassée dans le fond des tubes de cultures, reste toujours, comme je l'ai déjà dit puls haut, limpide. Dans ces conditions le Myxomycète est capable de se développer en passant par tous les stades habituels d'évolution. Seulement les plasmodies dans de telles cultures sont beaucoup plus petits et beaucoup plus pâles que dans les cultures riches en matières nutritives. Toutes les fructifications possèdent sans exceptions la forme des coussinets complètement ronds; le capillitium est d'une structure plus délicate et les spores sont également plus petites (11 μ) mais toutes sont sphériques et leur membrane est plus épaisse que dans les spores des fructifications formées sur les substratums plus riches en matières nutritives.

Didymium difforme, cultivé sur la gélose au bouillon concentré de carotte donne, pendant la fructification, uniquement des plasmodiocarpes ramifiées. Les spores de ceux-ci sont très hétéromorphes. Les plus petites sont complètement sphériques, les autres sont en partie éliptiques, en partie dépourvues de formes bien définies: les unes sont en formes de saucisses, les autres en formes de massues et les autres enfin sont ramifiées. On est également frappé par la différence dans la grandeur de ces spores. Les plus petites mesurent à peine 7 tandis que les plus grandes atteignent jusqu'à 25 μ . Celles-ci se distinguent en plus par cette particularité que leur membrane est beaucoup plus pâle et plus fine que celle des spores normales; elles sont également dépourvues de calotte caractéristique pour les spores normales. Leur membrane est tellement fine que les fixateurs et les colorants la traversent très facilement et colorent le protoplasme avec ses inclusions ainsi que le noyau. Toutes les spores les plus petites et les plus grandes sont uninuclées.

Les spores des fructifications formées sur le substratum naturel, ou pauvre en matières organiques, semées sur le substratum riche en substances nutritives, ne fournissent pas, comme je l'ai dit plus haut, aucun résultat positif. Que ce soit le moût de bière concentré ou jus de carotte concentré, le développement du Myxo-

mycète en question est complètement impossible. Mais si on augmente progressivement la concentration des matières nutritives du substratum et on ensemence sur ce substratum des spores provenant du milieu contenant une plus faible dose de ces matières nutritives, on est capable d'obtenir des fructifications même sur les substratums à forte concentration. J'ai constaté par exemple que les spores de *Didymium difforme* provenant des fructifications formées sur le substratum pauvre en matières nutritives (milieu naturel), ensemencées sur la carotte fraîchement stérilisée, ne donnent aucun résultat positif, c'est-à-dire le développement n'aboutit pas à la fructification. Mais si on procède par l'ensemencement progressif des spores sur le substratum de plus en plus riches en jus de carotte, on réussit finalement à obtenir des fructifications sur la carotte même. Sur ce substratum les fructifications diffèrent néanmoins beaucoup de celles que l'on trouve dans le milieu naturel ou que l'on obtient sur le substratum pauvre en matière nutritives. Elles possèdent la forme des plasmodiocarpes ramifiés, très applatis et rappellent jusqu'à un certain point les fructifications de *Didymium complanatum* Rost. On constate l'absence complète de sporanges ronds en forme de coussinets.

Didymium difforme peut, comme on le voit s'adapter progressivement aux nouvelles conditions d'existence mais en forme modifiée. Les spores de telles fructifications, ensemencées sur la carotte stérilisée fournissent des fructifications pareilles à celles dont elles proviennent, mais ensemencées sur un substratum pauvre en matières nutritives (gélose ou bouillon de foin) ne fournissent aucun résultat.

Sur la pomme de terre (tranches de pomme de terre stérilisées) *Didymium difforme* forme des plasmodes, mais ceux-ci ne fructifient jamais et se transforment seulement en sclérotés.

Le même Myxomycète, cultivé sur gélose à l'extrait du crottin de cheval, donne de très bons résultats — il se forme un grand nombre de fructifications, qui sont complètement rondes.

En étudiant depuis plusieurs années la biologie de *Didymium difforme* j'ai constaté un fait très caractéristique. Ce Myxomycète, cultivé sur un substratum artificiel (gélose au bouillon quelconque) perd progressivement sa faculté de développement. Les spores après douze générations à peu près cessent de germer sans qu'on sache pour quoi, malgré la présence des Bactéries qui continuent leur développement normal. Les autres espèces que je cultive de-

puis 1914 sans interruption (*Didymiums* et Acrasiées), me donnent toujours des résultats satisfaisants.

Ce phénomène est autant plus surprenant que les spores de *Didymium difforme* sont caractéristiques par leur longévité; après 4 ans de repos, dans des cultures complètement desséchées, elles germent malgré l'absence des Bactéries qui, dans les mêmes conditions, cessent de vivre (6).

La connaissance de tous ces phénomènes, observés dans les cultures artificiels, est indispensable pour la connaissance des faits constatés dans le milieu naturel, dans lequel nous récoltons précisément les Myxomycètes. On sait bien que de nombreuses espèces de ces organismes peuvent présenter souvent des différences individuelles, au point de vue de la forme, de la structure du capillitium, de la grosseur des spores et ainsi de suite. Il peut arriver qu'un systématicien prenne des individus récoltés dans différents milieux et appartenant à la même espèce pour des espèces différentes ou tout au moins pour des variétés différentes. Il est par conséquent utile et même nécessaire de connaître les particularités biologiques de ces organismes aux fins de leurs études systématiques. Je suis persuadé que l'application en une large mesure des recherches bio-cytologique à la systématique des Myxomycètes, contribuera à l'élimination de certaines espèces et surtout de nombreuses variétés douteuses; de l'autre côté de nombreux Myxomycètes, considérés comme de simples variétés seraient reconnus comme des espèces indépendantes.

Institut de Botanique Générale de l'Université de Varsovie.

EXPLICATION DE LA PLANCHE III.

Fig. 1, 2, 3, et 4 représentent les spores et les fragments de capillitium provenant des sporanges de *Didymium nigripes* formés sur le substratum riche en matières nutritives (moût de bière à 2% ou infusion concentrée de carotte et de pomme de terre). La modification des spores est très prononcée (fig. 3).

Fig. 5. Spores et fragments de capillitium d'un sporange de *Didymium nigripes*, récoltés sur du bois pourri.

Fig. 6, 7, et 8. Spores, fragments de capillitium et cristaux étoilés de CaCO_3 , provenant des sporanges formés sur gélose au Knop.

Fig. 9 et 10. Spores, fragments de capillitium et cristaux étoilés de CaCO_3 , provenant des sporanges formés sur gélose à l'eau distillée.

Toutes les photographies sont au même grossissement qui est environ de 750 fois.

BIBLIOGRAPHIE.

1. B r a n d z a, M., 1926. — Sur la polychromie des Myxomycètes vivant en plein soleil. C. R. Ac. Sc. Paris, T. 182.
2. C a y l e y, D. M., 1929. — Some observations on Mycetoza of the genus *Didymium*. Transactions of the British Mycological Society, Vol. XIV.
3. C o n s t a n t i n e a n u, J. C., 1906. — Ueber die Entwicklungsbedingungen der Myxomyceten. Annales Mycologici, 4.
4. D a n i e l o v, A. K., 1925 — Zur Frage nach der Pigmentbildung bei den Pilzen. Berichte der Deutsch. Bot. Gesel. Bd. XLIII.
5. P i n o y, E., 1921 — Sur la germination des spores, sur la nutrition et sur la sexualité chez les Myxomycètes. C. R. Ac. des Sc. Paris, 1, 175.
6. S k u p i e ń s k i, F. X., 1928 — Badania bio-cytologiczne nad *Didymium difforme*. — Część pierwsza (Etude bio-cytologique sur *Didymium difforme*. — Première partie). Acta Soc. Bot. Poloniae, Vol V, Nr. 3.
7. S k u p i e ń s k i, F. X., 1930 — Influence de la température sur la fructification de *Didymium nigripes*. Acta Soc. Bot. Poloniae, Vol. VII, Nr. 2.
8. S o l a c o l u, T h., 1932 — Sur les matières colorantes de quelques Myxomycètes. Le Botaniste, Série XXIV.