

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.Trésorière: Mlle M. FREREJEAN, 14, rue Général-Plessier, Lyon 2^e.SIEGE SOCIAL A LYON : 33, rue Bossuet, 6^e (Immeuble Municipal)

ABONNEMENT ANNUEL	France et Colonies Françaises	200 francs
C/C. P. Lyon 101-98	Etranger	400 —

PARTIE ADMINISTRATIVE

AVIS DU TRESORIER

N'omettez pas, si vous ne l'avez déjà fait, de nous adresser votre cotisation pour 1948 (chèque bancaire ou virement postal : Lyon 101-98). Les cotisations non rentrées à fin Mars feront l'objet d'une quittance postale augmentée des frais de recouvrement.

ORDRES DU JOUR

CONSEIL D'ADMINISTRATION : Mardi 9 Mars à 20 h. 15

Vote sur l'admission de :

Mme SABOULARD, 5, cours Vitton, Lyon, parrains MM. Boudet et Coquillat. — Mlle ABRE Marthe, 12, rue Laurent-Vibert, Lyon, parrains MM. Boudet et Coquillat. — M. MIGNOT Elie, 43, rue Pierre-Dupont, Lyon, parrains MM. Lalive et Lacombe. — M. GAULT Joseph, Les Sables, l'Arsenal, Roanne (Loire), parrains MM. Decore et Alfred Lefèvre. — Mlle BLANCHARDON Annie, 29, rue Emile Noirtot, Roanne (Loire), parrains Mlle Pascal et Mme Fontaine. — M. MICHEL Joseph, chemin de Soucieu, Chaponost (Rhône), parrains M. Coquillat et Mlle Frèrejean. — M. VIUGEAS, 54, rue de Verdun, Bourg-lès-Valence, parrains MM. Reveillet et Blanc. — M. GUILLAUD, 1, rue François Pie, Valence, parrains MM. Reveillet et Blanc.

Questions diverses.

SECTION ENTOMOLOGIQUE : Mercredi 10 Mars, à 20 h. 15

Dr E. ROMAN et JEHL : *Dermocentor* (Acariens Ixodidés) du Bassin du Rhône.
H. TESTOUT : Révision du catalogue des *Erebia* françaises (Lépidoptères) suite.
J. BECHYNE : Nouveaux Galérucoïdes de Madagascar.
Présentation d'insectes. — Questions diverses.

séparant les particules ultramicroscopiques est supérieure à la limite de résolution du microscope. Ainsi, les observations sont valables pour les sols colloïdaux, mais en général pas pour les gels, dans lesquels les particules sont très serrées les unes contre les autres. C'est dire combien est limité l'usage de l'ultramicroscopie dans l'étude des structures inframicroscopiques.

Présenté à la Section de Microscopie en sa séance du 17 janvier 1948

RECHERCHE SUR LA MICROSPORE DU *G. CERATOPHYLLUM* L. LE VACUOME

Par I. MOURAVIEW.

RÉSUMÉ.

Le présent mémoire fait suite aux recherches sur le pollen du *Ceratophyllum*. Il concerne le vacuome.

Après avoir insisté sur l'intérêt de l'étude du pollen aquatique et particulièrement du vacuome, encore peu connu, l'auteur décrit les méthodes employées et les résultats de ses observations *in vivo* et après coloration vitale au rouge neutre. Il décrit l'aspect du vacuome chez les jeunes microspores, chez le pollen arrivé à maturité et suit son évolution au cours de la germination.

Dans le pollen de *Ceratophyllum*, le vacuome est toujours bien développé, mais une fraction de celui-ci reste à l'état de primordia ou de granula, comme chez le pollen aérien. Il y aurait donc une spécialisation du vacuome; une partie de celui-ci se chargeant plus particulièrement de la régulation des échanges hydriques.

Suivent quelques considérations sur le rôle éventuel du vacuome dans le pollen de cette plante aquatique.

Si le vacuome des cellules végétatives a depuis longtemps préoccupé les cytologistes et actuellement peut être considéré comme assez bien connu, il n'en est pas de même du système vacuolaire des grains de pollen. A notre connaissance, on ne trouve que peu de recherches consacrées spécialement à ce sujet, et malgré une littérature abondante sur le pollen, la plupart des mémoires se contentent de rapporter, chemin faisant, quelques observations sur les vacuoles, généralement insuffisantes. Ceci est dû à ce que les efforts ont été surtout orientés vers la morphologie du grain ou à l'évolution nucléaire et peut-être aussi parce que le vacuome était considéré jusqu'à ces derniers temps comme un élément d'importance secondaire.

Les progrès récents de la cyto-physiologie et de l'anatomie cellulaire, ainsi que la connaissance plus approfondie de la germination du pollen (1) ont montré toute l'importance de la phase liquide et l'étude de celle-ci dans les cellules polliniques devient de plus en plus indispensable.

Nous devons à P. DANGEARD (2), (3), (4), (5), (6), à Mme HUREL-PY (7), (8), (9), et à L. PLANTEFOL (10) une série d'intéressantes recherches sur le vacuome des grains de pollen. Ces recherches nous montrent toutes les difficultés qu'on rencontre lorsqu'on s'adresse, comme l'ont fait les

auteurs, au pollen de fleurs aériennes. Celui-ci, en effet, est presque toujours recouvert par une exine plus ou moins épaisse qui absorbe généralement le rouge neutre et empêche les observations. D'autre part, les grains ne germent bien que sur des milieux acides, tandis que la coloration vitale optima au rouge neutre se situe à des pH voisins de la neutralité (Mme HUREL-PY, GUILLIERMOND).

Pour éviter ces difficultés et pouvoir étudier l'évolution du vacuome au cours de la germination, on est obligé de choisir le pollen, rare d'ailleurs, susceptible de germer dans de l'eau de source ou sur milieux faiblement alcalins.

Il va de soi qu'on est en droit de se demander dans ces conditions si le vacuome ne se trouve pas modifié et si le comportement du protoplasme est semblable à celui des tubes polliniques développés dans le tissu conducteur. Il n'est pas exclu que les milieux artificiels employés à faire germer le pollen n'influencent pas le comportement d'organismes aussi délicats (11). Les travaux récents sur les facteurs de croissance et leur rôle dans la germination du pollen, l'action du pH, voire même la nature physique du substratum montrent suffisamment la nécessité de se rapprocher le plus possible des conditions naturelles, si l'on ne veut pas tomber dans le domaine de la cytologie expérimentale.

Ces remarques paraissent suffisamment justifiées par les faits. Il n'est pas rare en effet de rencontrer dans de telles cultures des germinations d'apparence anormale : tubes courts, renflés à l'extrémité, boursoufflés, en forme de botte, etc... et qu'on attribue trop souvent aux facteurs génétiques.

Or, si l'on ne tient pas à étudier spécialement le pollen aérien, il est infiniment plus commode de s'adresser au pollen des Phanérogames hydrogames pour lesquelles le milieu habituel de germination est constitué par l'eau neutre ou alcaline des réservoirs naturels. Le pollen du *g. Ceratophyllum*, que nous étudions depuis déjà plusieurs années, constitue un objet particulièrement commode pour les recherches sur le vacuome et la physiologie de la croissance¹. Non seulement les grains de pollen sont totalement dépourvus d'exine (12), mais aussi ils germent avec la plus grande facilité dans l'eau distillée ou de source, ce qui permet l'emploi du rouge neutre dans les conditions optima de coloration vitale et, d'autre part, facilite avantageusement les opérations de culture.

Nous ne possédons actuellement aucune documentation sur le vacuome du pollen du *Ceratophyllum* et nous pensons que notre étude pourra combler partiellement cette lacune.

MÉTHODES.

Le *g. Ceratophyllum* est représenté en Europe par deux espèces. Le *C. demersum*, très commun, se rencontre partout dans les étangs, les pièces d'eau, les rivières à courant lent et à fonds vaseux, riches en débris organiques. Les échantillons de cette espèce provenaient de la Saône, en amont de Lyon.

1. On objectera que ces grains de pollen sont trop riches en amidon pour permettre une étude des vacuoles, surtout lorsque celles-ci sont petites. On arrive facilement, avec quelque habitude, à choisir les microspores à enclaves moins abondantes et à reconnaître dans celles-ci les vacuoles même lorsque leurs dimensions ne dépassent pas celles d'un grain.

Le *C. submersum*, beaucoup plus rare, a été cultivé dans un bassin à l'air libre et en aquarium, au laboratoire. Les deux espèces fleurissent en abondance vers la fin mai-juin, mais en aquarium, les fleurs apparaissent dès avril.

Les fleurs mâles se composent de 12 à 20 étamines sessiles entourées par un périanthe sépaléoïde. A la maturité, les étamines se détachent par gélification du vestige du filet et montent à la surface, entraînées par les sacs aérifères (Auftriebs de LUDWIG) situés dans la région apicale et adoxale de l'étamine.

La déhiscence se fait par deux fentes longitudinales, les deux sacs polliniques de chaque thèque se confondant en un seul à la maturité par destruction de la cloison mitoyenne. Elle a été décrite par LUDWIG, ROSE et STRASBURGER.

Les étamines mûres ont été récoltées dans les aquariums à la surface de l'eau avec un pinceau doux ou une aiguille lancéolée. Le matériel apporté du dehors a été d'abord placé dans un aquarium et les étamines mûres récoltées dès leur montée à la surface. Il est indispensable de ne pas laisser séjourner trop longtemps les étamines à la surface, la déhiscence se faisant peu de temps après leur séparation¹. On peut aussi détacher, à l'aide de l'aiguille lancéolée les étamines mûres du verticille externe de la fleur en les poussant légèrement en dehors.

Pour libérer le pollen sans le léser, nous avons employé la méthode suivante : l'étamine est placée dans une goutte d'eau sur une lame porte-objet, les sacs polliniques tournés vers la lame. Afin d'empêcher l'évaporation, les lames sont disposées dans des boîtes de Pétri sur des baguettes en verre et le fond est humecté par de l'eau.

Après la déhiscence, le pollen descend au fond de la goutte au contact de la lame. On enlève l'étamine et on aspire l'eau avec une fine pipette sans déranger le pollen. La solution du colorant est alors déposée sur le pollen par une manœuvre inverse de la pipette.

Il est préférable de ne pas poser la lamelle directement sur le pollen, mais de la faire supporter soit par des brisures de lamelles, soit par deux cheveux qu'on fixe en travers de la lame.

L'étude du pollen non encore arrivé à maturité nécessite la dissection de jeunes étamines. Celles-ci doivent être choisies au moment voulu, dans les verticilles externes des jeunes fleurs en voie de développement, et non, comme on pourrait le croire, dans les verticilles internes de fleurs mûres. Les étamines des verticilles internes, en effet, ne se développent pas au delà d'un certain stade et le pollen qu'elles contiennent est souvent anormal.

Les jeunes étamines se séparent facilement avec une aiguille lancéolée ou un fin scalpel. On les dépose sur lame porte-objet dans une petite goutte d'eau, les sacs polliniques tournés vers le haut. On maintient l'étamine immobile avec l'aiguille lancéolée en l'appuyant sur l'extrémité supérieure de l'étamine et on sectionne la base de l'anthere avec une lame de rasoir mécanique emmanchée. Vu la petitesse de

1. Dans un travail récent (21) E. JONES admet que la déhiscence peut se faire avant la séparation, lorsque les étamines sont encore rattachées au réceptacle. Pourtant dans un grand nombre de fleurs que nous avons examinées dans les conditions naturelles, il ne nous a été jamais donné de trouver des étamines ouvertes avant leur séparation.

l'objet, il est préférable d'exécuter cette opération sous la loupe bino-culaire. Le pollen est facilement chassé en dehors, en appuyant légè-rement sur l'anthère avec le côté plat du rasoir. Avec les étamines très jeunes, on arrive, avec ce procédé, à libérer le contenu des quatre sacs polliniques en entier, comme le faisait M. LENOIR pour les anthères du Lis.

Les jeunes microspores ainsi libérées peuvent être observées soit directement *in vivo*, soit dans des solutions de colorants qu'on fait arri- ver au moyen de la pipette, comme il a été dit plus haut, en prenant les mêmes précautions contre l'action mécanique de la lamelle. Afin de ne pas modifier la concentration du colorant et empêcher l'évaporation, les lames sont maintenues pendant l'expérience dans des boîtes de PÉTRI. C'est un détail important, car la coloration vitale du jeune pollen est assez longue à se produire.

A côté des observations *in vivo* ou à l'aide de colorants vitaux, nous avons examiné aussi le vacuome des grains de pollen de tout âge après la fixation par les meilleurs fixateurs cytologiques : vapeur d'ac. osmi- que, La Cours 2 BE, Helly neutre, Hollande cuprique. Ces fixateurs, sauf La Cours, ont été employés dilués avec de l'eau distillée afin d'em- pêcher l'action osmotique. Après la fixation et le lavage, les étamines étaient disséquées et les microspores observées. Les coupes à la paraf- fine nécessitant l'inclusion n'ont pas été pratiquées, la contraction et la déformation du cytoplasme après passage à l'alcool et les éclaircis- sants étant trop importantes.

La germination du pollen du *Ceratophyllum* se produit avec la plus grande facilité dans une goutte d'eau sur lame ou entre lame et lamelle. Les lames sont déposées dans des boîtes de PÉTRI, comme il a été dit, pour empêcher l'évaporation ¹. L'évolution du vacuome peut être ainsi facilement observée sans déranger la croissance des germinations.

La connaissance de l'évolution du vacuome en détail au cours de la germination, nécessite l'emploi des colorants vitaux. Ceux-ci peuvent être utilisés soit en solution de concentration suffisamment faibles dans lesquelles on fait germer le pollen, soit en les faisant agir sur du pollen déjà germé sur lame au stade voulu.

Le choix du colorant et la concentration à employer ont une impor- tance particulière, en raison de la toxicité que montrent la plupart des colorants pour le pollen du *Ceratophyllum*. C'est ainsi que dans une série d'essais préliminaires, nous avons dû éliminer le Bleu de tolui- dine, Bleu de méthylène, Bleu de crésyl, Bleu de naphtylène, qui se sont montrés trop toxiques, même à des concentrations de 1/40.000. Tous ces colorants empêchent la germination de se produire ou si elle a quelques fois lieu, les tubes polliniques ont un aspect anormal et souvent éclatent. A des concentrations plus faibles, si le pollen germe, il n'y a aucune coloration. Toutefois, le Bleu de toluidine, qui s'est mon- tré le moins toxique de tous ces bleus, permet d'obtenir quelques ger- minations et des colorations vacuolaires à la concentration de 1/30.000, mais les tubes polliniques restent courts, mal développés et la coloration

1. Nous n'avons pas employé la méthode de la goutte pendante, car le pollen plus lourd que l'eau descend du côté convexe de la goutte et les tubes polliniques ont souvent tendance à se développer dans l'air.

elle-même n'est pas supérieure au rouge neutre. C'est donc les solutions de ce dernier que nous avons utilisées.

Nous donnons plus loin (tableau I), la toxicité des diverses concentrations du rouge neutre ² pour le pollen du *Ceratophyllum*. Comme il en résulte, les concentrations comprises entre 1/12.000 et 1/15.000 se sont révélées les meilleures et c'est celles-ci que nous avons employées.

Les travaux de HARTINGER (1938) et surtout de STRUGGER (13) ont montré que le rouge neutre serait un fluorochrome très intéressant pour la cytologie. Des raisons d'ordre technique ne nous ont pas permis de vérifier les résultats de ces auteurs sur le pollen du *Ceratophyllum*.

Certains colorants, et en particulier le rouge neutre, se polymérisent rapidement sous l'action des électrolytes contenus dans l'eau de source. Cette polymérisation est suivie de précipitation qui gêne considérablement les observations; en plus, le titre des solutions change. Afin d'éviter ces inconvénients, étant donné que certaines colorations vitales sont longues à réaliser, nous avons employé en général de l'eau distillée dans des appareils en verre comme solvant du rouge neutre. Les grains de pollen du *Ceratophyllum* germent d'ailleurs bien dans celle-ci et ne montrent aucun caractère anormal.

Afin d'employer des solutions autant que possible identiques, celles-ci ont été utilisées trois heures après leur préparation. On sait, en effet, que la grosseur des particules du colorant change avec le temps.

L'échantillon du rouge neutre provenait des Etablissements R. A. L. et a été reçu en 1940.

Le développement du pollen du *Ceratophyllum* a été étudié en détail par STRASBURGER, JEDRYCHOWSKA et SROCZYNSKA et réexaminé récemment par WULFF.

La cellule-mère, par deux divisions successives, produit quatre microspores qui sont d'abord irrégulières, puis s'arrondissent. Les amyloplastides, d'abord petits et relativement peu nombreux, augmentent en nombre et en volume. La séparation de la cellule générative se fait très tôt, « quelquefois lorsque les microspores sont encore réunis en tétrade ».

Pour la commodité de notre exposé, nous étudierons d'abord le vacuome des microspores en développement, c'est-à-dire au cours de la période qui suit la séparation de la cellule générative et jusqu'à la fin de la troisième période de croissance intensive de JEDRYCHOWSKA et SROCZYNSKA, qui précède immédiatement la maturité.

Nous examinerons ensuite le vacuome de grains de pollen mûrs, prêt à germer et étudierons l'évolution de celui-ci au cours de la germination.

VACUOME DES MICROSPORES EN DÉVELOPPEMENT.

Les très jeunes microspores du *Ceratophyllum* ont une forme arrondie ou légèrement irrégulière indiquant l'emplacement des futurs angles, ou encore, elliptique. Leurs dimensions varient de 18 à 30 μ et augmentent rapidement avec l'âge.

2. Nous n'avons pas pu nous procurer à temps les colorants vitaux recommandés par divers auteurs : thiochrome, rhodamine, orange d'acrinidine. Les résultats des recherches effectuées avec quelques-uns de ces produits seront rapportés ultérieurement.

Ces jeunes microspores ne contiennent généralement encore que peu d'amidon (les cellules mères en renferment également), ce qui permet d'observer *in vivo* la cellule générative lenticulaire accolée à la membrane de la microspore. À la limite de la séparation des deux cellules, on distingue la membrane en forme de verre à montre, plus ou moins bombée, faisant saillie dans la cellule végétative (fig. 1, 2, 3, 4). Souvent on remarque que cette membrane est comme formée de corpuscules disposés côte à côte et comme reliés par un fin trait à peine perceptible. C'est l'aspect général bien connu de ces membranes transitoires.

La cellule végétative observée *in vivo* à ces stades précoces montre un gros noyau dans lequel on distingue nettement le nucléole très réfringent. Les dimensions du noyau sont souvent remarquablement grandes, pouvant atteindre la moitié du diamètre de la microspore elle-même. Son contenu est transparent, hyalin, un peu plus réfringent que celui du cytoplastme et, *in vivo*, ne permet pas de reconnaître aucune structure bien nette.

(à suivre)

EXPLORATION DE LA GROTTÉ DE LOMNÉ (Hautes-Pyrénées) DECOUVERTES PRÉHISTORIQUES MAGDALENIENNES

par le D^r P. MOREL.

Le petit village de Lomné est situé dans le pays montagneux et boisé des Baronnies, entre les vallées de la Neste et de l'Adour. De grandes découvertes préhistoriques, surtout de l'époque magdalénienne, ont été faites dans les grottes environnantes. A dix kilomètres à l'est s'ouvre, dans une falaise rocheuse dominant la Neste, la grotte de Lorthet, fouillée par PIETTE en 1873. Plus près encore se trouvent les grottes de Labastide et d'Esparos explorées par Norbert CASTERET en 1932 qui découvrit de nombreux vestiges artistiques de l'époque du Renne.

Moins majestueuse, la petite grotte de Lomné, appelée grotte l'Homme Mort par les habitants du pays, présentait pour nous l'avantage d'être peu connue et n'avait jamais été fouillée complètement.

Elle s'ouvre au midi par un porche haut de deux mètres, sur le flanc escarpé d'un petit torrent à sec en été. Masquée par les broussailles, l'entrée en est invisible à quelques mètres. Le porche franchi, on accède à une petite salle de quelques mètres carrés, au fond de laquelle s'ouvre deux couloirs larges et élevés au début. Celui de droite prend aussitôt une allure ascendante; celui de gauche descend fortement.

Un rapide sondage dans la salle d'entrée montra sur 30 centimètres d'épaisseur, une couche d'éboulis et de petits cailloux fragmentés et anguleux détachés de la voûte et mélangés à du sable fin. Au dessous se trouve un sol plus ou moins caillouteux contenant des débris végétaux. Il semble que cette partie de la grotte ait été remaniée par l'eau qui ruisselle fortement dans les périodes pluvieuses.

Abandonnant ces fouilles stériles, nous pratiquâmes un autre sondage dans le couloir ascendant de droite, à dix mètres de son début, en un endroit où les dimensions spacieuses auraient permis un habitat assez confortable. Le sol, jonché de grandes dalles, formait un escalier à grandes marches, dont les interstices étaient colmatés par des alluvions