
BULLETIN MENSUEL
DE LA
SOCIÉTÉ LINNÉENNE DE LYON

FONDÉE EN 1822

RECONNUE D'UTILITÉ PUBLIQUE PAR DÉCRET DU 9 AOUT 1937

DES

SOCIÉTÉS BOTANIQUE DE LYON, D'ANTHROPOLOGIE ET DE BIOLOGIE DE LYON
RÉUNIES
et de leur GROUPE de ROANNE.

Secrétaire général : M. LOCQUIN, 76, bd des Belges, 6^e. *Trésorier* : H. GRAVEL, 1, rue Bellecour, 2^e.

SIÈGE SOCIAL A LYON : 33, rue Bossuet, 6^e (Immeuble Municipal)

ABONNEMENT ANNUEL	France et Colonies Françaises.	100 francs
c/c p. Lyon 101-98.	Étranger.	200 —

Dans le genre *Acroceras* Stapf, les nervures transversales existent parfois, mais moins nettes que dans *Pseudolasiacis*; elles existent mais ne sont pas très nombreuses dans le genre indochinois *Neohusnotia* A. Camus.

On retrouve ce caractère dans le *Cyrtococcum deltoideum* A. Camus, de Madagascar, dans *Sacciolepis aurita* A. Camus, de l'Asie orientale, dans quelques *Panicum*, dans l'*Homolepis aturense* Ch., de Panama, dans de rares espèces du genre *Ichnanthus* P. B. (*I. pallens* Munro), à feuilles larges, cordées, parfois contractées en pétiole. Dans cet *Ichnanthus* les nervures transversales sont saillantes.

Le genre aberrant *Thysanolaena* Nees, pantropical, a de larges feuilles à nervation manifestement tessellée.

La présence de nervures transversales dans des genres comme *Pseudolasiacis* A. Camus, se rattachant sans nul doute aux *Panicoideæ* indique que certains genres de cette importante sous-famille ont des caractères primitifs non seulement dans la disposition des épillets mais dans leurs organes végétatifs.

De cette étude il ressort que la présence des nervures tessellées dans les feuilles de Graminées n'est très répandue que dans la sous-famille des *Bambusoideæ*; c'est un caractère archaïque que l'on retrouve seulement dans les genres qui, d'après leurs caractères floraux, sont regardés comme les plus anciens des *Pooideæ* et des *Panicoideæ*.

Présenté à la Section botanique en sa séance du 10-2-45.

RECHERCHES SUR LA MICROSPORE DU GENRE *CERATOPHYLLUM*

Par I. MOURAVIEV.

I. — LA MEMBRANE POLLINIQUE.

Les botanistes ont remarqué depuis longtemps que les microspores des Phanérogames hydrogames se distinguent visiblement des microspores des plantes aériennes par leur membrane extrêmement mince dépourvue en partie ou totalement d'exine.

Cette extrême minceur de la membrane permet l'observation détaillée du contenu de la microspore¹ sans avoir recours à des procédés spéciaux et constitue de ce fait un sérieux avantage dans les recherches cyto-physiologiques, surtout dans les stades pré-germinatifs encore si mal connus.

L'étude du pollen des plantes submergées présente donc un intérêt particulier et mérite d'être reprise en détail, d'autant plus que la littérature nous fournit à cet égard des documents très imparfaits.

Avant d'aborder cette étude, il nous paraît indispensable d'exposer en détail la structure de la membrane pollinique car sa connaissance présente un intérêt non seulement botanique, mais rentre aussi dans le cadre des problèmes généraux de la biologie cellulaire. Le pollen aquatique se comporte,

1. C'est ainsi qu'on distingue souvent très bien à travers cette membrane les noyaux, parfois la vacuole et même, dans certaines microspores formées à la fin de la floraison et qui ne sont pas riches en amidon, la cyclose du cytoplasme autour de la vacuole.

en effet, comme un organisme planctonique et les phénomènes de perméabilité et d'échanges jouent ici un rôle autrement important que chez le pollen aérien.

Nos recherches ont été effectuées sur le pollen de *Ceratophyllum*, plantes aquatiques submergées très intéressantes. Nous nous occuperons ici de la membrane pollinique, réservant pour plus tard l'exposé cyto-physiologique de la microspore elle-même.

On sait que chez le *Ceratophyllum*, la pollinisation se fait sous l'eau. Les grains de pollen mis en liberté flottent au sein du liquide et arrivent aux stigmates soit poussés par les remous, soit par leur propre poids spécifique, qui est légèrement supérieur à celui de l'eau et qui les fait descendre sur les stigmates disposés plus bas.

La forme des grains est variable et semble être en rapport avec l'endroit qu'ils occupaient dans le sac. Il est probable aussi que chez les formes polyploïdes, elle est plus variable que chez les exemplaires normaux. En général, elle est irrégulière, surtout chez l'espèce *submersum*, aplatie, triangulaire, mais on rencontre des microspores sphériques, ovoïdes et même à tendance cylindrique. D'ailleurs les deux espèces européennes diffèrent assez nettement par leur pollen : chez le *C. submersum* par exemple, les angles sont plus proéminents, en forme de « verrues » suivant l'expression de STRASBURGER. Ils sont aussi plus nombreux, quatre ou cinq et même six, tandis que chez l'espèce *demersum*, ils sont presque toujours en nombre de trois, bien plus obtus, souvent difficiles à distinguer.

Sur le grain frais, la membrane se présente sous forme d'une pellicule lisse, hyaline, extrêmement mince, adhérente au cytoplasme¹, et dans laquelle il est impossible de distinguer, même avec le plus fort grossissement, une séparation en exine et intine. Cette uniformité de structure a conduit les anciens auteurs à décrire la membrane comme l'endospore ; l'exospore ou l'exine faisant ici défaut. Mais STRASBURGER (1) qui a fait une étude remarquable sur le *Ceratophyllum*, constate qu'elle est nettement, quoique faiblement cutinisée, et que, par conséquent, elle doit être regardée comme l'exine, l'intine faisant ici défaut. Il se base sur le fait qu'elle est insoluble dans l'acide sulfurique concentré et que le chlorure de zinc iodé ne produit pas de coloration visible. Il constate aussi qu'elle contient un peu de substances pectiques. Néanmoins GOEBEL (2) parlant, dans son ouvrage, sur le pollen aquatique, continue à considérer cette membrane comme l'intine².

Tout récemment WULF (3), étudiant le pollen de *Ceratophyllum submersum*, remarque qu'il est difficile d'expliquer la germination de la microspore si on admet l'existence d'une seule membrane homogène sur toute la surface du grain, car alors l'élévation de la pression osmotique à l'intérieur, qui déclenche la germination, aurait pour résultat l'augmentation du volume de tout le grain et non l'ébauche d'un tube pollinique à un endroit déterminé. Il n'a pas pu distinguer s'il existe une ou deux membranes, mais sup-

1. Les grains fixés, même par les meilleurs fixateurs, ont le cytoplasme très légèrement contracté et souvent la membrane se détache (voir plus loin).

2. Nous n'avons pas eu entre les mains les travaux d'Ed. JONES et de JENRYCHOWSKA et SROCZYŃSKA ; mais il semble, à en juger les analyses bibliographiques, que ces auteurs ne se sont pas occupés beaucoup de la membrane pollinique.

pose, en se basant sur les théories modernes de la mécanique de la germination, l'existence de deux membranes. Il remarque avec justesse que si l'on admet une seule membrane, celle-ci devrait avoir une structure non homogène, c'est-à-dire : « il devrait y avoir un ou plusieurs endroits fortement extensibles sur une large surface non ou faiblement extensible. »

Au cours de nos recherches sur le pollen du *Ceratophyllum*, nous avons réussi à mettre en évidence l'existence de deux couches distinctes dans la paroi, au moins dans certaines régions. D'autre part, en faisant agir certains colorants colloïdaux, nous avons constaté que la perméabilité de la membrane n'était pas partout la même. Ces faits, s'ils se confirmaient, seraient susceptibles de modifier nos idées sur la paroi pollinique des microspores aquatiques.

Les travaux de Fr. SCHWARZ et de CZAJA (4) ont montré que les membranes végétales se comportent vis-à-vis des colorants dits « substantifs » tels que le Bleu diamine BB ou le Brillant-kongoblau 2 RW comme des ultrafiltres, c'est-à-dire que suivant leur constitution, elles laissent passer soit toutes les parties constituantes du colorant et se colorent alors par la teinte de celui-ci, soit seulement certaines fractions à moyennes ou petites micelles et prennent alors la couleur de celles-ci. C'est le phénomène de la « métachromasie ». CZAJA a constaté que les membranes parenchymateuses cellulósiques se laissent traverser par toutes les fractions de ces colorants en solution aqueuse et se colorent en bleu par le Brillant-kongoblau. Les membranes lignifiées plus compactes se laissent imbiber par la fraction rouge du colorant et les membranes cutinisées, plus compactes encore, ne se laissent traverser que par la fraction jaune à micelles plus petites encore, en se colorant respectivement en rouge et en jaune.

Ayant eu connaissance de ces travaux, M. KÜNNER avait eu l'idée d'appliquer ces colorants colloïdaux à l'étude des membranes des champignons supérieurs et s'était procuré dans ce but, avant la guerre, quelques-uns des colorants substantifs qui avaient donné les contrastes les plus frappants à CZAJA, et ceci à la fabrique même où ce dernier s'était approvisionné ; il nous conseilla de les essayer sur les pollens.

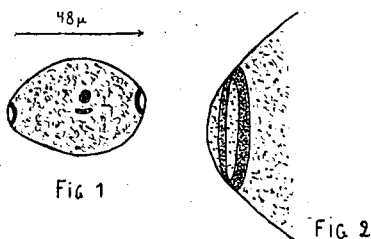
La technique que nous avons suivie était la suivante : on détache avec une aiguille lancéolée une étamine mûre (on reconnaît qu'une étamine est mûre à ce qu'elle se détache facilement lorsqu'on la pousse en dehors avec l'aiguille) et on la dépose sur une lame porte-objet dans une goutte d'eau. On appuie légèrement avec l'aiguille sur l'étamine et on voit le pollen sortir en abondance dans l'eau. On enlève l'étamine, on recouvre le pollen avec une lamelle et on porte sur la platine du microspore. On dépose alors d'un côté de la lamelle une solution du colorant et on aspire l'eau de l'autre côté par du papier buvard.

Les colorants que nous avons utilisés étaient le *Bleu diamine BB* (L. CASELLA) et le *Congoechtblau B* en solution aqueuse à 0,5 % et dans l'acide acétique à 30 % à 0,5 % également.

Dans la solution aqueuse du colorant, on voit au bout d'un certain temps

1. Je remercie vivement M. le Professeur R. KÜNNER qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et dont les conseils et la grande érudition nous a toujours été de la plus grande utilité.

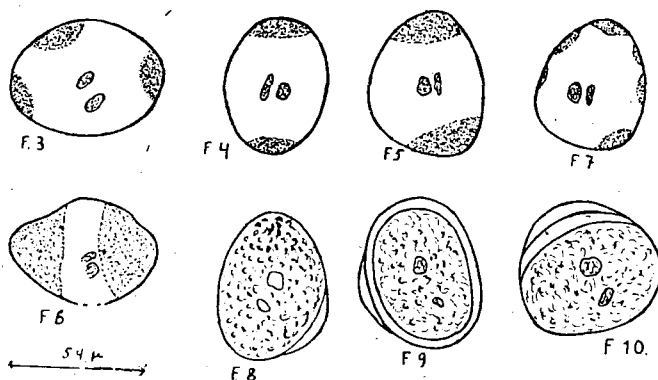
un ou simultanément deux angles de la microspore se colorer en bleu violacé¹. Vue de face, la coloration débute sous forme d'un anneau (fig. 1 et 2), qui d'ailleurs se confond assez rapidement en une tache, mais c'est



toujours un cercle coloré qui apparaît d'abord. La rapidité avec laquelle la coloration débute est variable et semble être en rapport avec la maturité des microspores. En général, elle commence après 20-60 m., mais peut se faire plus tard encore. Nous avons souvent observé des grains qui étaient encore incolores après 13 h. de séjour dans le colorant. Par contre, d'autres grains se colorent plus rapidement.

Quelquefois, avant de commencer aux angles, la coloration se fait n'importe où à la surface du grain. L'observation attentive montre toujours l'existence à cet endroit d'une fissure ou déchirure par où le colorant s'est infiltré. Les taches colorées aux angles s'agrandissent rapidement et finissent par confluer, puis à colorer tout le grain (fig. 3, 3, 5, 6).

La pénétration de ces colorants à travers la membrane ne se fait donc pas partout avec la même intensité et la même facilité. Une zone circulaire,



située aux angles, est nettement plus perméable aux colorants que la paroi dans d'autres régions du grain.

Les microspores fixées ne se comportent pas à ce point de vue comme le

1. Il résulte des observations que nous avons faites en collaboration avec M. KÜNNER sur diverses espèces terrestres, que le bleu diamine BB (0,5 %) en solution dans l'acide acétique à 30 % est un excellent colorant pour l'étude des pollens. Il met admirablement bien en évidence les pores germinatifs, les plis et le corps intermédiaire.

D'autre part, le bleu diamine BB est relativement peu toxique et nous avons observé souvent la cyclose du cytoplasme même 30 m. après le début de la coloration.

pollen frais. La fixation, même par les meilleurs fixateurs cytoplasmiques (HELLY, LA COUR, 2 BD, HOLLANDE, REGAND) produit presque toujours une très légère contraction du protoplasme ou du moins une séparation de celui-ci de la membrane. Les images de pénétration des colorants se trouvent profondément troublées.

Dans de telles microspores plongées dans le colorant, on voit, au bout de 40/50 m., le cytoplasme se colorer en un ou deux points (souvent aux angles). Mais on n'assiste pas à l'apparition de cercles, comme dans les microspores vivantes et les plages colorées ont des contours beaucoup moins nets. Souvent le colorant, en traversant la membrane, diffuse dans l'espace étroit qui sépare la membrane du cytoplasme et ce dernier se colore presque uniformément à la périphérie (fig. 7). Pourtant, dans certains grains mieux conservés, l'aspect des taches colorées est le même que dans les grains vivants.

Lorsque le grain de pollen germe, c'est presque toujours à un des angles que se forme le tube pollinique. Quelquefois il se forme deux tubes polliniques aux deux angles. Ceci montre bien que les angles doivent être considérés comme des « pores germinatifs », quoique rien dans leur structure ne dénote leur présence. Si l'on fait agir les mêmes colorants en solution aqueuse sur les grains à peine germés, on voit presque instantanément (30 à 60 sec.) les ébauches des tubes polliniques et les tubes plus développés se colorer intensément en bleu. Dans toutes ces régions, la membrane est devenue extrêmement perméable et se laisse traverser par les colorants avec la plus grande facilité.

Dans les grains de pollen, où les tubes polliniques sont bien développés et où le protoplasme a presque entièrement émigré dans les tubes, on constate qu'après un séjour assez prolongé dans le *Congoechtblau B* à 0,5% en solution aqueuse, la membrane du grain se colore très légèrement en violet, mais que la membrane du tube est, par contre, intensément colorée. A la base du tube, là où la membrane de la microspore se transforme en celle du tube, on observe un passage assez brusque entre la partie colorée intensément et celle colorée faiblement. De même chez les microspores non germées auxquelles on a fait subir le même traitement et chez lesquelles on a séparé la membrane par une légère pression sur la lamelle, on constate qu'elle est également très légèrement colorée en violet. Le *bleu diamine BB* produit le même phénomène, seulement la membrane est colorée en bleu mauve pâle.

On remarque que la teinte de la membrane colorée n'est pas exactement celle de la solution du colorant ; elle apparaît violette avec le *Congoechtblau*, ce qui montre que la fraction rouge est plus abondante proportionnellement à la bleue à plus grosses micelles qui a plus de difficultés à s'infiltrer dans la membrane. On peut donc considérer qu'au point de vue de sa constitution physique, elle semble être plus dense que les membranes parenchymateuses ordinaires et moins dense que les parois lignifiées.

Ceci semble se confirmer aussi par la teinte nettement plus violacée que prend le cytoplasme lorsqu'on colore les microspores avec ces mêmes colorants, que la solution du colorant lui-même.

La faible colorabilité de la membrane tiendrait-elle à l'hétérogénéité de sa structure ? Certaines parties constitutives denses disposées en réseaux serrés

n'étant pas pénétrables par les colorants? Il est impossible, pour le moment, de répondre à cette question.

Dans le stade qui précède la germination, c'est-à-dire dans la microspore mûre, la région de la membrane qui formera le tube pollinique modifie sa structure physique et devient très perméable aux colorants colloïdaux.

Une autre propriété physique de la membrane pollinique est sa grande élasticité et extensibilité. Si on plonge les microspores dans une solution de potasse ou dans la glycérine, elles se contractent fortement et le protoplasme plasmolysé se détache de la membrane. Si alors on aspire la potasse avec un buvard et qu'on fait arriver sous la lamelle de l'eau distillée, la potasse restée emprisonnée entre le protoplasme et la membrane attire fortement l'eau et la membrane se distend considérablement, souvent, à tel point, que le grain prend des dimensions doubles de sa taille normale.

Nous avons vu que tous les auteurs admettent que la paroi pollinique du *Ceratophyllum* est formée d'une seule membrane, l'intine très vraisemblablement, mais il n'est pas exclu que cette membrane, comme il arrive souvent, soit composée de deux ou plusieurs couches.

Si l'on examine des grains de pollen frais dans l'acide acétique à 25-30% on remarque qu'au bout d'un certain temps, chez de nombreux grains, par endroits, la paroi se dédouble et la couche externe se bombe vers l'extérieur en forme de ventouse caractéristique (fig. 8). Tout se passe comme si l'acide acétique, en pénétrant dans la microspore, dilatait la couche externe de la membrane qui se détacherait en un endroit quelconque et se bomberait vers l'extérieur. Ce dédoublement est rendu plus visible si l'on examine les microspores dans l'acide acétique à 30% additionné de 0,5% de bleu diamine. Les couches dédoublées et séparées se profilent alors avec une remarquable netteté sur le fond bleu violacé de la préparation.

Généralement la couche interne de la membrane reste adhérente au cytoplasme et se confond avec celui-ci; seule la couche convexe externe est visible. Mais on rencontre quelquefois, dans la même préparation, des grains dont le protoplasme s'est légèrement contracté et s'est détaché de la membrane soit d'un seul côté, soit uniformément sur tout le pourtour (fig. 9, 10). On voit alors nettement dans les « ventouses » les deux couches et entre elles et le cytoplasme, un espace rempli de liquide.

Ces deux couches de la membrane dédoublée sont d'une extrême finesse et apparaissent même sous l'objectif à immersion comme deux traits qu'il est difficile d'évaluer exactement en fraction de μ .

Il est possible, en absorbant le bleu diamine acétique par le papier buvard et en faisant arriver de l'eau ou de l'eau glycinée par le côté opposé, de la préparation, de reproduire le phénomène inverse. Sous l'action de ces réactifs, la couche externe dans les « ventouses » se contracte et s'applique sur la couche interne et il devient impossible de la distinguer. Mais en absorbant l'eau et en faisant arriver le bleu diamine acétique, on arrive quelquefois à reproduire de nouveau les « ventouses ».

Si à la place de l'acide acétique on s'adresse à d'autres acides organiques, tels que l'acide citrique, lactique ou oxalique dilués, le dédoublement ne se reproduit pas. Toutefois l'acide trichloracétique à 10% provoque quelquefois la formation de « ventouses » chez quelques grains.

Sur les microspores fixées par les fixateurs habituels tels que Hollande

cuprique, HELLY, BOVIN, etc..., de même que sur le pollen passé à l'eau de Javel au tiers, nous n'avons pas constaté la formation de « ventouses ». Pour réussir à obtenir le dédoublement chez de nombreux grains, il est nécessaire de s'adresser au pollen frais provenant d'une étamine arrivée à maturité. De telles étamines se trouvent toujours à la périphérie des fleurs mâles arrivées au terme de développement, c'est-à-dire à une quinzaine de centimètres au-dessous du sommet de la tige.

Ce dédoublement local de la membrane de la microspore sous l'action de certains réactifs démontre nettement que cette membrane est constituée de deux couches distinctes. Les recherches en cours permettront peut-être de rendre cette séparation plus démonstrative encore. Il n'est pas possible, pour le moment, d'affirmer que ces deux couches correspondent à l'exine et à l'intine. Il est plus vraisemblable de considérer ces deux couches comme homologues à l'intine.

*
**

Quelle est la constitution chimique de cette membrane pollinique ?

Nous avons vu que STRASBURGER considère qu'elle est cutinisée, toutefois dans des proportions moindres que chez les plantes aériennes. Et il ajoute : « Elle peut contenir aussi un peu de substances pectiques ». Le fait principal qui l'incite à admettre que la paroi pollinique est cutinisée est son insolubilité dans l'acide sulfurique concentré. Pourtant, il nous semble que ce seul caractère est insuffisant pour tirer une telle conclusion. Au cours de nos recherches, nous avons essayé les réactions caractéristiques des membranes cutinées sur un grand nombre de microspores de *Ceratophyllum* et aucune ne s'est montrée positive. Le Soudan III en solution alcoolique ne produit pas même la moindre coloration des membranes des grains, la cyanine non plus, la méthode de ZIEL-NEELSEN, considérée comme élective des membranes cutinisées, donne un résultat négatif. Il nous semble donc que si la paroi des microspores est insoluble dans l'acide sulfurique concentré, ceci est dû à une autre cause.

Par contre, la présence de la cellulose est certaine, et sur ce point, nous sommes encore en désaccord avec STRASBURGER qui n'a pas constaté la présence de cellulose puisqu'il écrit : « Le chlorure de zinc iodé ne produit pas de coloration visible. Le rouge congo reste aussi inactif ». Nous avons constaté à plusieurs reprises que le chlorure de zinc iodé colore faiblement la membrane en bleu enfumé, de même que l'iode et l'acide sulfurique. Cette coloration semble plus nette si on traite d'abord le pollen par l'hypochlorite de sodium au tiers. Le rouge congo en solution ammoniacale ne produit, par contre, aucune coloration.

Ces faits semblent montrer que si la cellulose existe réellement dans la membrane pollinique, la proportion dans laquelle elle rentre dans la constitution de cette paroi est toutefois assez faible.

STRASBURGER constate la présence, comme nous l'avons vu, de matières pectiques. Nous avons constaté également que le rouge de ruthénium en solution diluée colore assez intensément cette paroi en rouge rose. A notre avis, les composés pectiques formeraient la substance de base de la membrane pollinique du *Ceratophyllum*. Cette trame fondamentale pourrait être

imprégnée d'une petite quantité de cellulose et peut-être d'une matière qui serait analogue à la cutine par ses propriétés, mais différente par sa constitution chimique.

La présence de matières pectiques en proportion assez élevée peut être mise en évidence d'une autre manière. Si l'on solubilise par la méthode de DAUPHINÉ (5) le pectose de la membrane pollinique, celle-ci devient fragile et se détache du cytoplasme en entier ou par lambeaux à la moindre pression sur la lamelle. Cette membrane, en partie dépectosée, se colore encore légèrement par le rouge de ruthenium. Le chlorure de zinc iodé ou l'iode et l'acide sulfurique la colorent en jaune (coloration par l'iode) et non en brun, et le Soudan III ne produit aucune coloration. Si l'on traite cette membrane par l'acide sulfurique concentré, elle ne se dissout pas sur place ; mais si on déplace légèrement la lamelle couvre-objet par un mouvement de va-et-vient, elle se désagrège avec la plus grande facilité en minuscules fragments et fibrilles qui finissent par disparaître entièrement.

Tous ces faits semblent démontrer que nous nous trouvons en présence d'une membrane pecto-cellulosique ; mais où les pectoses et les celluloses se trouvent sous une forme plus « condensée », engagées dans des combinaisons différentes de celles des membranes parenchymateuses ordinaires. L'extrême minceur de cette membrane ne permet pas la détection par les méthodes microchimiques habituelles d'autres matières qui pourraient éventuellement entrer en faible proportion dans sa composition.

Nous avons pensé d'abord qu'il pourrait s'agir peut-être de corps voisins de la callose, étant donné qu'elle a été trouvée déjà dans la paroi des microspores ; mais le Bleu coton C 4 B à 1% en solution acidulée produit seulement une faible coloration, insuffisante pour admettre sa présence. D'ailleurs, les substances complexes qu'on désigne sous le terme « callose » sont encore mal définies pour essayer de les identifier dans une membrane aussi mince que celle de la microspore du *Ceratophyllum*. Il en est de même des matières azotées auxquelles nous avons également songé, mais ni la réaction du biuret, ni la réaction xanthoprotéique préconisées par DAUPHINÉ (6) n'ont rien donné de certain, vu l'extrême minceur de la paroi.

Cette membrane pecto-cellulosique a la faculté de s'accroître lors de la formation du tube pollinique. Nous avons déjà vu qu'à l'endroit des pores germinatifs, elle avait une structure différente de celle du reste du grain. Cette différence se révèle encore plus grande, si on compare la membrane de la microspore à celle du tube pollinique. La méthode de GRAM-NEWTON, modifiée par KÜNNER¹ est très démonstrative à cet égard. Les grains de pollen germés en chambre humide dans une goutte d'eau du robinet sont desséchés après fixation sur lame, ce qui les fait solidement adhérer sur verre sans aucun préjudice pour la bonne conservation de la structure cytologique. On plonge alors les lames dans les tubes de Borrel remplis de colorants et on regresse 24 à 36 h. à l'essence de girofle. Les microspores

1. La méthode de coloration des noyaux aux GRAM-NEWTON rentre de plus en plus en faveur dans les pays étrangers et par la rapidité et netteté de la coloration, tend même à remplacer la méthode classique à l'hématoxyline. La modification en question est décrite en détail dans l'excellente monographie de R. KÜNNER : *Le genre Mycena*, Paris, 1938, Lechevalier édit., p. 32. Elle consiste à ajouter du vert-lumière à la teinture d'iode dans laquelle les pièces sont plongées après séjour dans le violet.

(l'amidon surtout) sont colorés en mauve, les tubes polliniques (cytoplasme) en vert. Si l'on examine attentivement les membranes, on constate que la paroi de la microspore ne prend pas le Gram ou très légèrement. Par contre, celle du tube pollinique est colorée légèrement en vert par le vert-lumière iodé. Le passage se fait assez insensiblement à l'endroit où le tube pollinique prend naissance. Nous avons vu que les colorants substantifs relèvent des différences dans l'intensité de coloration qui se superposent à celle fournie par le Gram.

La méthode de GRAM-NEWTON-KÜHNER, en plus de la différenciation des membranes, permet d'étudier avec une grande commodité la genèse et l'hydrolyse de l'amidon dans les microspores. C'est ainsi que dès les premiers stades d'une ébauche de tube pollinique, le cytoplasme à cet endroit apparaît coloré en vert par suite de la disparition ou de l'écartement des amyloplastés. La membrane pollinique commence également à cet endroit à se colorer en vert. Nous reviendrons d'ailleurs avec beaucoup de détails sur ce sujet dans une note ultérieure.

La paroi du grain de pollen ne se colore donc pas avec le vert-lumière ; par contre, celle du tube pollinique se colore. Les coupes dans les diverses tiges que nous avons pratiquées comparativement et passées au même Gram, montrent que les membranes pecto-cellulosiques des cellules parenchymateuses se colorent en vert, les parois lignifiées en violet bleu verdâtre (suivant l'intensité de lignification) et les fibres en violet. Les poils sont incolores. Les membranes des tubes polliniques sont donc de vraies membranes pecto-cellulosiques en croissance, celles de la paroi se comporteraient comme les poils. Toutefois, il nous semble que cette différence dans la coloration dépendrait plus des propriétés physiques des membranes, que de leur constitution chimique.

RÉSUMÉ.

En résumé, nos recherches ont montré que la membrane de la microspore du *Ceratophyllum* possède plusieurs pores germinatifs au niveau desquels la perméabilité est supérieure à celle de la membrane qui recouvre le reste du grain ;

Que cette membrane se compose très vraisemblablement de deux couches distinctes pouvant se séparer dans certaines conditions sous l'action de l'acide acétique à 30 % ;

Que par sa constitution chimique, elle est surtout pecto-cellulosique, mais que les pectoses et les celluloses se trouvent sous une forme « plus condensée » que dans les membranes pecto-cellulosiques parenchymateuses ordinaires, mélangées peut-être à d'autres corps de nature inconnue, semblables à la cutine, mais non identique chimiquement.

Dans une publication ultérieure, nous rapporterons les recherches en cours sur la structure sub-microscopique des parois des microspores aquatiques et surtout la structure des pores germinatifs en rapport avec la perméabilité aux électrolytes minéraux et organiques, avant et pendant la germination.

Mémoire présenté à la Section Botanique
en sa séance du 10 février 1945.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) STRASBURGER E. — Ein Beitrag zur Kenntniss von *Ceratophyllum submersum* und phylogenetische Erörterungen. *Prings. Jahrb. f. Wiss. Bot.*, Bd. 37, pp. 477-526, 3 pl., 1902.
- (2) GORHEL K. — Organographië der Pflauzen, insbesondere der Archegoniaten und Samenpflauzen, 3, Teil : *Spezielle Organographie der Samenpflauzen*, Iéna, 1923.
- (3) WULF H. D. — Chromosomenstudien an der Schleswig-Holsteinischen Angiospermen-Flora II. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.*, Bd. LVI, pp. 247-252, 1938.
- (4) CZAJA A. Th. — Die Analyse der metachromatischen Färbungen von Pflanzengeweben mit organischen Farbstoffen. *Ber. d. Deutsch. bot. Ges.*, Bd. XLVIII, pp. 100-104, 1930.
- (5) DAUPHINÉ A. — Nouvelle technique micrographique de solubilisation de la pectose. *Revue de Cytologie et de Cytophysiologie végétale*, tome III, fasc. 1; pp. 63-64, 1938.
- (6) DAUPHINÉ A. — Mise en évidence et localisation de substances protéiques dans la membrane. *Bull. Soc. Bot. de France*, tome LXXXI, pp. 328-331, 1934.

NOTES SUR LES LÉPIOTES (II)

Par Marcel Locquin (*suite*).

Lepiota micropholis (B. et Br.) ss. Cooke non Lange.

Récolté plusieurs fois sous *Cedrus deodara* en été et en automne 1938-1940 à Lentilly (Rh.).

CHAPEAU : (D = 1,5-2-[3]) d'abord campanulé puis hémisphérique ou subplan, gardant à peine un mamelon au disque ; *revêtement* rompu en écailles minuscules contiguës au centre, laissant apparaître le fond blanc satiné de la chair vers la marge ; gris, gris brunâtre à bistre fuligineux foncé (parfois presque noir) au disque, écailles plus petites et plus claires vers la marge ; *marge* droite, frangée, parfois substriée ; *chair* : très mince, blanche, fragile ; *odeur* faible, *sauveur* subnulle.

PIED : (H = 20-30 ; d = 1-2,5) cylindracé, séparable, creux, farci de fibrilles blanches, à peine renflé à la base, légèrement satiné subpruineux, blanc ; *anneau* membraneux, persistant, brun, retenu par un faisceau de fibrilles blanches ; *chair* devenant rose brunâtre au toucher ou à la cassure.

LAMELLES : serrées, blanches, fragiles, subventruës, libres (l = 1, λ ∞), à faces planes, blanches, arête régulière, à peine poudrée, concolore.

REVÊTEMENT PILÉIQUE : régulier et hyméniforme, portant çà et là de longs poils grêles à parois épaisses et jaune d'or : 3 × 50-100 μ.

CHAIR : emmêlée-filamenteuse.

POILS DU PIED : peu nombreux et semblables à ceux du chapeau, quelquefois cloisonnés, 2-3 × 100-150 μ portant des épaississements.

ARÊTE : stérile à poils banaux, clavés.

BASIDES : tétrasporiques, claviformes.

HYPHES : bouclées.

SPORES : subcylindracées à base élargie surtout au contour frontal, 5-6 × 3,5-4 μ.

OBSERVATIONS :

Cette très petite espèce me semble bien être celle que figure Cooke dans